การประเมินความไว ความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อมาลาเรีย ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาโดยวิธีการแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต

Evaluation of Sensitivity, Specificity of Malaria Detection by Hematology Analyzer using WBC separation and Non-WBC separation method

วรรณา	ศรีสัจจารักษ์	สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง
รุจิรา	เลิศพร้อม	สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง
กัลยา	ตุ่นจันทร์	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 จ.พิษณุโลก
กวิณลดา	อารีวงษ์	โรงพยาบาลรามาธิบดี
เอธยา	อติญาณพิพัฒน์	โรงพยาบาลรามาธิบดี

บทคัดย่อ

เมื่อไม่นานมานี้ มีการค้นพบว่าแสงดีโพลาไรซ์เลเซอร์ ในเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา สามารถตรวจการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยตรวจหาเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรียอยู่ ซึ่งสามารถทราบผลพร้อมไปกับผลทางโลหิตวิทยาที่ทำเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล จึงช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย แต่มีการศึกษาพบว่าปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความไว ความจำเพาะของเครื่อง คือการที่ผู้ป่วยมีภูมิต้านทานต่อโรค ซึ่งจะเป็นสื่อเหนี่ยวนำให้เม็ดโลหิตขาวสามารถจับกินเชื้อมาลาเรียได้ดีขึ้น ดังนั้นถ้าผู้ป่วยมีภูมิต้านทานต่ำ เม็ดโลหิตขาวที่กินเชื้อมาลาเรียมีปริมาณน้อย เครื่องอาจตรวจไม่พบ จึงทำให้มีความไวต่ำ

งานวิจัยนี้จึงจะศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำเฉพาะเม็ดโลหิตขาว และ Leukocyte-rich plasma มาใช้ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องดังกล่าว เปรียบเทียบกับการตรวจหาจากโลหิตปกติ ดูว่าวิธีการใดเหมาะสมและช่วยทำให้เครื่องสามารถตรวจหาผู้ป่วยมาลาเรียได้ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น **โดยเก็บตัวอย่างโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขนผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิก** จำนวน 223 ราย นำมาแบ่งอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาดังกล่าว โดยอ่านผลแบบแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต เปรียบเทียบกับผลตรวจจากฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน

ผลการศึกษา พบว่าการตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิต มีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 90 แต่มีความไวเพียงร้อยละ 57 ซึ่งไม่เพียงพอที่จะนำเครื่อง CBC นี้มาใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในผู้ป่วยที่มีอาการสงสัยเป็นมาลาเรีย แต่อาจจะนำมาใช้ช่วยในการคัดกรองเบื้องต้นระหว่างใช้เครื่องสำหรับตรวจด้านโลหิตวิทยาเป็นงานประจำในผู้ที่ไม่มีอาการของโรคมาลาเรีย เนื่องจากมีความจำเพาะสูง เพื่อเป็นการเตือนให้ทราบว่าหากเครื่องตรวจพบเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์เชื้อมาลาเรียอยู่ ควรจะต้องมีการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้ง

ส่วนการตรวจหาเชื้อมาลาเรียจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC พบว่า ทั้งสองแบบมีค่าความไวลดลงเมื่อเทียบกับการตรวจจากโลหิต โดยมีความไว ร้อยละ 41 และ 47 ตามลำดับ ซึ่งไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้คือ ถ้าตัวอย่างทดสอบมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวมากขึ้น ความไวของเครื่องก็น่าจะเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้น ถ้าจะนำเครื่องมาใช้จริงในอนาคตอาจต้องมีการปรับปรุง Software ของเครื่องให้เหมาะสมกับการตรวจมาลาเรีย เช่น ให้สามารถนำ WBC เข้าไปในเครื่องเพื่อตรวจวิเคราะห์ ในปริมาณที่สูงกว่าระบบปกติ คือ สูงกว่า 10,000 เซล เพื่อให้มีความไวเพิ่มขึ้นจากงานวิจัยนี้ หรือออกแบบให้สามารถตรวจหาเม็ดโลหิตแดงที่มีเชื้อมาลาเรียอยู่ ซึ่งจะเป็นการตรวจโดยทางตรงมากกว่าการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ผู้สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณนายสัมฤทธิ์ บุญเพ็ง หัวหน้าศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 9.3 แม่สอด จ.ตาก และคณะเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนในการเก็บตัวอย่างโลหิตผู้ป่วยที่มารับการรักษาในมาลาเรียคลินิกเป็นอย่างดี รวมถึงขอขอบคุณอาจารย์ไพศาล ฟักแฟ และปราณีต อุตตระภิญโญ ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกชนิดเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ช่วยในการอ่านยืนยันผลตรวจฟิล์มโลหิต

สุดท้ายคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักจัดการความรู้ คณะกรรมการจริยธรรมกรมควบคุมโรค ตลอดจนนายแพทย์จีรพัฒน์ ศิริชัยสินธพ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินงาน ตลอดจนผู้เกี่ยวข้องทุกท่านจากศูนย์อบรมโรคติดต่อนำโดยแมลงและสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่างๆ จนโครงการสำเร็จลงด้วยดี

สารบัญ

บทคัดย่อ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	จ
คำอธิบายคำย่อ	ฉ
นิยามคำศัพท์	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการศึกษา	1
1.2 วัตถุประสงค์ในการศึกษา	3
1.3 ขอบเขตการศึกษา	3
บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 วัสดุและวิธีการศึกษา	12
บทที่ 4 ผลการศึกษา	18
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	24
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	
ประวัติผู้วิจัย	30

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์	19
2	แสดงผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา จากส่วนประกอบของโลหิต ที่แตกต่างกัน 3 แบบ	21
3	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา เมื่อใช้ส่วนประกอบของโลหิต ที่แตกต่างกัน 3 แบบ	22
4	ค่าความไวของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ที่ระดับความหนาแน่นเชื้อต่างๆ	23

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	วงชีวิตของเชื้อมาลาเรีย	6
2	เครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500	15
3	Scatter plot แสดงการตรวจหาติดเชื้อมาลาเรีย	15
4	แผนผังแสดงวิธีการศึกษาวิจัย	17
5	แสดงจำนวนประชากรตัวอย่าง จำแนกตามเพศ	18
6	แสดงจำนวนประชากรตัวอย่าง จำแนกตามกลุ่มอายุ	18
7	แสดงจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อชนิด Pf และ Pv ในแต่ละช่วงความหนาแน่น	20

คำอธิบายคำย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
Pf	*Plasmodium falciparum*
Pv	*Plasmodium vivax*
Pm	*Plasmodium malariae*
Po	*Plasmodium ovale*
RDT	Rapid Diagnostic Test
PPV	Positive Predictive Value
NPV	Negative Predictive Value
GM	Geometric Mean
CI	Confidence Interval
SD	Standard Deviation
จ.น.	จำนวน
CBC	Complete Blood Count
WBC	White Blood Cell (เม็ดโลหิตขาว)

นิยามคำศัพท์

คำศัพท์	นิยาม
ผลบวกจริง (True Positive; TP)	จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยถูก ว่า เป็นมาลาเรีย (ผลตรวจของเครื่อง CBC ให้ผลบวก) ซึ่งตามความจริงผู้ป่วยเป็นมาลาเรียจริง(จากผลของกล้องจุลทรรศน์พบเชื้อมาลาเรีย)
ผลบวกเท็จ (False Positive; FP)	จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยผิด ว่า เป็นมาลาเรีย (ผลตรวจของเครื่อง CBC ให้ผลบวก) แต่ตามความจริงผู้ป่วยไม่เป็นมาลาเรีย(จากผลของกล้องจุลทรรศน์ไม่พบเชื้อมาลาเรีย)
ผลลบจริง (True Negative; TN)	จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยถูก ว่า ไม่เป็นมาลาเรีย (ผลตรวจของเครื่อง CBC ให้ผลลบ) ซึ่งตามความจริงผู้ป่วยไม่เป็นมาลาเรียจริง(จากผลของกล้องจุลทรรศน์ไม่พบเชื้อมาลาเรีย)
ผลลบเท็จ (False Negative: FN)	จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยผิด ว่า ไม่เป็นมาลาเรีย (ผลตรวจของเครื่อง CBC ให้ผลลบ) แต่ตามความจริงผู้ป่วยเป็นมาลาเรีย(จากผลของกล้องจุลทรรศน์พบเชื้อมาลาเรีย)
ความไว (Sensitivity)	คุณลักษณะของการตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่อง CBC ที่จะบอกถึงอัตราส่วนของผลบวกในการตรวจผู้ป่วยมาลาเรีย
ความจำเพาะ (Specificity)	คุณลักษณะของการตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่อง CBC ที่จะบอกถึงอัตราส่วนของผลลบในการตรวจคนปกติ
การทำนายโรคผลบวก (Positive Predictive Value)	ความสามารถในการทำนายผลการตรวจหาเชื้อ ถ้าผลทดสอบเป็นบวก
การทำนายโรคผลลบ (Negative Predictive Value)	ความสามารถในการทำนายผลการตรวจหาเชื้อ ถ้าผลทดสอบเป็นลบ
ความถูกต้อง (Accuracy)	คุณลักษณะของเครื่อง CBC ที่ให้ผล(ทั้งผลบวกและผลลบ) ตรงกับผลตรวจของกล้องจุลทรรศน์ (พบเชื้อและไม่พบเชื้อ) ในจำนวนตรวจทั้งหมด
เครื่อง CBC	เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ซึ่งจะวิเคราะห์แยกส่วนประกอบของโลหิต ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

มาลาเรีย เป็นโรคติดต่อชนิดหนึ่งที่มียุงก้นปล่องเป็นพาหะนำโรค เกิดจากเชื้อ Plasmodium ซึ่งเป็นสัตว์เซลล์เดียวอยู่ใน Class Sporozoa มีวงจรของเชื้อระยะต่างๆ สลับกัน คือ ระยะมีเพศและไม่มีเพศ และมีวงจรชีวิตอยู่ทั้งในสัตว์มีกระดูกสันหลังและสัตว์จำพวกยุง โดยมีอยู่ 4 ชนิดที่นำไข้มาลาเรียมาสู่คนได้ คือ *Plasmodium falciparum* , *Plasmodium vivax* , *Plasmodium malariae* และ *Plasmodium ovale* อาการสำคัญของโรคนี้ คือ เป็นไข้ หนาวสั่น ปวดศีรษะ บางรายอาจถึงแก่ชีวิตหากไม่ได้รับการรักษาทันท่วงที จึงนับเป็นโรคที่บั่นทอนกำลังของมนุษยชาติเป็นอย่างมาก ปัจจุบันโรคนี้ยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทยที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมเนื่องจากทำให้ประชาชนเจ็บป่วยและตาย โดยเฉพาะในบริเวณจังหวัดตามแนวชายแดนของประเทศ ดังจะเห็นได้จากข้อมูลของสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง พบว่าสิบจังหวัดแรกที่พบผู้ป่วยมาลาเรียสูงสุดในปีงบประมาณ 2553 ได้แก่ ตาก ยะลา ชุมพร แม่ฮ่องสอน กาญจนบุรี ระนอง ประจวบคีรีขันธ์ ศรีสะเกษ พังงา และนราธิวาส ตามลำดับ และในปี 2551-2553 พบผู้ป่วยทั้งประเทศ จำนวน 26,064 23,843 และ 24,847 ราย คิดเป็นอัตราป่วยต่อพันประชากร(API) เท่ากับ 0.41 0.36 และ 0.39 ตามลำดับ แม้ว่าสถานการณ์ของโรคจะมีแนวโน้มลดลง แต่ก็ทำให้ในแต่ละปีรัฐสูญเสียรายได้หลายร้อยล้านบาทในการจัดการ อย่างไรก็ดีโรคนี้สามารถป้องกันควบคุม และรักษาได้ (กองมาลาเรีย, 2543; นิคม, 2536)

การดำเนินงานป้องกันควบคุมโรคมาลาเรีย จะมีจุดมุ่งหมายเพื่อลดความเจ็บป่วยและการตายจากโรคมาลาเรีย ด้วยการตัดวงจรการแพร่โรค โดยมาตรการหลักอันหนึ่ง คือ การป้องกันการถ่ายทอดเชื้อไปสู่บุคคลอื่น โดย การค้นหาผู้ป่วยที่รวดเร็วและให้การรักษาทันที ซึ่งจะต้องอาศัยวิธีการชันสูตรโรคที่เชื่อถือได้ เที่ยงตรง รวดเร็ว สะดวกและเหมาะสม (พรรณี พิเดช, 2527) ในการรักษาไข้มาลาเรีย จะต้องมีการตรวจชันสูตรหาการติดเชื้อมาลาเรียในโลหิตผู้ป่วยต้องสงสัยและวินิจฉัยจำแนกชนิดเชื้อเพื่อการรักษาที่เหมาะสม วิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย คือการตรวจจากฟิล์มโลหิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันมานานหลายสิบปี (Wever และคณะ, 2002) แม้ในงานควบคุมไข้มาลาเรียในประเทศไทยก็ยังคงใช้วิธีนี้เป็นงานประจำจนถึงปัจจุบัน ซึ่งเป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายน้อย สามารถบอกได้ทั้งชนิดและปริมาณเชื้อ แต่คุณภาพในการใช้วิธีนี้ขึ้นอยู่กับการใช้กล้องจุลทรรศน์ที่อยู่ในสภาพดี และมีผู้ดูกล้องที่มีความเชี่ยวชาญ ซึ่งต้องอาศัยสั่งสมประสบการณ์ในการดูเชื้อ (ไพเราะ, 2543)

