

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

ตัวอย่างซีรัมทดสอบทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทศูนย์แล็บธนบุรี ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี และ บริษัท กรุงเทพ อาร์ไอเอ แล็บ จำกัด จำนวน 200 ตัวอย่าง ประกอบด้วยซีรัมของผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิส จำนวน 35 ตัวอย่าง ซีรัมผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิส จำนวน 30 ตัวอย่าง ซีรัมของผู้ป่วยโรคสครับไทฟัส จำนวน 28 ตัวอย่าง ซีรัมผู้ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ระบาด จำนวน 21 ตัวอย่าง ซีรัมผู้ป่วยโรคอื่นๆ จำนวน 72 ตัวอย่างและซีรัมผู้ที่มีสุขภาพดีไม่มีโรค จำนวน 14 ตัวอย่าง แสดงรายละเอียด ดังตารางที่ 5

ตาราง 5 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

ประเภทของกลุ่มตัวอย่างทดสอบ	ประเภทซีรัม	จำนวน (ตัวอย่าง)
Case (93)	โรคเลปโตสไปโรซิส	35
	โรคเมลิออยโดซิส	30
	โรคสครับไทฟัส	28
Control (107)	ผู้ป่วยโรคอื่นๆ	21
	ผู้อยู่ในพื้นที่การระบาด	72
	ผู้ที่มีสุขภาพดี	14
รวม		200

เมื่อนำตัวอย่างทั้งหมดมาทดสอบด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจนในการทดสอบเดี่ยว โดยค่าไตเตอร์ที่ใช้ในการตัดสินผลบวกของแต่ละโรคเป็นดังนี้

โรคเลปโตสไปโรซิส titer  $\geq$  100

โรคสครับไทฟัส titer  $\geq$  400

โรคเมลิออยโดซิส titer  $\geq$  200

ผลการทดสอบแสดงดังตาราง 6

ตาราง 6 ผลการทดสอบด้วยหลักการ IgM-IFA จากตัวอย่างซีรัมในกลุ่ม case และ control จำนวน 200 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง ทดสอบ	ซีรัม	ผลการทดสอบ				รวม
		Positive			Negative	
		Leptospirosis	Melioidosis	Scrub typhus		
Case	โรคเลปโตสไปโรซิส	35	-	-	-	35
	โรคเมลิออยโดซิส	-	17	1*	12	30
	โรคสครับไทฟัส	-	-	28	-	28
Control	ผู้อยู่ในพื้นที่การระบาด	-	1**	-	71	72
	ผู้ป่วยโรคอื่นๆ	-	-	-	21	21
	ผู้มีสุขภาพดี	-	-	-	14	14
รวม		35	18	29	118	200

\*ตัวอย่างซีรัม Melioidosis ที่ให้ผลบวกกับ Scrub typhus ที่ระดับไตเตอร์ 1:800

\*\*ตัวอย่างซีรัมของผู้ที่อยู่ในพื้นที่การระบาดที่ให้ผลบวกกับ Melioidosis ที่ระดับไตเตอร์ 1:400

เมื่อนำวิธีดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับผลของตัวอย่างทดสอบ (case) และตัวอย่างควบคุม (control) แสดงผล ดังตารางที่ 7

ตาราง 7 ค่าที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี IgM-IFA ชนิดแยก 3 แอนติเจนเปรียบเทียบกับกลุ่ม case และ control

		Case	Control	Total
IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน ในการทดสอบ เดี่ยว	Positive	80	1	81
	Negative	13	106	119
Total		93	107	200

ค่าความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value), ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value), ประสิทธิภาพของการทดสอบ (efficiency), P-value และความสอดคล้องของวิธีดังกล่าวเมื่อทดสอบด้วยสถิติ Kappa (K)

Sensitivity = 86.0%

Specificity = 99.1%

Positive Predictive Value (PPV) = 98.8%

Negative Predictive Value (NPV) = 88.3%

Efficiency = 93.0%

K = 0.85

P-value = 0.036

เมื่อนำเฉพาะตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิสและตัวอย่างควบคุมมาเปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน แสดงผลดังตาราง 8

**ตาราง 8** ผลการทดสอบตัวอย่างด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจนเปรียบเทียบกับกลุ่ม case และ control (เมื่อศึกษาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยเลปโตสไปโรซิส)

		Case	Control	Total
IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน ในการทดสอบ เดี่ยว	Positive	35	0	35
	Negative	0	107	107
Total		35	107	142