ดังนั้นเทคนิคในการตรวจหาและวินิจฉัยโรคมาลาเรียแบบอื่น ที่ไม่ขึ้นกับความชำนาญของผู้อ่านผลจึงถูกคิดค้นและพัฒนาขึ้น ในปัจจุบันมีหลายเทคนิคที่เข้ามาช่วย เช่น ชุดน้ำยาตรวจอย่างรวดเร็ว (Rapid Diagnostic Test; RDT) วิธี PCR (Monbrison และคณะ, 2003) เป็นต้น โดย RDT เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายกว่า รวดเร็วกว่า และไม่ต้องอาศัยเครื่องมืออื่นเข้ามาช่วยในขบวนการ แต่มีข้อจำกัด คือ มีความไวต่ำในกรณีที่มีจำนวนเชื้อน้อย และมีราคาค่อนข้างสูง แต่ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สะดวกสำหรับใช้ในภาคสนาม ในท้องที่ทุรกันดารไม่มีกล้องจุลทรรศน์ใช้ ในปัจจุบันมีผู้ผลิต RDT ออกมาจำหน่ายมากมาย ซึ่งมีคุณสมบัติคุณภาพและราคาแตกต่างกัน แต่ที่เป็นที่รู้จักและถูกนำมาใช้แพร่หลาย ได้แก่ ชนิด *OptiMAL* , *ICT Malaria Pf* , *ParaSight F* (Moody, 2002) ส่วนวิธี PCR เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูง แต่มีขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก ใช้เวลานาน และเสียค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง

และเมื่อไม่นานมานี้ Mendelow และคณะ ในปี ค.ศ.1999 มีการค้นพบว่าแสงดีโพลาไรซ์เลเซอร์ ในเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาบางรุ่น สามารถตรวจการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยตรวจหาเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรียอยู่ เป็นอีกหนึ่งเทคโนโลยีใหม่ในการตรวจโรคมาลาเรียที่น่าสนใจมาก ทำให้ช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์โรคมาลาเรีย เนื่องจากสามารถทราบผลพร้อมไปกับผลทางโลหิตวิทยาซึ่งต้องทำเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลอยู่เสมอ เหมาะกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ไม่ชำนาญการดูเชื้อและพบเชื้อไม่บ่อย เทคโนโลยีนี้จึงน่าจะมีประโยชน์กับงานควบคุมไข้มาลาเรียของไทยในอนาคตที่จะต้องถ่ายโอนบทบาทเข้าสู่ระบบบริการสาธารณสุข นั่นคือ สำหรับงานตรวจรักษามาลาเรียในปัจจุบันยังมีมาลาเรียคลินิกอีกหน่วยงานหนึ่ง ซึ่งกองมาลาเรียเดิมได้จัดตั้งขึ้นในท้องที่ที่มีการแพร่เชื้อ เพื่อทำหน้าที่ให้บริการตรวจรักษาโรคมาลาเรียแก่ประชาชนโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย (ไพเราะ, 2543) ซึ่งต่อไปหากมีการถ่ายโอนแล้ว จะเป็นหน้าที่ของโรงพยาบาลในการให้บริการ เหมือนดังเช่นในบางจังหวัดของประเทศขณะนี้ ที่งานมาลาเรียได้ถูกผสมผสานไปแล้วเนื่องจากไม่พบการติดเชื้อในพื้นที่และไม่มียุงพาหะ ซึ่งในบางครั้งหากจังหวัดเหล่านี้มีผู้ป่วยมาลาเรีย ที่ส่วนใหญ่จะเป็นการติดเชื้อมาจากที่อื่นจากการเข้าไปในแหล่งแพร่เชื้อและเกิดการป่วยหลังกลับออกมา เมื่อผู้ป่วยมาโรงพยาบาลที่เจ้าหน้าที่งานชันสูตรขาดชำนาญในการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำให้ผลตรวจผิดพลาดได้ เป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและอาจถึงแก่ความตายได้ เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาที่มีคุณสมบัตินี้จะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้ กล่าวคือหากแพทย์สั่งตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเพื่อหาสาเหตุของโรคอื่น แต่สามารถได้ทราบผลการติดเชื้อมาลาเรียด้วย(ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการตรวจทางโลหิต) จึงทำให้ทราบสาเหตุที่แท้จริงของการป่วยได้ นอกจากนี้ยังทำให้สามารถค้นหาผู้ป่วยได้เร็วขึ้นด้วย <u>แต่อย่างไรก็ตามเทคโนโลยีนี้มีข้อจำกัด คือ ยังไม่สามารถแยกชนิดเชื้อมาลาเรียได้</u>

โดยหลักการทำงานของเครื่องมือนี้ คือ จะจำแนกชนิดของเม็ดโลหิตขาว โดยอาศัยความแตกต่างในด้านขนาด โครงสร้าง จำนวนโลบ (lobe) และจำนวนแกรนูล (granule) ทำให้แสงเลเซอร์ที่ส่องผ่านเกิดการกระจายแสงออกทั้ง 4 มุม (0°, 10° , 90° และ 90° Depolarize) ไม่เท่ากัน และสามารถหาการติดเชื้อมาลาเรียได้โดยตรวจหาเม็ดโลหิตขาวชนิดโมโนซัยต์ที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรียอยู่ภายใน (Pigment-containing WBC) ด้วยหลักการที่พิกเม้นต์จะทำให้เกิดการกระจายของแสงดีโพลาไรซ์เลเซอร์ได้มาก ซึ่งจะแตกต่างจากโมโนซัยต์ปกติ แต่คุณสมบัติกระจายแสงดีโพลาไรซ์มากนี้จะเหมือนกับเม็ดโลหิตขาวชนิดอีโอซิโนฟิล ทำให้เมื่อมองจากกราฟ scatter plot ระหว่าง Lobularity (วัดการกระจายแสงที่มุม 90°) กับ Granularity (วัดการกระจายแสงที่มุม 90° Depolarize) จึงพบปรากฏในบริเวณเดียวกับอีโอซิโนฟิล หรือบริเวณที่ค่า 90° depolarize signal มากกว่า 90° polarize signal แต่แสดงเป็นจุดสีม่วง ซึ่งต่างจากสีเขียวของอีโอซิโนฟิล ทำให้ทราบความแตกต่างได้ และจะตัดสินว่าเป็นมาลาเรียเมื่อมีจุดสีม่วงนี้ตั้งแต่ 1 จุดขึ้นไป (Mendelow และคณะ, 1999)

มาลาเรียพิกเม้นต์ (Malaria pigment) หรือ ฮีโมซอยน์ (Haemozoin) คือ ผลผลิตที่เหลือจากการที่เชื้อมาลาเรียย่อยสลายฮีโมโกลบินขณะที่อาศัยอยู่ในเม็ดโลหิตแดง มีสีน้ำตาล อยู่รวมตัวเป็นกลุ่ม สามารถพบได้ในเชื้ออมาลาเรียระยะโทรโฟซอยต์ตัวแก่และระยะไชซอนต์ เมื่อเม็ดโลหิตแดงแตกออก พิกเม้นต์จะถูกจับกิน (เรียกวิธี Phagocytosis) โดยเม็ดโลหิตขาวชนิดโมโนซัยต์ และนิวโตรฟิล (Lyke และคณะ, 1996; Padial และคณะ, 2005)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความไว ความจำเพาะ ของการตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 โดยวิธีการแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจโดยวิธีมาตรฐานฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์

ขอบเขตการวิจัย

ทำการเจาะโลหิตตรวจวินิจฉัยหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 ซึ่งมีคุณสมบัติในการตรวจหาเม็ดโลหิตขาวที่มีเชื้อมาลาเรียอยู่ได้ เปรียบเทียบผลกับวิธีมาตรฐานคือตรวจฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเจาะโลหิตและเก็บข้อมูลจากอาสาสมัครที่มารับบริการในมาลาเรียคลินิกที่อยู่ในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียของจังหวัดตาก ซึ่งเป็นจังหวัดที่อยู่ติดชายแดนไทย-พม่า และเป็นจังหวัดที่พบผู้ป่วยมาลาเรียสูงในสิบอันดับแรกของไทย โดยมีอัตราป่วยด้วยไข้มาลาเรียในปี 2553 ต่อประชากรพันคน เท่ากับ 0.39 (ข้อมูลจากกลุ่มมาลาเรีย สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง) โดยเป็นผู้มีอาการไข้สูง

ตั้งแต่ 38 องศาเซลเซียสจากการวัดอุณหภูมิทางปาก หรือ มีประวัติไข้ใน 72 ชั่วโมงที่ผ่านมา หรือเข้าไปในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรีย มีอายุ 18 ปีขึ้นไป ดำเนินการเก็บตัวอย่างโลหิตในระหว่างเดือนมีนาคม ถึง สิงหาคม 2554

โดยเจาะเก็บตัวอย่างโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขน ผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิก จำนวน 223 ราย นำมาอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาดังกล่าว โดยอ่านผลแบบแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต กล่าวคือ นำเลือดมาตรวจหาการติดเชื้อด้วยเครื่องตามปกติ กับ นำ Leukocytes rich-plasma (มีเม็ดโลหิตขาวอยู่ปะปนกับพลาสม่าและเกล็ดเลือด) มาตรวจหาการติดเชื้อ หรือ นำเฉพาะเม็ดโลหิตขาวมาตรวจหาการติดเชื้อ (โดยใส่สารเพื่อแยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต) เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะได้ค่าผลการตรวจด้วยเครื่องเป็น ผลบวกจริง ผลลบจริง ผลบวกเท็จ ผลลบเท็จ ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำ (Accuracy) ของการตรวจวินิจฉัย แล้วนำมาคำนวนหาค่าความไวความจำเพาะ ทำให้ทราบประสิทธิผลของเครื่องได้ โดยการศึกษาวิจัยนี้ได้ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

บทที่ 2

ทบทวนเอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไข้มาลาเรียหรือไข้จับสั่น เป็นโรคที่มีประวัติอันยาวนานมาพร้อมกับการกำเนิดของมนุษยชาติ ในสมัย Hippocratis ได้ตั้งข้อสังเกตเอาไว้ว่าโรคนี้มีความสัมพันธ์กับฤดูกาล การค้นพบสัตว์เซลล์เดียวที่เรียกว่า พลาสโมเดียม (Plasmodium) ในวันที่ 6 พฤศจิกายน ค.ศ. 1880 โดย Laveran แพทย์ชาวฝรั่งเศส ว่าเป็นต้นเหตุของไข้มาลาเรียทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบล เป็นการเปิดศักราชใหม่ของการรักษาและควบคุมไข้มาลาเรีย

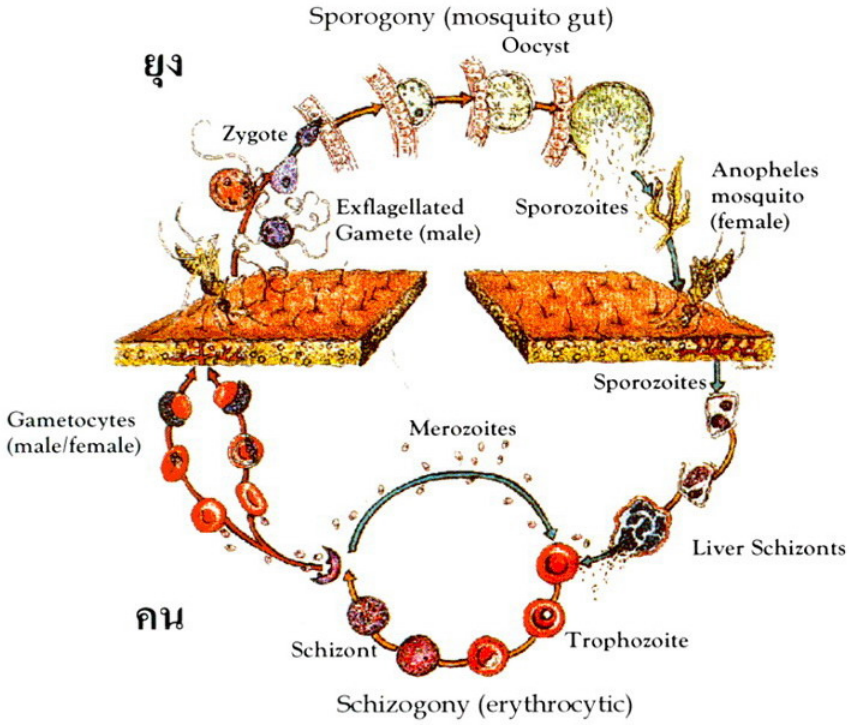
<u>วงชีวิตของเชื้อมาลาเรีย</u>

เชื้อมาลาเรียทั้ง 4 ชนิด มีวงชีวิตเหมือนกัน (รูปที่ 1) จะแตกต่างกันบ้างในเรื่องรูปร่างและการเจริญพันธุ์ของเชื้อในบางระยะเท่านั้น โดยแบ่งการเจริญพันธุ์เป็น 2 ระยะ (คู่มือการวินิจฉัยโรคมาลาเรีย กองมาลาเรีย, 2545) คือ