ค่าความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value), ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value), ประสิทธิภาพของการทดสอบ (efficiency), P-value และค่าความสอดคล้องของวิธีดังกล่าวเมื่อทดสอบด้วยสถิติ Kappa (K)

Sensitivity = 100%

Specificity = 100%

Positive Predictive Value (PPV) = 100%

Negative Predictive Value (NPV) = 100%

Efficiency = 100%

K = 1.0

P-value = 0.001

เมื่อนำเฉพาะตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิสและตัวอย่างควบคุมมาเปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน แสดงผลดังตาราง 9

**ตาราง 9** ผลการทดสอบตัวอย่างด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจนเปรียบเทียบกับกลุ่ม case และ control (เมื่อศึกษาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยเมลิออยโดซิส)

		Case	Control	Total
IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน ในการทดสอบ เดี่ยว	Positive	17	1	18
	Negative	13	106	119
Total		30	107	137

ค่าความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value), ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value), ประสิทธิภาพของการทดสอบ (efficiency), P-value, และค่าความสอดคล้องของวิธีดังกล่าว เมื่อทดสอบด้วยสถิติ Kappa (K)

Sensitivity = 56.7 %

Specificity = 99.1%

Positive Predictive Value (PPV) = 94.4%

Negative Predictive Value (NPV) = 89.1%

Efficiency = 89.8%

K = 0.65

P-value = 0.084

เมื่อนำเฉพาะตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยโรคสครับไทฟัสและตัวอย่างควบคุมมาเปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน แสดงผลดังตาราง 10

**ตาราง 10** ผลการทดสอบตัวอย่างด้วยวิธี IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจนเปรียบเทียบกับกลุ่ม case และ control (เมื่อศึกษาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยสครับไทฟัส)

		Case	Control	Total
IgM-IFA แบบแยก 3 แอนติเจน ในการทดสอบ เดี่ยว	Positive	28	0	28
	Negative	0	107	107
Total		28	107	135

ค่าความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value), ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value), ประสิทธิภาพของการทดสอบ (efficiency), P-value และความสอดคล้องของวิธีดังกล่าวเมื่อทดสอบด้วยสถิติ Kappa (**K**)