1. วงชีวิตมีเพศในยุงพาหะ (Sporogony)
2. วงชีวิตไม่มีเพศในคน (Schizogony) ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ระยะ คือ
    2.1 วงชีวิตในเซลล์ตับ (Exo-erythrocytic, Tissue schizogony)
    2.2 วงชีวิตที่เชื้อเจริญและแบ่งตัวในเม็ดเลือดแดง (Erythrocytic schizogony)

วงชีวิตมีเพศในยุงพาหะ

เมื่อยุงก้นปล่องเพศเมียไปกัดและดูดเลือดผู้ป่วยที่มีเชื้อมาลาเรีย ยุงได้รับเชื้อซึ่งอาจมีทั้งเชื้อระยะมีเพศและไม่มีเพศเข้าไป เชื้อระยะมีเพศอายุอ่อนและเชื้อระยะไม่มีเพศจะถูกย่อยพร้อมเม็ดเลือดเป็นอาหารของยุง ส่วนเชื้อระยะมีเพศที่มีอายุอยู่ในระยะที่จะผสมพันธุ์กันได้จะเจริญและมีการผสมพันธ์ต่อไปเกิด ไซโกต (Zygote) ซึ่งมีรูปร่างกลม ไม่เคลื่อนไหว หลังจากนั้น 1-24 ชั่วโมงเข้าสู่ระยะ sporogony คือ ไซโกตจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้เรียวแหลม เคลื่อนไหวได้ เรียกว่า โอโอไคนีต (Ookinete) ซึ่งจะเคลื่อนที่แทรกผ่านผนังกระเพาะด้านในออกมาอยู่ด้านนอก แล้วเริ่มเจริญต่อเป็น โอโอซิสต์ (Oocyst) ต่อมาภายในโอโอซิสต์ จะมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างคล้ายเข็มเรียกว่าสปอโรซอยต์ ซึ่ง 1 โอโอซิสต์จะมีสปอโรซอยต์ (Sporozoite) ประมาณ 1,000-2,000 ตัว เมื่อโอโอซิสต์แตกออก สปอโรซอยต์ จะเข้าสู่ ช่องว่างภายในลำตัวของยุง (Haemocoel) และ ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของสปอโรซอยต์ ไปที่ต่อมน้ำลายของยุง และอยู่ได้นาน 59 วัน ระยะเวลาทั้งหมดที่เกิดภายในตัวยุงที่เป็นพาหะ เฉลี่ย 7-16 วัน



รูปที่ 1 วงชีวิตของเชื้อมาลาเรีย

วงชีวิตไม่มีเพศในคน

1. <u>เชื้อระยะในเซลล์ตับ</u>

เมื่อยุงที่มีเชื้อระยะสปอโรซอยต์มากัดคน จะปล่อยสปอโรซอยต์เข้าสู่กระแสเลือดของคน บางตัวถูกทำลายโดยเม็ดเลือดขาว ส่วนที่เหลือ (ภายในเวลาประมาณ $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง) เชื้อจะเข้าสู่ตับ เกิดกระบวนการ เอ็กโซอีริทโทไซติก ไซโซโกนี (Exo-erythrocytic Schizogony) ซึ่งเป็นการเจริญเป็นวงชีวิตแบบไม่มีเพศ แบ่งตัวเพิ่มจำนวนและมีขนาดโตขึ้นโดยไม่มีการผสมพันธุ์ระหว่างเซลล์เพศ จนเป็นไซซอนต์ (Schizont) ภายหลังจากคนได้รับเชื้อ 6-16 วัน เซลล์ตับจะแตกออก เมื่อเซลล์ตับแตกออกจะปล่อยเมอโรซอยต์ (Merozoite) ออกมาซึ่งมีจำนวนหลายพันตัว เชื้อมาลาเรียแต่ละชนิดใช้ระยะเวลาในการเจริญจนได้ไซซอนต์ไม่เท่ากัน ขนาดไซซอนต์ต่างกัน ซึ่งภายในมีเมอโรซอยต์ จำนวนต่างกันด้วย

สำหรับเชื้อ P.f และ P.m หลังจากเซลล์ตับแตก เมอโรซอยต์จะออกมาจากเซลล์ตับทั้งหมด ไม่มีตกค้างอยู่ แต่สำหรับเชื้อ P. v และ P. o เมื่อเข้าสู่เซลล์ตับ สปอโรซอยต์บางส่วนจะมีการหยุดการเจริญ

ชั่วขณะอาจนานเป็นสัปดาห์ เป็นเดือนหรือจนกระทั่งเป็นปี จึงเริ่มแบ่งตัวใหม่แล้วออกจากเซลล์ตับไปสู่กระแสเลือดได้อีก ทำให้เกิดไข้กลับ (Relapse) ในผู้ป่วย เรียกเชื้อระยะหยุดพักนี้ว่า ฮิปโนซอยต์ (Hypnozoite)

เมอโรซอยต์ ของมาลาเรียต่างชนิดกันอาจเลือกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่มีอายุต่างกัน โดย P. v และ P. o เลือกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงอายุน้อย ส่วน P. m เลือกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงอายุมาก และ P. f จะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงได้ทุกอายุ ภายหลังที่เมอโรซอยต์เข้าสู่เม็ดเลือดแดงแล้ว (ใช้เวลา 30 วินาที) จะมีการเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวน ซึ่งการเจริญแบ่งตัวภายในเม็ดเลือดแดงของเชื้อมาลาเรียสามารถมองเห็นชัดเจนจากการนำมาย้อมด้วยสียิมซา (Giemsa stain) จะทำให้ส่วนที่เป็นนิวเคลียสติดสีแดง และส่วนที่เป็นไซโตพลาสซึมติดสีฟ้า

2. <u>เชื้อระยะในเม็ดเลือดแดง</u>

เมื่อเมอโรซอยต์เข้ามาอาศัยอยู่ในเม็ดเลือดแดง เกิดกระบวนการ อีริทโทไซติก ไซโซโกนี (Erythrocytic Schizogony) ซึ่งเป็นการเจริญเป็นวงชีวิตแบบไม่มีเพศ แบ่งตัวเพิ่มจำนวนและมีขนาดโตขึ้นโดยไม่มีการผสมพันธุ์ระหว่างเซลล์เพศ จากโทรโฟซอยต์ (Trophozoite) จนเป็นไซซอนต์ (Schizont)

ระยะไซซอนต์จะสิ้นสุดลงเมื่อเม็ดเลือดแดงแตกแล้วปล่อยเมอโรซอยต์สู่กระแสเลือด โดยบางจำนวนถูกทำลายโดยเม็ดเลือดขาว บางจำนวนจะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงใหม่ต่อไปเป็นการครบวงจร Erythrocytic Schizogony Cycle โดยวงจรเริ่มใหม่จากเมอโรซอยต์แต่ละตัวเข้าเม็ดเลือดแดงปกติ จะเริ่มลักษณะวงแหวน (โทรโฟซอยต์) ใหม่ และเจริญจนถึงเมอโรซอยต์อีก วนเวียนอยู่เช่นนี้ ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญจนถึงระยะแบ่งตัวสมบูรณ์จนเม็ดเลือดแดงแตกออกแต่ละรอบ ใช้เวลาต่างกันแล้วแต่ชนิดเชื้อ

หลังจากเกิดอาการไข้หนาวสั่น 3-15 วัน (เกิดจากเมอโรซอยต์แตกออกมาจากเม็ดเลือดแดงหลายรอบ) เมอโรซอยต์บางตัว ที่เข้าเม็ดเลือดแดง จะมีการเจริญแตกต่างออกไป คือ ไม่เจริญไปเป็นระยะไซซอนท์หรือเมอโรซอยต์ แต่ไซโตพลาสซึมจะหนาขึ้น ไม่มีแวคิวโอล นิวเคลียสโตขึ้น มีพิกเม้นต์มากขึ้น คือ พวกที่เจริญเป็นเซลล์เพศ หรือ**แกมมีโตไซต์** (Gametocyte) ซึ่งมีทั้งตัวผู้และตัวเมีย โดยรูปร่างและขนาดของแกมมีโตไซต์ของเชื้อมาลาเรียแต่ละชนิดแตกต่างกัน และถือเป็นระยะติดต่อไปสู่ยุงได้ ปกติแกมมีโตไซต์ อยู่ในเม็ดเลือดแดงได้ 8 - 9 วัน จะหมดอายุและสลายไปเอง เว้นแต่มียุงพาหะมาดูดเอาไปก็จะเจริญเป็น สปอโรซอยต์ในยุงต่อไปอีก

แกมมีโตไซต์อยู่ในกระแสเลือดโดยไม่มีผสมพันธุ์ และไม่ทำให้คนไข้เกิดอาการป่วย สามารถตรวจพบได้ในกระแสเลือดในเวลาต่างกันแล้วแต่ชนิดมาลาเรีย

การกระจายของเชื้อมาลาเรีย

การกระจายของเชื้อมาลาเรียในคนชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความชื้นและยุงพาหะ ในประเทศไทยพบทั้งสี่ชนิด โดยเรียงลำดับความมากน้อย คือ Pf, Pv, Pm และ Po โดย Pf มักพบได้ทั่วประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณชายแดน สำหรับ Pv นั้น พบชุกชุมมากในภาคใต้ นอกจากนั้นยังพบชนิดเชื้อชนิดผสม ซึ่งมักพบเป็น Pf ผสมกับ Pv ในผู้ป่วยรายเดียวกัน โดยพบปีละประมาณร้อยละ 0.5 (คู่มือการวินิจฉัยโรคมาลาเรีย กองมาลาเรีย, 2545)

โดยตั้งแต่ ปีงบประมาณ 2545-2553 แนวโน้มสัดส่วนของเชื้อมาลาเรียชนิด Pf น้อยกว่า Pv โดยในปีงบประมาณ 2553 พบจำนวนผู้ป่วยชนิด Pf ร้อยละ 41.04 ชนิด Pv ร้อยละ 58.20 ชนิด Pm ร้อยละ 0.1 ที่เหลือพบร้อยละ 0.68 เป็นผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรีย 2 ชนิด คือ พบทั้ง Pf และ Pv (ข้อมูลจากสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง)

การกระจายของผู้ป่วย

ผู้ป่วยมาลาเรียมีจำนวนน้อยในตอนกลางของประเทศ ส่วนใหญ่กระจายอยู่ใน 30 จังหวัดชายแดนของประเทศ ปีงบประมาณ 2553 พบผู้ป่วยกระจายอยู่ในบริเวณ 30 จังหวัดชายแดนทั้งสิ้น 22,342 ราย คิดเป็นร้อยละ 89.9 ของผู้ป่วยทั้งประเทศ จำนวนผู้ป่วยชายแดนเพิ่มขึ้นจากปีงบประมาณ 2552 จำนวน 1,585 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.1 อัตราการเกิดโรคมาลาเรียต่อประชากรพันคน (Annual Parasite Incidence :API) บริเวณ 30 จังหวัดชายแดนเท่ากับ 0.99 การกระจายของผู้ป่วยบริเวณชายแดน พบว่า ชายแดนไทย-พม่า 10 จังหวัดพบผู้ป่วยจำนวน 15,181 ราย คิดเป็นร้อยละ 68 ของผู้ป่วยทั้งประเทศ ชายแดนไทย-กัมพูชา 6 จังหวัดพบผู้ป่วย 2,437 ราย คิดเป็นร้อยละ 11 ชายแดนไทย-มาเลเซีย 4 จังหวัดพบผู้ป่วย 4,269 ราย คิดเป็นร้อยละ 19 และชายแดนไทย-ลาว 10 จังหวัดพบผู้ป่วย 455 ราย คิดเป็นร้อยละ 2 ของผู้ป่วยทั้งประเทศ

การกระจายของผู้ป่วยตามกลุ่มอายุและอาชีพ (สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค ปี 2553) พบผู้ป่วยอยู่ในวัยทำงาน (อายุ 15 ปีขึ้นไป) ร้อยละ 69.6 วัยเด็กและนักเรียน (อายุ 5-14 ปี) ร้อยละ 21.2 และเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี พบร้อยละ 9.2 การกระจายของผู้ป่วยที่พบรายเดือน พบผู้ป่วยสูงในเดือนมิถุนายนและเดือนกรกฎาคม จำนวน 4,082 ราย และ 3,595 ราย ตามลำดับ ซึ่งจำนวนผู้ป่วยสูงกว่าเดือนเดียวกันของปีที่ผ่านมา

จังหวัดที่พบไข้มาลาเรียสูง

ในปี 2553 จังหวัดที่พบผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียมากที่สุด คือ จังหวัดตาก ตรวจพบผู้ป่วย 6,844 ราย คิดเป็นร้อยละ 36.16 ของผู้ป่วยทั้งเทศ จังหวัดที่พบผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียมากที่สุด 10 อันดับแรก (ปีงบประมาณ 2553) ได้แก่จังหวัดตาก ยะลา ชุมพร แม่ฮ่องสอน กาญจนบุรี ระนอง ประจวบคีรีขันธ์ ศรี

สะเกษ พังงา และนราธิวาส รวม 10 จังหวัด พบผู้ป่วยจำนวน 18,900 ราย คิดเป็นร้อยละ 76.69 ของผู้ป่วยทั้งประเทศ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์โลหิตวิทยาในการตรวจวินิจฉัยมาลาเรีย

ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาซึ่งมีคุณสมบัติในการตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรีย มาใช้ในการวินิจฉัยโรคมาลาเรียในหลายประเทศ ตามที่มีการรายงานออกมา ซึ่งผู้วิจัยได้ยกตัวอย่างผลการศึกษา ดังแสดงข้างล่าง อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาในประเทศไทย

- จากงานวิจัยของ Mendelow และคณะ ในปี 1999 ศึกษาประสิทธิภาพของเทคโนโลยีแสง depolarization laser ในเครื่อง Full blood count เพื่อใช้สำหรับตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อมาลาเรีย โดยหาความไว ความจำเพาะ Positive predictive value และ Negative predictive value เพื่อดูความเป็นไปได้ในการนำเครื่องนี้มาใช้ประโยชน์ในงานประจำวันทางโลหิตวิทยาในโรงพยาบาล ประเทศอาฟริกาใต้ โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 224 รายที่แพทย์สั่งตรวจนับเม็ดเลือด และสงสัยว่าเป็นมาลาเรีย เปรียบเทียบกับผลการตรวจจากกล้องจุลทรรศน์และ/หรือวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยา พบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 72 ความจำเพาะร้อยละ 96 Positive predictive value ร้อยละ 93 และ Negative predictive value ร้อยละ 82 ซึ่งการใช้เครื่องนี้ช่วยในการตรวจหาคัดกรองผู้ป่วยที่ไม่มีอาการบ่งบอกว่าเป็นมาลาเรีย จะช่วยลดอัตราป่วยและตายของชาวอาฟริกาได้

- Hanscheid และคณะ ในปี 2001 ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 ในการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียพิกเม้นต์ในเม็ดเลือดขาว ในระหว่างงานประจำวันในการตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติในห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลริสบอน ประเทศโปรตุเกส ดำเนินการศึกษาในปี 1999 เป็นระยะเวลา 9 เดือน โดยตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเป็นผู้ป่วยห้องฉุกเฉิน 148 ราย ที่แพทย์สั่งตรวจ full blood count เปรียบเทียบกับผลตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 95 ความจำเพาะร้อยละ 88 สรุปว่าเครื่องนี้มีประโยชน์ในกรณีช่วยเสริมกับวิธีการตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์

- Wever และคณะ ในปี 2002 ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 4000 ในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย โดยศึกษาในผู้ป่วย 113 รายที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียมาตรวจรักษาในโรงพยาบาลเนเธอร์แลนด์ เปรียบเทียบกับผลการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เครื่องมีความไวต่ำแต่มีความจำเพาะสูง โดยมีความไวร้อยละ 62 ความจำเพาะสูงถึง ร้อยละ 96 ดังนั้นควรนำเครื่องนี้มาใช้เฉพาะในพื้นที่ซึ่งเจ้าหน้าที่ขาดความชำนาญในการวินิจฉัยมาลาเรีย หรือใช้คัดกรองผู้ป่วยที่มีอาการไข้

- Padial และคณะ ในปี 2005 ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่อง CELL-DYN® 4000 ในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย ในประเทศสเปน ศึกษาในผู้ป่วย 114 รายที่สงสัยเป็นมาลาเรีย เปรียบเทียบกับผลการ

ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งผู้ตรวจพบเชื้อทั้งหมดเป็นชนผิวดำ พบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 72 ความจำเพาะร้อยละ 98 Positive predictive value ร้อยละ 78 และ Negative predictive value ร้อยละ 97 สรุปว่าเครื่องนี้มีความไวต่ำไม่สามารถจะนำมาใช้เป็นนวิธีการหลักในการวินิจฉัย แต่ใช้เป็นเครื่องเตือนว่าอาจติดเชื้อมาลาเรียเพื่อจะได้ทำการตรวจยืนยันจากฟิล์มโลหิตอีกครั้ง

- Dromignya และคณะ ในปี 2005 ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่อง full blood count ในการตรวจการติดเชื้อมาลาเรีย โดยสุ่มตรวจประชาชนในประเทศเซเนกัล ที่อาศัยในท้องที่แพร่เชื้อต่ำ จำนวน 676 คน และคนที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรีย 123 คน รวม 799 คน เปรียบเทียบกับผลการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเครื่องมี Negative predictive value ร้อยละ 95.6 Positive predictive value ร้อยละ 91.6 ผลการวิจัยสรุปว่าการตรวจหามาลาเรียที่เป็นส่วนหนึ่งของงานประจำในการตรวจนับเม็ดเลือด น่าที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการของประเทศที่มีการระบาดของไข้มาลาเรีย

- นอกจากนี้ในปี 2005 Josephine และ Nisspatorn ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่อง CELL-DYN® 4000 ในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย ในผู้ที่มีไข้ไม่ทราบสาเหตุ หรือ มีอาการคล้ายเป็นมาลาเรีย 889 รายในประเทศมาเลเซีย เปรียบเทียบผลการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีผู้ติดเชื้อมาลาเรีย 16 ราย ซึ่งให้ผลตรงกันทั้งที่ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์และเครื่อง CELL-DYN® 4000 นั่นคือ เครื่องนี้มีความไวและความจำเพาะ ร้อยละ 100 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อมาลาเรียแต่ละชนิด จะมีรูปแบบของการกระจายตัวและสีของเม็ดเลือดขาวที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรีย ปรากฏบน scatter plot ได้แตกต่างกัน ทำให้บอกชนิดการติดเชื้อได้ แต่งานวิจัยนี้ตัวอย่างที่พบเชื้อมีน้อย จึงควรมีการศึกษาอย่างละเอียดเพื่อยืนยันผล โดยเฉพาะรูปแบบการกระจายตัวของเชื้อ *Plasmodium malariae*

จากงานวิจัยดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าได้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพด้านการตรวจหาเชื้อมาลาเรียของเครื่องตรวจวิเคราะห์โลหิตวิทยาในหลายๆประเทศ ทั้งประเทศที่เป็นแหล่งแพร่เชื้อและไม่ได้เป็นแหล่งแพร่เชื้อมาลาเรีย ซึ่งพบว่าเครื่องสามารถตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยมีค่าความจำเพาะสูง แต่ค่าความไวกลับมีความหลากหลาย ตั้งแต่ร้อยละ 60 ถึงสูงกว่าร้อยละ 90 แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของเครื่องในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียในประชากรต่างเชื้อชาติ ต่างภูมิภาค จะมีค่าไม่เท่ากัน (แม้ใช้เครื่องมือรุ่นเดียวกันก็ตาม)

โดยปัจจัยที่มีผลต่อความไว ความจำเพาะของเครื่อง คือการที่ผู้ป่วยมีภูมิต้านทานต่อโรค ซึ่งจะเป็นสื่อเหนี่ยวนำให้เม็ดโลหิตขาวสามารถจับกินเชื้อมาลาเรียได้ดีขึ้น (Day, 1996; Grobusch, 2003 และ Abdalla, 2004) และเนื่องจากวิธีนี้จะขึ้นกับการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว (ชนิดที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรีย) ดังนั้นถ้ามีในปริมาณน้อย เครื่องอาจตรวจไม่พบ จึงทำให้มีความไวต่ำ

ดังนั้นหากต้องการนำเครื่องดังกล่าวมาใช้จริงในประเทศไทย สำหรับงานตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียในผู้ป่วยต้องสงสัยเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผู้ป่วยอาจมีทั้งผู้ที่มีภูมิต้านทานและไม่มีภูมิต้านทานต่อโรคมาลาเรีย จึงต้องมีการศึกษาหาวิธีที่จะช่วยทำให้เครื่องสามารถตรวจหาผู้ป่วยมาลาเรียได้ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้นโดยเฉพาะในผู้ที่ไม่มีภูมิต้านทาน ซึ่งอาจจะมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์เชื้อมาลาเรียในระดับต่ำกว่าที่เครื่องจะตรวจวัดได้ โดยผู้วิจัยจะหาวิธีการต่างๆ ในการเพิ่มปริมาณเม็ดโลหิตขาว ก่อนนำมาอ่านผลด้วยเครื่องดังกล่าว ซึ่งคาดว่าน่าจะช่วยเพิ่มความไวให้เพิ่มขึ้นได้ เป็นขั้นตอนเพิ่มจากปกติและเป็นสิ่งที่การศึกษานี้ต้องการทราบ วิธีใดจะมีผลทำให้เครื่องมีความไวในระดับสูงเพียงพอที่จะยอมรับได้ มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้งาน โดยเปรียบเทียบกับวิธีตรวจมาตรฐานด้วยฟิล์มโลหิตหนา ตลอดจนหาเกณฑ์ที่เหมาะสมในการใช้งานกับเครื่องมือนี้ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจนำ มาใช้ด้านใดด้านหนึ่งในอนาคต

ซึ่งงานวิจัยนี้ ต้องการจะศึกษาเฉพาะประสิทธิภาพด้านการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาที่มีการใช้งานอยู่แล้วในประเทศไทย แบบ/รุ่นใดก็ได้ โดยมิได้มีอคติในการเลือกเครื่องมือ / รุ่นใดๆ มาดำเนินการศึกษา (ไม่มีผลประโยชน์ส่วนตัวใดๆมาเกี่ยวข้อง) แต่เทคโนโลยีนี้มีในเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาของ CELL-DYN® (Abbott, Santa Clara, Calif.) ประกอบกับเครื่อง CELL-DYN® แต่ละรุ่น มีความแตกต่างในเรื่องของแหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์ และมุมที่เกิดการกระจายของแสงเลเซอร์ แต่มีหลักการและใช้วิธีการในการจำแนกเม็ดโลหิตขาวเหมือนกัน (Suh และคณะ, 2003) ดังนั้นงานวิจัยนี้จะดำเนินการศึกษากับเครื่อง CELL-DYN® 3500 เนื่องจากเป็นรุ่นที่มีการใช้งานอยู่ในประเทศไทยในปัจจุบัน และมีผู้ศึกษาวิจัยเบื้องต้นบ้างแล้วในต่างประเทศ

บทที่ 3

วัสดุและวิธีการ

รูปแบบการวิจัย

การศึกษาการประเมินเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบเพื่อวินิจฉัยโรค (diagnostic study)

สถานที่ทำการศึกษา

มาลาเรียคลินิกที่อยู่ในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียของจังหวัดตาก โรงพยาบาลรามาธิบดี และศูนย์อบรมโรคติดต่อนำโดยแมลง จังหวัดสระบุรี

ระยะเวลาที่ทำการศึกษา

ระยะเวลาดำเนินการเก็บตัวอย่างศึกษา คือ ระหว่างเดือนมีนาคมถึงสิงหาคม 2554

ตัวอย่างศึกษา

โลหิตของผู้ที่มารับการตรวจรักษาในมาลาเรียคลินิก ซึ่งยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยเป็นผู้มีอาการไข้ สูงตั้งแต่ 38 องศาเซลเซียสจากการวัดอุณหภูมิทางปาก หรือ มีประวัติไข้ใน 72 ชั่วโมงที่ผ่านมา หรือเข้าไปในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรีย มีอายุ 18 ปีขึ้นไป

โดยยกเว้นหญิงมีครรภ์ ผู้มีโรคประจำตัว เช่น โลหิตจาง ลักปิดลักเปิด เลือดออกไม่หยุด (Hemophilia) เป็นต้น รวมถึงผู้ป่วยมีอาการหนัก อาการแสดงของมาลาเรียชนิดรุนแรง และมีอาการแทรกซ้อน ตามหลักเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก

วิธีการศึกษา

1) <u>การเก็บตัวอย่างโลหิต</u>

เจาะโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขนผู้ป่วย ประมาณไม่เกิน 10 มิลลิลิตร ทำฟิล์มโลหิตทั้งแบบหนาและแบบบาง อย่างละ 2 แผ่น ฟิล์มหนาแผ่นหนึ่งให้เจ้าหน้าที่ประจำคลินิกใช้ในการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์และให้การรักษาตามปกติหากพบเชื้อ ฟิล์มที่เหลือถูกนำกลับมาอ่านผลโดยผู้เชี่ยวชาญการดูกล้อง ฟิล์มบางเก็บไว้ยืนยันกรณีสงสัย ส่วนโลหิตที่เหลือใส่ในหลอดซึ่งมีสารกันโลหิตแข็ง EDTA เคลือบอยู่ จำนวน 2

หลอดๆ ละ ประมาณ 5 มิลลิลิตร เก็บรักษาในอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำกลับไปอ่านผลจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาที่โรงพยาบาลรามาธิบดี

2) <u>การตรวจวินิจฉัยหาการติดเชื้อมาลาเรีย</u>

2.1) <u>ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์</u> (Iqbal, 2002; Palmer, 2003)

เป็นวิธีที่ใช้เป็นมาตรฐานอ้างอิง(Gold Standard) โดยฟิล์มหนา 2 แผ่น ถูกย้อมด้วยสียิมซ่าเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที ทำการตรวจโดยเจ้าหน้าที่ตรวจวินิจฉัยในมาลาเรียคลินิกตามหน้าที่ปกติประจำวันของงานตรวจรักษา อีกแผ่นหนึ่งตรวจโดยผู้เชี่ยวชาญการดูกล้อง 2 คน เพื่อยืนยันผลการตรวจวินิจฉัย ซึ่งผู้อ่านผลต้องไม่ทราบรายละเอียดใดเกี่ยวกับผู้ป่วย และไม่ทราบผลตรวจซึ่งกันและกันเพื่อไม่ให้เกิดอคติในการอ่านสไลด์ และในกรณีผู้เชี่ยวชาญทั้งสองอ่านผลได้แตกต่างกัน จะส่งต่อให้ผู้เชี่ยวชาญคนที่สามอ่านผลเพื่อการตัดสิน โดยใช้ผลตัดสินตรงกัน 2 ใน 3 ในการตัดสินไม่พบเชื้อจะต้องดูฟิล์มจนครบ 200 วงกล้อง ถ้าพบเชื้อต้องดูจนครบ 100 วงกล้อง ก่อนตัดสินชนิดเชื้อ นับจำนวนพาราไซต์ต่อ 200 เม็ดโลหิตขาว คำนวนความหนาแน่นต่อโลหิต 1 ไมโครลิตร โดยให้คนปกติมีเม็ดโลหิตขาว 8000 ตัวต่อไมโครลิตร ส่วนฟิล์มบางหลังทำการตรึงฟิล์มโลหิตด้วยเมทานอล ย้อมด้วยยิมซ่าเข้มข้น 2% เป็นเวลา 30 นาที เก็บไว้ตรวจยืนยันผลกรณีสงสัย

2.2) <u>ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา (Hematology analyzer)</u>

นำตัวอย่างโลหิตทั้งสองหลอด ออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อรอการอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ดังนี้

1. **หลอดที่หนึ่ง**

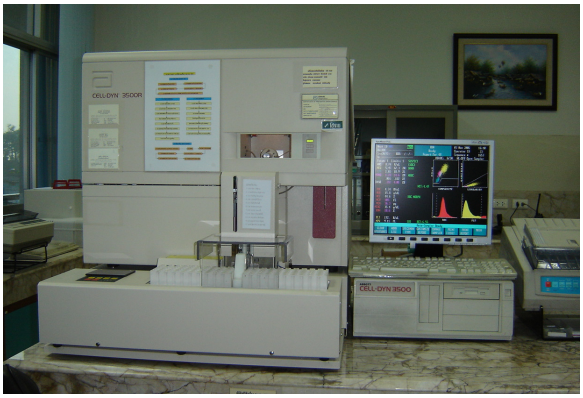
- นำไปเข้าเครื่องให้ทำการตรวจวิเคราะห์ Complete Blood Count แบบอัตโนมัติเหมือนการปฏิบัติเป็นปกติในงานประจำของห้องปฏิบัติการ (เรียกแบบ A) โดยต้องถ่ายโลหิตใส่หลอดขนาด 13 x 75 มม.ตามที่เครื่องระบุ และต้องมีปริมาณสารในหลอดเพียงพอ คือ 1.2 มิลลิลิตร ก่อนนำไปเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์
- เมื่ออ่านผลเสร็จ (ซึ่งจะเหลือโลหิต ~ 4 มิลลิลิตร) นำหลอดมาตั้งทิ้งไว้ จนโลหิตแยกออกเป็นสองส่วน จะใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที นำเฉพาะส่วนใสด้านบน เรียกส่วนนี้ว่า Leukocytes-rich plasma ไปเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ (เรียกแบบ B) ซึ่งโดยปกติจะมีปริมาณ ร้อยละ 50 ของโลหิต นั่นคือ จะได้ปริมาณสาร 2 มิลลิลิตร ซึ่งเพียงพอต่อการอ่านผล

2. **หลอดที่สอง**

เป็นการแยกเอาเฉพาะเม็ดโลหิตขาว มาตรวจวิเคราะห์ (เรียกแบบ C) โดยนำโลหิต (whole blood) ทั้งหมดในหลอด ซึ่งต้องมีปริมาณไม่น้อยกว่า 5 มิลลิลิตร โดยเป็นปริมาณที่น้อยที่สุด ตามข้อบ่งใช้ของผลิตภัณฑ์ มาใส่ลงในสารละลาย Polymorphprep™ (Axis-Shield, Oslo, Norway) ซึ่งใช้สำหรับแยกเม็ดโลหิตขาว ในอัตราส่วน 1 : 1 (Ferrante และคณะ, 1980 ; เอกสารวิธีใช้ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์) วิธีการโดยสังเขป คือ

- ใส่โลหิต ลงในหลอดที่มี Polymorphprep™ ซึ่งบรรจุอยู่ในหลอดเซ็นตริฟิว ขนาด 15 มิลลิลิตรโดยค่อยๆใส่โลหิตให้เป็นชั้น ลอยอยู่ด้านบนของสาร ห้ามเขย่าให้โลหิตผสมกับสาร
- นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 450-500 x g นาน 30-35 นาที ที่อุณหภูมิ 18-22 องศาเซลเซียส เพื่อให้แยกชั้น
- แล้วดูดเก็บเฉพาะชั้นเม็ดโลหิตขาว ซึ่งจะอยู่ระหว่างชั้นพลาสม่ากับชั้นสารละลาย ใส่ลงในหลอดขนาดความจุ 3 มิลลิลิตร
- เติม 0.45% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือ 0.5 N Culture medium ในปริมาตรที่เท่ากันกับชั้นเม็ดโลหิตขาวที่เก็บได้ เพื่อรักษาสภาพเซล รักษาสมดุลของน้ำในเซล
- นำเซลเม็ดโลหิตขาวแขวนลอยที่ได้ มาใส่ในหลอดความจุ 3 มิลลิลิตร แล้วเติม 0.45% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือ 0.5 N Culture medium ลงไปอีกจนถึงปริมาตร 3 มิลลิลิตร
- แล้วปั่นล้างสองครั้ง เพื่อกำจัดสารที่ใช้แยกเม็ดโลหิตขาวออก ที่ความเร็ว 400 x g นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 18-22 องศาเซลเซียส
- ดูดเก็บเซลเม็ดโลหิตขาว (ที่อยู่ส่วนล่างหลอด) เติม0.45% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือ 0.5 N Culture medium เพื่อแขวนลอยและรักษาสภาพเซล
- แล้วนำไปส่วนนี้ไปตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา

CELL-DYN® 3500 (Abbott, Santa Clara, Calif.) ดังรูปที่ 2 เป็นเครื่องตรวจนับเม็ดโลหิตแบบหนึ่งซึ่งตรวจนับและจำแนกชนิดแบบอัตโนมัติ โดยโลหิตตัวอย่างจะเข้าไปผ่านขั้นตอนต่างๆ ในเครื่อง เพื่อวิเคราะห์และประมวลผลออกมาบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ ซึ่งแสดงค่าต่างๆ ได้แก่ ชนิดและปริมาณของเม็ดโลหิตขาว ปริมาณเม็ดโลหิตแดง เกล็ดโลหิต เป็นต้น รวมทั้งยังแสดงกราฟ scatter plot ของเม็ดโลหิตขาวชนิดต่างๆ ซึ่งจะดูความแตกต่างได้จากสีที่ปรากฏและตำแหน่งบนกราฟที่แตกต่างกัน



รูปที่ 2 เครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500

รูปที่ 3 Scatter plot แสดงการตรวจหาติดเชื้อมาลาเรีย

หลักการในการแยกชนิดของเม็ดโลหิตขาว จะอาศัยความแตกต่างในด้านขนาด โครงสร้าง จำนวนโลบ (lobe) และจำนวนแกรนูล (granule) ทำให้แสงเลเซอร์ที่ส่องผ่านเกิดการกระจายแสงออกทั้ง 4 มุม (0°, 10° , 90° และ 90° Depolarize) ไม่เท่ากัน

คุณสมบัติพิเศษของเครื่องนี้ คือ สามารถตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยตรวจหามาลาเรียพิกเม้นต์ (Malaria pigment) หรือ ฮีโมโซอิน (Haemozoin) ที่อยู่ในเม็ดโลหิตขาว ชนิดโมโนซัยต์ ซึ่งพิกเม้นต์จะทำให้เกิดการกระจายของแสงดีโพลาไรซ์เลเซอร์ เหมือนคุณสมบัติของเม็ดโลหิตขาวชนิดอีโอซิโนฟิล เมื่อมองจากกราฟ scatter plot ระหว่างแกน x คือ Lobularity วัดการกระจายแสงที่มุม 90° กับ แกน y คือ Granularity วัดการกระจายแสงที่มุม 90°Depolarize จะปรากฏในบริเวณเดียวกับอีโอซิโนฟิล หรือบริเวณที่ค่า 90°depolarize signal มากกว่า 90° polarize signal (Mendelow, 1999) แต่มีสีม่วงซึ่งต่างจากสีเขียวของอีโอซิโนฟิล จะตัดสินว่าเป็นมาลาเรียเมื่อมีจุดสีม่วงนี้ตั้งแต่ 1 จุดขึ้นไป ดังรูปที่ 3 แต่เทคโนโลยีนี้ยังมีข้อจำกัด คือ ยังไม่สามารถแยกชนิดเชื้อมาลาเรียได้

3. <u>การวิเคราะห์ผล</u>

นำผลการตรวจจากเครื่องวิเคราะห์โลหิตวิทยา มาเปรียบเทียบกับผลตรวจมาตรฐานจากกล้องจุลทรรศน์ โดยนำเข้าตาราง 2 x 2 จะได้ค่าผลการตรวจด้วยเครื่อง เป็นผลบวกจริง ผลลบจริง ผลบวกเท็จ ผลลบเท็จ ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำ(Accuracy) ของการตรวจวินิจฉัย ได้ดังนี้

จ.น. ตัวอย่างจาก กล้อง / จ.น.ตัวอย่างจากเครื่องฯ	กล้อง ผลบวก	กล้อง ผลลบ	รวม
เครื่องตรวจวิเคราะห์โลหิตวิทยา ผลบวก	ผลบวกจริง a	ผลบวกเท็จ b	a + b
เครื่องตรวจวิเคราะห์โลหิตวิทยา ผลลบ	ผลลบเท็จ c	ผลลบจริง d	c + d
รวม	a + c	b + d	a + b + c + d

และยังสามารถนำมาคำนวนหาค่าความไว ความจำเพาะและค่าการทำนายโรค ทำให้ทราบประสิทธิผลของเครื่องได้ ตามสูตรที่แสดงข้างล่าง ตลอดจนวิเคราะห์ผลของชนิดและความหนาแน่นเชื้อที่มีต่อค่าความไว โดยใช้โปรแกรม MS Excel และ SPSS ช่วยในการคำนวนและวิเคราะห์ทางสถิติ

ร้อยละ ความไว (% sensitivity) = [a / (a+c)] x 100

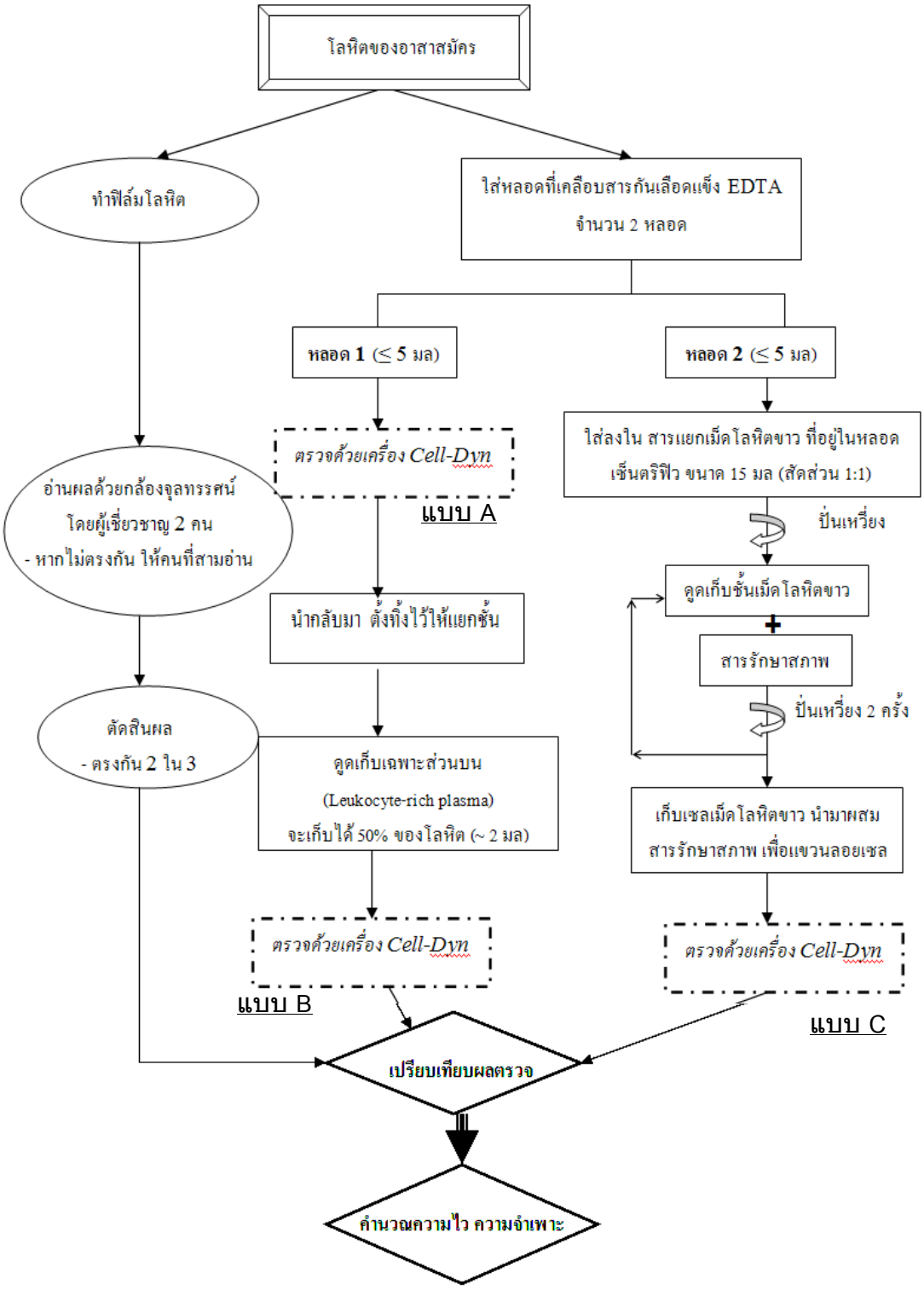
ร้อยละ ความจำเพาะ (% specificity) = [d / (b+d)] x 100

ร้อยละ ค่าทำนายโรคผลบวก (% positive predictive value; PPV) = [a / (a+b)] x 100

ร้อยละ ค่าทำนายโรคผลลบ (% negative predictive value; NPV) = [d / (c+d)] x 100

ร้อยละ ค่าความถูกต้อง (% accuracy) = [(a + d) / (a+b+c+d)] x 100

วิธีการศึกษาโดยสังเขป แสดงดังรูปข้างล่าง (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 แผนผังแสดงวิธีการศึกษาวิจัย

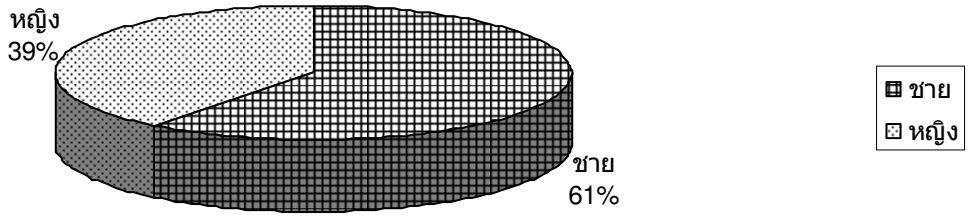
บทที่ 3

ผลการศึกษา

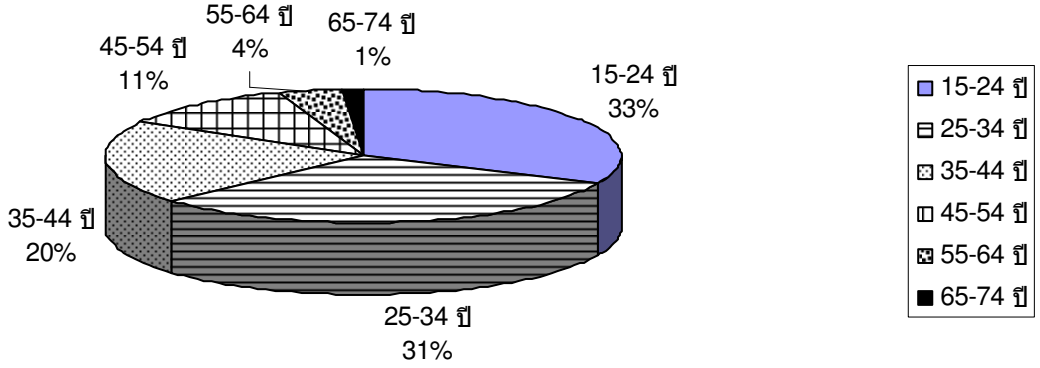
ลักษณะทั่วไปของกลุ่มประชากรตัวอย่าง

จากตัวอย่างทั้งหมดที่ดำเนินการศึกษา จำนวน 223 ราย เป็นเพศชาย ร้อยละ 61.0 เพศหญิง ร้อยละ 39.0 (รูปที่ 5) คิดเป็นสัดส่วน ชายต่อหญิง เท่ากับ 1.5 : 1 และเมื่อจำแนกตามผู้ป่วยพบเชื้อมาลาเรีย คิดเป็นเพศชาย ร้อยละ 76.5 เพศหญิง ร้อยละ 23.5

มีอายุตั้งแต่ 18-67 ปี เฉลี่ย 32 ปี (รูปที่ 6) โดยกลุ่มประชากรตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอายุ15-24 ปี คิดเป็นร้อยละ 33.0 ของตัวอย่างศึกษาทั้งหมด และยังเป็นช่วงอายุที่พบว่าป่วยเป็นมาลาเรียมากที่สุดด้วย คิดเป็น ร้อยละ 37.2 ของผู้ป่วยพบเชื้อมาลาเรียในการศึกษาวิจัยนี้



รูปที่ 5 แสดงจำนวนประชากรตัวอย่าง จำแนกตามเพศ



รูปที่ 6 แสดงจำนวนประชากรตัวอย่าง จำแนกตามกลุ่มอายุ

ผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์

พบว่า จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 223 ราย ไม่พบเชื้อ 172 ราย คิดเป็นร้อยละ 77.1 พบเชื้อ 51 ราย คิดเป็นร้อยละ 22.9 (โดยคิดเป็นสัดส่วนชนิดเชื้อ Pf ร้อยละ 66.7 Pv ร้อยละ 33.3 ของตัวอย่างพบเชื้อ) โดยไม่พบเชื้อผสม หรือ Pm หรือ Po (ดังตารางที่ 1)

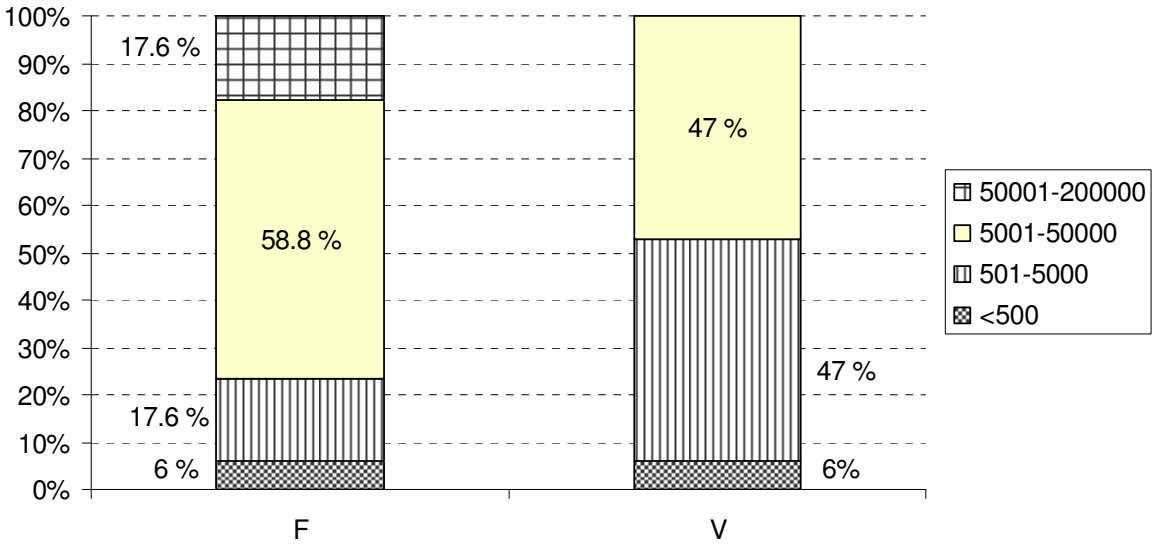
มีความหนาแน่นเชื้อมาลาเรียในเลือด ตั้งแต่ 39 - 196,522 ตัวต่อเลือดหนึ่งไมโครลิตร เฉลี่ย 27,434 ตัวต่อไมโครลิตร(± SD 40,009) ตัวกลางเรขาคณิต(geometric mean; GM) เท่ากับ 9,339 ตัวต่อไมโครลิตร มัธยฐาน เท่ากับ 14,753 ตัวต่อไมโครลิตร

- สำหรับเชื้อชนิด Pf มีความหนาแน่นตั้งแต่ 39 - 196,522 ตัวต่อไมโครลิตร เฉลี่ย 37,909 ตัวต่อไมโครลิตร (±SD 45,470) GM 14,314 ตัวต่อไมโครลิตร มัธยฐาน เท่ากับ 23,531 ตัวต่อไมโครลิตร โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 5,001-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร คิดเป็นร้อยละ 58.8 (รูปที่ 7)

- ส่วนเชื้อชนิด Pv มีความหนาแน่นตั้งแต่ 114 - 22,547 ตัวต่อไมโครลิตร เฉลี่ย 6,483 ตัวต่อไมโครลิตร (±SD 6,200) GM 3,976 ตัวต่อไมโครลิตร มัธยฐาน เท่ากับ 4,792 ตัวต่อไมโครลิตร โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 5,001-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร คิดเป็นร้อยละ 58.8 โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 501-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร และไม่พบเชื้อที่มีความหนาแน่นสูงกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตร (รูปที่ 7)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
Negative (ผลลบ)	172	77.1
Pf asexual	26	11.6
Pf asexual + sexual	6	2.7
Pf sexual	2	1.0
Pv asexual (± sexual)	17	7.6
รวม	223	100



รูปที่ 7 แสดงจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อชนิด Pf และ Pv ในแต่ละช่วงความหนาแน่น

ผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500

- แบบ A คือ เมื่อนำโลหิต (Whole blood) ไปอ่านผลด้วยเครื่องเหมือนการปฏิบัติเป็นปกติในงานประจำของห้องปฏิบัติการ พบว่า ให้ผลลบ ทั้งสิ้น 177 ราย ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์ และ ให้ผลบวก 46 ราย ซึ่งต่ำกว่าที่ตรวจพบจากกล้องจุลทรรศน์ (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นผลลบเท็จ จำนวน 22 ราย ส่วนผลบวกเท็จ พบ จำนวน 17 ราย

- แบบ B คือ เมื่อนำเฉพาะส่วน Leukocytes-rich plasma ไปอ่านผลด้วยเครื่อง พบว่า ให้ผลลบทั้งสิ้น 188 ราย ซึ่งยังคงสูงกว่าที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์ และ ให้ผลบวก 35 ราย ซึ่งต่ำกว่าที่ตรวจพบจากกล้องจุลทรรศน์เช่นเดียวกับแบบ A (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นผลลบเท็จ จำนวน 30 ราย ส่วนผลบวกเท็จ พบ จำนวน 14 ราย

- แบบ C คือ เมื่อนำเฉพาะเม็ดโลหิตขาวที่แยกได้จากโลหิต ไปอ่านผลด้วยเครื่อง พบว่า ให้ผลลบทั้งสิ้น 186 ราย และ ให้ผลบวก 37 ราย (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นผลลบเท็จ จำนวน 27 ราย ส่วนผลบวกเท็จ พบ จำนวน 13 ราย

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา จากส่วนประกอบของโลหิตที่แตกต่างกัน 3 แบบ

ผลตรวจ	แบบ A (Whole blood)		แบบ B (Leukocytes-rich plasma)		แบบ C (White Blood Cell)	
	จำนวน (ราย)	ร้อยละ	จำนวน (ราย)	ร้อยละ	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
Negative (ผลลบ)	177	79.4	188	84.3	186	83.4
Positive (ผลบวก)	46	20.6	35	15.7	37	16.6
รวม	223	100	223	100	223	100

ประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 เมื่อเปรียบเทียบกับกล้องจุลทรรศน์ (ตารางที่ 3)

พบว่า ในภาพรวมการใช้เครื่องฯ ตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิต (แบบ A) มีค่าความไว ร้อยละ 57 ในขณะที่การตรวจหาเชื้อมาลาเรีย จาก Leukocytes-rich plasma และ WBC กลับมีค่าความไวลดลง ซึ่งไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ คือ ถ้าตัวอย่างทดสอบมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวมากขึ้น โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อมาลาเรียน่าจะมากขึ้นด้วย โดยหาวิธีเพิ่มปริมาณเม็ดโลหิตขาวก่อนนำมาอ่านผลด้วยเครื่องดังกล่าว น่าจะช่วยเพิ่มความไวของเครื่องในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียได้ เนื่องจากวิธีนี้จะขึ้นกับการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว (ชนิดที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรีย) ดังนั้นถ้ามีในปริมาณน้อย เครื่องอาจตรวจไม่พบ อย่างไรก็ตามการตรวจหาเชื้อจาก WBC ก็ยังมีความไวสูงกว่าการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma

สำหรับความจำเพาะ ทั้ง 3 แบบ มีความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียสูงกว่าร้อยละ 90 นั่นคือในคนที่ไม่เป็นมาลาเรีย 100 คน เครื่องนี้เกิดผลบวกเท็จว่าพบเชื้อ ได้ประมาณร้อยละ 10 โดยการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC มีความจำเพาะสูงกว่าการตรวจจากโลหิต เท่ากับ ร้อยละ 92 92 และ 90 ตามลำดับ

สำหรับ PPV เมื่อตรวจจาก WBC มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 65 รองลงมา คือ เมื่อตรวจจาก Whole blood และ Leukocytes-rich plasma เท่ากับ ร้อยละ 63 และ 60 ตามลำดับ ส่วนค่า NPV การตรวจจาก Whole blood มีค่าสูงกว่า WBC และ Leukocytes-rich plasma เท่ากับ ร้อยละ 88 86 และ 84 ตามลำดับ

สำหรับค่า Kappa ซึ่งแสดงถึง ความเข้ากันได้กับวิธีมาตรฐานคือการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าจากการตรวจทั้ง 3 แบบ ค่า Kappa ไม่ถึงร้อยละ 50 โดยการตรวจจาก Whole blood ดีกว่าการตรวจจาก WBC และ Leukocytes-rich plasma ตามลำดับ

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา เมื่อใช้ส่วนประกอบของโลหิตแตกต่างกัน 3 แบบ

	แบบ A	**แบบ B**	**แบบ C**
รวม	N = 223	N = 223	N = 223
ร้อยละความไว (95%CI*)	57 (45-67)	41(30-51)	47 (36-56)
ร้อยละความจำเพาะ (95%CI)	90 (87-93)	92 (87-95)	92 (89-95)
ร้อยละ PPV (95%CI)	63 (50-74)	60 (44-74)	65 (50-78)
ร้อยละ NPV (95%CI)	88 (84-91)	84 (81-87)	86 (82-88)
Kappa	0.487	0.371	0.437

* CI คือ ช่วงความเชื่อมั่น (Confidence Interval)

เมื่อเปรียบเทียบความไวของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียที่ระดับความหนาแน่นของเชื้อแตกต่างกัน (ดังตารางที่ 4) สำหรับการตรวจหาเชื้อ Pf จากโลหิต (Whole blood) พบว่า ความไวจะเพิ่มขึ้นถ้าความหนาแน่นของเชื้อมากขึ้น โดยมีค่าความไวสูงถึงร้อยละ 83 เมื่อความหนาแน่นเชื้อมากกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตร แต่ไม่สามารถตรวจหาเชื้อที่มีความหนาแน่นต่ำกว่า 500 ตัวต่อไมโครลิตรได้

ส่วนการตรวจหาเชื้อ Pf จาก Leukocytes-rich plasma และ WBC มีค่าความไวไม่ค่อยแตกต่างกัน แม้ว่าความหนาแน่นของเชื้อเพิ่มขึ้น และค่าความไวที่ได้จากทั้งสองแบบนี้ จะต่ำกว่าที่ได้จากการตรวจหาเชื้อจาก Whole blood เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความหนาแน่นเชื้อเท่ากัน

สำหรับเชื้อ Pv ความไวจะเพิ่มขึ้นถ้าความหนาแน่นเชื้อมากขึ้น เฉพาะการตรวจหาเชื้อจาก Leukocytes-rich plasma แต่อย่างไรก็ตามค่าความไวที่ได้จากวิธีนี้จะต่ำกว่าความไวจากการตรวจ WBC และ Whole blood ส่วนการตรวจหาเชื้อจาก Whole blood และ WBC พบว่า ค่าความไวไม่สัมพันธ์กับความหนาแน่นเชื้อ

ตารางที่ 4 ค่าความไวของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ที่ระดับความหนาแน่นเชื้อต่างๆ

Pf	N	แบบ A	แบบ B	แบบ C
ความหนาแน่น (ตัวต่อไมโครลิตร)			ร้อยละความไว (95%CI)	
< 500	2	0	0	50 (50-95)
501 – 5,000	6	33 (6.8-69)	0	0
5,001 – 50,000	20	60 (49-73)	60 (48-72)	45 (34-58)
50,000 – 200,000	6	83 (83-83)	50 (50-50)	50 (50-50)
Pv				
< 500	1	100 (6.0-100)	0	100 (9.3-100)
501 – 5,000	8	50 (24-70)	25 (5.3-25)	62 (34-62)
5,001 – 50,000	8	62 (30-89)	50 (20-81)	62 (29-89)
50,000 – 200,000	-	-	-	-

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผล

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 ซึ่งเป็นเครื่อง CBC แบบหนึ่งที่ใช้เป็นงานประจำในการตรวจทางโลหิตวิทยาในโรงพยาบาล แต่เครื่องนี้ยังมีคุณสมบัติตรวจหาเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์ของเชื้อมาลาเรียอยู่ ตามที่ได้มีรายงานการวิจัยออกมามากมายในหลายประเทศ สำหรับการศึกษาวิจัยนี้ได้มีการทดลองนำเอาโลหิตมาแยกเอาเฉพาะส่วนที่มีเม็ดโลหิตขาวอยู่ในปริมาณมาก มาทดสอบอ่านผลด้วยเครื่องด้วย นอกเหนือจากการอ่านผลปกติจากโลหิต (Whole blood) ว่าจะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียสำหรับประเทศไทยได้หรือไม่ และแบบใดจะทำให้เครื่องสามารถตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียได้ถูกต้องแม่นยำขึ้น

ผลการศึกษาพบว่า การใช้เครื่องดังกล่าวตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิตมีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 90 ซึ่งสอดคล้องกับหลายๆงานวิจัย แต่มีค่าความไว เพียงร้อยละ 57 ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาของ Mendelow และคณะ (1999) ที่ใช้เครื่อง CELL-DYN® 3500 ตรวจโลหิตผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียในประเทศอาฟริกาใต้ โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 72 ความจำเพาะร้อยละ 96 และต่ำกว่าการศึกษาของ Hanscheid และคณะ (2001) ที่ทำการศึกษาในประเทศโปรตุเกส โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 95 ความจำเพาะร้อยละ 88 แต่มีความไวสูงกว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Grobusch และคณะ (2003) ที่ใช้เครื่อง CELL-DYN® 3000 ตรวจโลหิตผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียในประเทศเยอรมัน โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 49 ความจำเพาะร้อยละ 96 Padial และคณะ (2005) ทำการศึกษาที่ประเทศสเปน โดยใช้เครื่อง CELL-DYN® 4000 ตรวจโลหิตผู้ป่วยผิวดำชาวกานาที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรีย โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 72 ความจำเพาะร้อยละ 98 ซึ่งมีความไว ความจำเพาะสูงกว่างานวิจัยนี้

แสดงให้เห็นว่าสำหรับประเทศไทยยังไม่สามารถนำเครื่อง CBC นี้มาใช้ในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิต Whole blood แทนการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ เนื่องจากมีความไวต่ำ อันอาจเนื่องมาปัจจัยด้านพันธุกรรม ระบบภูมิคุ้มกัน พยาธิสภาพและความรุนแรงของโรค ตลอดจน clearance kinetic ของเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์เชื้อมาลาเรียที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มบุคคล (Mendelow, 1999; Rathod, 2009) แต่อาจจะนำมาใช้ช่วยในการคัดกรองเบื้องต้น ระหว่างที่ใช้เครื่องสำหรับตรวจด้านโลหิตวิทยาเป็นงานประจำได้ เนื่องจากมีความจำเพาะสูง จึงน่าจะเหมาะสมในการตรวจผู้ที่ไม่ได้สงสัยหรือไม่มีอาการแสดงหรือคาดว่าป่วยเป็นมาลาเรีย (unsuspected cases of malaria) (Grobusch, 2003; Suh, 2003) เพื่อเป็นการเตือนให้ทราบ

ว่าหากเครื่องตรวจพบเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นต์เชื้อมาลาเรียอยู่ ควรจะต้องมีการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้ง

ในกรณีใช้เครื่องดังกล่าวตรวจหาเชื้อมาลาเรียจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC พบว่า ทั้งสองแบบมีค่าความไวลดลงเมื่อเทียบกับการตรวจจากโลหิต Whole blood โดยการตรวจหาเชื้อจาก WBC มีความไว ร้อยละ 47 ซึ่งสูงกว่าการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma ที่มีความไว ร้อยละ 41 ซึ่งผลที่ได้ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ คือ ถ้าตัวอย่างทดสอบมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวมากขึ้น โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อมาลาเรียน่าจะมากขึ้นด้วย ความไวของเครื่องก็น่าจะเพิ่มขึ้นได้ ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Grobusch และคณะ (2003) ที่นำโลหิตผู้ป่วยมาลาเรียมาตรวจด้วยเครื่อง MoFlo cell sorter (Cytomation, Fort Collins, CA) ซึ่งเป็นเครื่อง flow cytometry แบบหนึ่ง ที่ถูกปรับให้ตรวจวัดการติดเชื้อมาลาเรียได้เหมือนเครื่องCell-Dyn 3000 โดยสามารถตรวจจับเม็ดโลหิตขาวได้ 150,000-500,000 เซลล์ ในขณะที่ Cell-Dyn 3000 ตรวจจับเม็ดโลหิตขาวได้ประมาณ 5,000-10,000 เซลล์ ซึ่ง Grobusch และคณะ พบว่า MoFlo cell sorter มีความไวในการตรวจหามาลาเรีย ถึงร้อยละ 90.6 ขณะที่ Cell-Dyn 3000 มีความไวเพียง ร้อยละ 49 สำหรับในการศึกษาวิจัยนี้ ยังไม่สามารถอธิบายได้แน่ชัดว่าเหตุใดการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC จึงมีความไวต่ำกว่าการตรวจจากโลหิต Whole blood ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าอาจจะเนื่องมาจากมีการสูญเสียเม็ดโลหิตขาวไปบางส่วนในขั้นตอนของการแยกออกจากโลหิต ทำให้ปริมาณที่นำมาตรวจวัดน้อยเกินไป หรืออาจเนื่องจากในโลหิตผู้ป่วยมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นเชื้อมาลาเรียอยู่ มีน้อยตามธรรมชาติอยู่แล้ว แม้สกัดเอาเฉพาะเม็ดโลหิตขาวมาตรวจ แต่ปริมาณเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเม้นเชื้อมาลาเรียอยู่ก็ยังน้อยไม่เพียงพอที่จะตรวจพบได้

ในขณะที่การมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวในตัวอย่างทดสอบมากขึ้น ไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อค่าความจำเพาะ โดยทั้งสองแบบยังคงมีความจำเพาะสูงถึง ร้อยละ 92 เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจหาเชื้อจากโลหิต กล่าวคือ ในคนที่ไม่เป็นมาลาเรีย เครื่องนี้จะให้ผลว่าเป็นมาลาเรีย (เกิดผลบวกเท็จว่าพบเชื้อ) ได้ประมาณร้อยละ 10 ดังนั้นถ้าจะใช้เครื่องนี้ในการคัดกรองผู้ป่วยระหว่างการตรวจ CBC เป็นงานประจำ ควรเลือกตรวจจากโลหิต เพราะช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการแยกเฉพาะ WBC ออกจากโลหิต

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของเครื่อง ตามชนิดเชื้อ พบว่ามีความไวในการตรวจหาเชื้อ Pv ได้ดีกว่าเชื้อ Pf ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ Pv สามารถพบในกระแสโลหิตได้ทุกระยะ ทั้งระยะแบ่งตัว และระยะมีเพศ ซึ่งแต่ละระยะเชื้อมีการสร้างพิกเม้นต์แล้ว ทำให้มีปริมาณพิกเม้นต์ให้เม็ดโลหิตขาวสามารถจับกินได้มากด้วย

สำหรับผลของความหนาแน่นเชื้อต่อความไวของเครื่องในการตรวจหาเชื้อ Pf จากโลหิต Whole blood พบว่า ความไวจะเพิ่มขึ้นถ้าความหนาแน่นของเชื้อมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Padial และ

คณะ (2005) เพียงแต่มีค่าความไวแตกต่างกันเล็กน้อย เช่น ที่ความหนาแน่น 5,000-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร มีความไวร้อยละ 67 ในขณะที่ในการศึกษานี้มีความไวร้อยละ 60

ส่วนการตรวจหาเชื้อ Pf จาก Leukocytes-rich plasma และ WBC ที่มีค่าความไวไม่ค่อยแตกต่างกัน แม้ว่าความหนาแน่นของเชื้อเพิ่มขึ้น และผลของความหนาแน่นเชื้อต่อความไวของเครื่องในการตรวจหาเชื้อ Pv จากโลหิต Leukocytes-rich plasma และ WBC ยังมีข้อสงสัย ไม่สามารถอธิบายหาข้อสรุปชี้ชัดได้ จะต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ สรุปว่าเครื่องมือนี้ ซึ่งปกติใช้ตรวจ CBC เป็นงานประจำ ไม่สามารถนำมาใช้ตรวจผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียสำหรับประเทศไทยแทนการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ ถ้าจะนำมาใช้จริงในอนาคตอาจต้องมีการปรับปรุง software ของเครื่องให้เหมาะสมกับการตรวจมาลาเรีย เช่น ให้สามารถนำ WBC เข้าไปในเครื่องเพื่อตรวจวิเคราะห์ ในปริมาณที่สูงกว่าระบบปกติ คือ สูงกว่า 10,000 เซล เพื่อให้มีความไวเพิ่มขึ้นจากงานวิจัยนี้ หรือออกแบบให้สามารถตรวจหาเม็ดโลหิตแดงที่มีเชื้อมาลาเรียอยู่ ซึ่งจะเป็นการตรวจโดยทางตรงมากกว่าการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว

เอกสารอ้างอิง

1. กองมาลาเรีย กรมควบคุมโรคติดต่อ. *เชื้อมาลาเรียและการชันสูตร พ.ศ. 2538*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 2543.
2. กองมาลาเรีย กรมควบคุมโรคติดต่อ. *คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย พ.ศ.* 2545. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 2546. หน้า 1-10.
3. นิคม ดีพอ. การวิเคราะห์พฤติกรรมและต้นทุนที่เกิดกับผู้ป่วยในการรักษาไข้มาลาเรียก่อนการเข้ารับบริการของกองมาลาเรีย วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเศรษฐศาสตร์. บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.
4. พรรณี พิเดช. เทคนิคการปรับปรุงและพัฒนาห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 1 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อักษรสมัย, 2527.
5. ไพเราะ ยมกกุล. วิวัฒนาการงานชันสูตรโรคมาลาเรีย. ใน : สมทัศน์ มะลิกุล, บรรณาธิการ. *มาลาเรียวิทยา 2542*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 2543หน้า 77-87.
6. สมคิด แก้วสนธิ และภิรมย์ กมลรัตนกุล. การวิเคราะห์และประเมินผลบริการสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 2 คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.
7. Abdalla SH. Leukocyte in Malaria. In: Abdalla SH and Pasvol G, editors. *Malaria: A Hematological Perspective*. London: Imperial College Press, 2004: 129-168.
8. Day NPJ, Diep PT, Ly PT Sinh DX, Loc PP, Chuong LV, Chau TTH, Mai NTH, Bethell DB, Phu NH, Hien TT, White NJ. Clearance kinetics of parasite- and pigment-containing leukocytes in severe malaria. *Blood*. 1996; 88: 4694-4700.
9. Dromignya J, Jamboub R, Scottc CS and Perrier-Gros-Claudea J. Performance evaluation of automated depolarization analysis for detecting clinically unsuspected malaria in endemic countries. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg*. 2005; 99(6) June: 430-439.
10. Ferrante A and Thong YH. Optimal conditions for simultaneous purification of mononuclear and polymorphonuclear leucocytes from human peripheral blood by the Ficoll-Hypaque method. *J.Immunol.Methods*. 1980; 36: 109.
11. Grobusch MP, Hanscheid T, Kramer B, Neukammer J, May J, Seybold J, Kun J and Suttorp N. Sensitivity of hemozoin detection by automated flow cytometry in non- and semi-immune

malaria patients. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)*. 2003; 55B: 46-51.

12. Hanscheid T, Melo-Cristino J and Pinto BG. Automated detection of malaria pigment in white blood cells or the diagnosis of malaria in Portugal. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 2001; 64(5, 6): 290-292.
13. Ingelfinger JA, Mosteller F, Thibodeau LA and Ware JH. *Biostatistics in Clinical Medicine*. 2nd ed. New York: Macmillan. 1987.
14. Iqbal J, Khalid N and Hira PR. Comparison of two commercial assays with expert microscopy for confirmation of symptomatically diagnosed malaria. *J. Clin. Microbiol*.2002; Dec: 4675-4678.
15. Josephine FP and Nissapatorn V. Malaria: The value of the automated depolarization analysis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005; 36(suppl 4): 68-72.
16. Lyke KE, Diallo DA, Dicko A, Kone A, Coulibaly D, Guindo A, Cissoko Y, Sangare L, Coulibaly S, Dakouo B, Taylor TE, Doumbo OK and Plowe CV. Association of intraleukocyte *Plasmodium falciparum* malaria pigment with disease severity, clinical manifestration, and prognosis in severe malaria. *Am.J.Trop.Med.Hyg*. 2003;69(3) : 253-259.
17. Mendelow BV, Lyons C, Nhlangothi P, Tana M, Munster M, Wypkema E, Liebowitz L, Marshall L, Scott S and Coetzer TL. Automated malaria detection by depolarization of laser light. *British Journal of Haematology*. 1999; 104: 499-503.
18. Monbrison F, Angei C, Staal A, Kaiser K and Picot S. Simultaneous identification of the four human *Plasmodium* species and quantification of *Plasmodium* DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg*. 2003; 97: 387-390.
19. Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin.Microbiol.Rev*. 2002; Jan 15(1):66-78.
20. Padial MM, Subirats M, Puente S, Lago M, Crespo S, Palacios G and Baquero M. Sensitivity of laser light depolarization analysis for detection of malaria in blood samples. *J.Med.Microbiol*. 2005; 54: 449-452.
21. Palmer CJ, Bonilla JA, Bruckner DA, Barnett ED, Miller NS, Haseeb MA, Masci JR and Stauffer WM. Multicenter study to evaluate the OptiMAL test for rapid diagnosis of malaria in U.S Hospital. *J. Clin. Microbiol*. 2003; Nov: 5178-5182.

22. Rathod DA, Patel V, Kaur AA, Patel VD and Patel DD. Diagnosis of acute malaria by laser based cell counter with comparison of conventional and recent techniques in Indian scenario. *Indian J Patho.Micro*. 2009; 52(2): 185-188.
23. Suh IB, Kim HJ, Kim JY, Lee SW, An SSA, Kim WJ and Lim CS. Evaluation of the abbott Cell-Dyn 4000 hematology analyzer for detection and therapeutic monitoring of Plasmodium vivax in the Republic of Korea. *Trop.Med.Inter.Health*. 2003; 8(12): 1074-1081.
24. Wever PC, Henskens YMC, Kager PA, Dankert J and Gool T. Detection of imported malaria with the Cell-Dyn 4000 Hematology Analyzer. *J.Clin.Microbiol*. 2002; Dec: 4729-4731.

ประวัติผู้วิจัย

1.นางสาว วรรณา ศรีสัจจารักษ์ (หัวหน้าโครงการวิจัย)

(Miss Wanna Srisatjarak)

ตำแหน่ง นักวิชาการสาธารณสุขชำนาญการ

คุณวุฒิ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ทางจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ทำงาน ศูนย์อบรมโรคติดต่อนำโดยแมลง

6 ถ.พหลโยธิจ ต.ธารเกษม อ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี 18120

โทรศัพท์ 0 -3626 -142 โทรสาร 0 – 3626 - 7586

E-mail: sk_wanna@yahoo.com , sk.wanna@gmail.com

สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

เป็นผู้สอนวิชาเลือดวิทยามาลาเรีย และผู้ช่วยสอนวิชาการชันสูตรวินิจฉัยชนิดเชื้อมาลาเรีย ได้ร่วมทำงานวิจัยทางด้านมาลาเรีย ตั้งแต่ปี พ.ศ.2546 จนถึงปัจจุบัน

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

- การพัฒนารูปแบบของการควบคุมไข้มาลาเรียและยุงพาหะด้วยวิธีชุบมุ้งด้วยสารเคมีโดยชุมชนมีส่วนร่วม ในอำเภออุ้มผาง จังหวัดตาก ในปี 2546 (ผู้ร่วมวิจัย)
- ศึกษาผู้ติดเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ที่ไม่แสดงอาการในจังหวัดตาก ในปี 2548 (ผู้ร่วมวิจัย)
- การศึกษาประสิทธิภาพของชุดตรวจสำเร็จรูป DRG Malaria Ag Combo ในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในผู้ป่วยที่มารับบริการในมาลาเรียคลินิก ในปี 2550 (หัวหน้าโครงการวิจัย)
- ประเมินประสิทธิภาพการรักษาของยามาลาเรียด้วยเทคนิค Real-Time PCR ในปี 2550 (ผู้ร่วมวิจัย)
- ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ฮีโมซอยเป็นตัววัดผลในการทดสอบความไวของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิปารัมต่อยาในหลอดทดลอง ในปี 2551-2552 (ผู้ร่วมวิจัย)

2.นางสาวรุจิรา เลิศพร้อม (ผู้ร่วมวิจัย)

ตำแหน่ง นักวิชาการสาธารณสุขชำนาญการ

คุณวุฒิ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สถานที่ทำงาน ศูนย์อบรมโรคติดต่อนำโดยแมลง

6 ถ.พหลโยธิน ต.ธารเกษม อ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี 18120

โทรศัพท์ 0 – 3626 -142 โทรสาร 0 – 3626 – 7586

สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

เป็นผู้สอนวิชาปรสิตวิทยามาลาเรีย และผู้ช่วยสอนวิชาการชันสูตรเชื้อมาลาเรีย ได้ร่วมทำงานวิจัยทางด้านมาลาเรีย ตั้งแต่ปี พ.ศ.2546 จนถึงปัจจุบัน

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

- การพัฒนารูปแบบของการควบคุมไข้มาลาเรียและยุงพาหะด้วยวิธีชุบมุ้งด้วยสารเคมีโดยชุมชนมีส่วนร่วม ในอำเภออุ้มผาง จังหวัดตาก ในปี 2546 (ผู้ร่วมวิจัย)

- ศึกษาผู้ติดเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ที่ไม่แสดงอาการในจังหวัดตาก ในปี 2548 (หัวหน้าโครงการวิจัย)

- การศึกษาประสิทธิภาพของชุดตรวจสำเร็จรูป DRG Malaria Ag Combo ในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในผู้ป่วยที่มารับบริการในมาลาเรียคลินิก ในปี 2550 (ผู้ร่วมวิจัย)

- ประเมินประสิทธิภาพการรักษาของยามาลาเรียด้วยเทคนิค Real-Time PCR ในปี 2550 (หัวหน้าโครงการวิจัย)

- ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ฮีโมซอยเป็นตัววัดผลในการทดสอบความไวของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิปารัมต่อยาในหลอดทดลอง ในปี 2551-2552 (หัวหน้าโครงการวิจัย)

3. นางสาวกัลยา ตุ่นจันทร์ (ผู้ร่วมวิจัย)

ตำแหน่ง เจ้าพนักงานสาธารณสุขชำนาญงาน

คุณวุฒิ สาธารณสุขศาสตรบัณฑิต

สถานที่ทำงาน ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลง ที่ 9.3 แม่สอด

631/7 ถ.อินทรคีรี อ.แม่สอด จ.ตาก 63110

โทรศัพท์ 0 – 5553-2153 , 0-5553-3818 โทรสาร 0 –5553–2153

สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

งานระบาดวิทยา และได้ร่วมทำงานวิจัยทางด้านมาลาเรีย ตั้งแต่ปี พ.ศ.2550 จนถึงปัจจุบัน

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

- ประเมินประสิทธิภาพการรักษาของยามาลาเรียด้วยเทคนิค Real-Time PCR ในปี 2550 (ผู้ร่วมวิจัย)

- การศึกษาอัตราการรับประทานยาผสมอาร์ติซูเนต-เมฟโฟลควินในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียชนิดฟัลซิพารั่มที่มีอาการไม่รุนแรง ในปี 2552 (ผู้ร่วมวิจัย)

4. นางกวิณลดา อารีวงษ์ (ผู้ร่วมวิจัย)

ตำแหน่ง ผู้ปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์การแพทย์

คุณวุฒิ ป.พนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

สถานที่ทำงาน หน่วยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

270 อาคาร 1 ชั้น 3 ถ.พระรามหก แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กทม. 10400

โทรศัพท์ 0 – 2201-1332 , 0-2201-1342

สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

งานตรวจวิเคราะห์ด้านโลหิตวิทยา เช่น Complete blood count, Coagologram

5. นางเอธยา อติญาณพิพัฒน์ (ผู้ร่วมวิจัย)

ตำแหน่ง ผู้ปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์การแพทย์

คุณวุฒิ ป.พนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

สถานที่ทำงาน หน่วยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

270 อาคาร 1 ชั้น 3 ถ.พระรามหก แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กทม. 10400

โทรศัพท์ 0 – 2201-1332 , 0-2201-1342

สาขาวิชาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

งานตรวจวิเคราะห์ด้านโลหิตวิทยา เช่น Complete blood count, Coagologram

****