Sensitivity = 100%

Specificity = 100%

Positive Predictive Value (PPV) = 100%

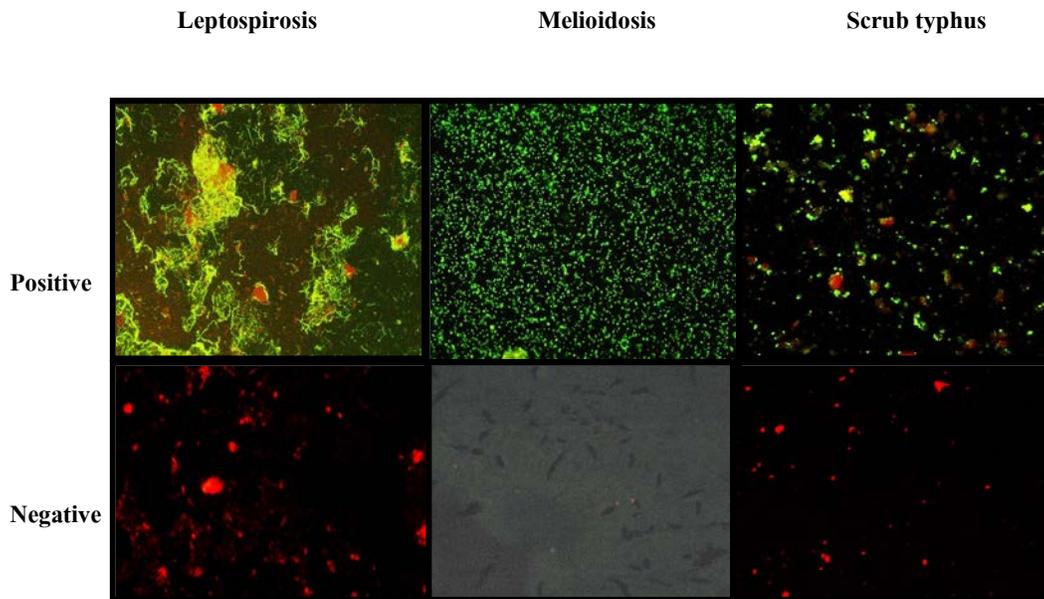
Negative Predictive Value (NPV) = 100%

Efficiency = 100%

**K** = 1.0

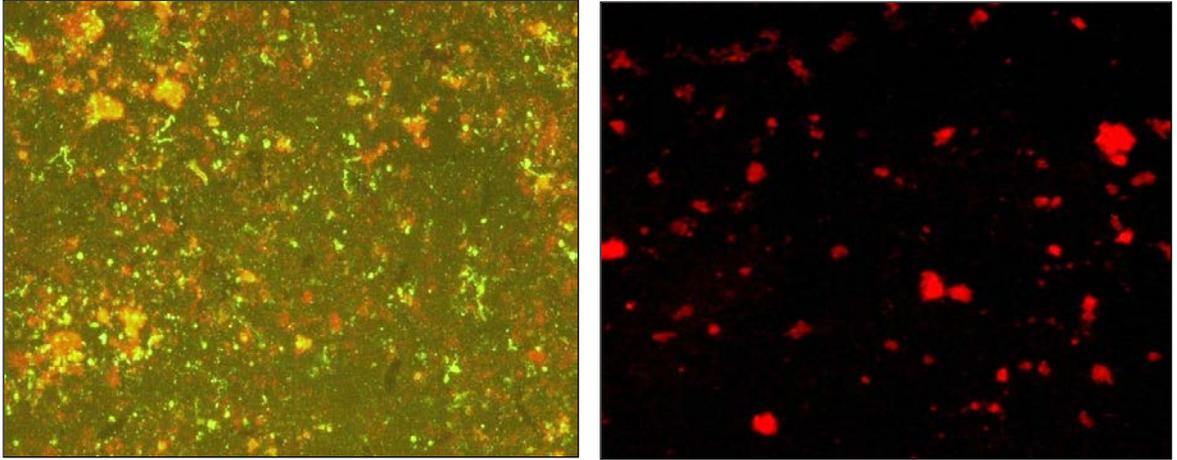
P-value = 0.001

ดังนั้น ผลการทดสอบโดยใช้แอนติเจนทั้งสามชนิด โดยใช้หลักการ IgM-IFA จึงให้ผลบวกแสดงรูปแบบการเรืองแสงเฉพาะของแอนติเจนของแต่ละเชื้ออย่างชัดเจน ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างผลลบให้ผลลบต่อการเรืองแสงเช่นเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผลการทดสอบโดยหลักการ IgM – IFA จากตัวอย่างจากซีรัมผู้ป่วยด้วยโรคเลปโตสไปโรซิส เมลิออยโดซิส และสครับไทฟัส เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างผลลบ

นอกจากนี้จากการศึกษาเพิ่มเติมของคณะผู้วิจัย ในขั้นตอนการเตรียมแอนติเจนที่เคลือบบนสไลด์ให้สะดวกขึ้น โดยการนำเอาแอนติเจนของเชื้อทั้ง 3 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยแอนติเจนของเชื้อ *Leptospira interrogans*, *Burkholderia pseudomallei* และ *Orientia tsutsugamushi* มาผสมรวมกันในส่วนที่เท่าๆ กันแล้วนำไปเคลือบบนสไลด์ หลังจากนั้นจึงนำไปทดสอบกับซีรัมของผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิส โรคเมลิออยโดซิสและโรคสครับไทฟัส พบว่าวิธีดังกล่าวแม้ว่าจะสะดวกในขั้นตอนการเตรียมแผ่นสไลด์ แต่ไม่สะดวกในการวินิจฉัยโรค เนื่องจากการผสมรวมกันของแอนติเจนทั้งสามชนิด ทำให้แอนติเจนเกิดการทับซ้อนกัน เมื่อนำไปทดสอบทำให้ยากในการแยกลักษณะเฉพาะของเชื้อแต่ละชนิด แสดงดังรูปที่ 4



ก.

ข.

รูปที่ 4 ผลการทดสอบเมื่อใช้แอนติเจนสามชนิดผสมรวมกันในครั้งเดียวแล้วทดสอบกับกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วย (รูป ก) และ กลุ่มตัวอย่างควบคุม (รูป ข)

นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อทดสอบปัญหาเรื่องของผู้ป่วย mix infection ในกรณีที่มีการติดเชื้อร่วมกันในกลุ่มโรคทั้งสาม เนื่องจากการศึกษานี้ไม่มีตัวอย่างผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคทั้งสามชนิดร่วมกัน คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการทดสอบโดยนำซีรัมของผู้ป่วย ทั้ง 3 โรค ซึ่งประกอบด้วยผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิส ผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิสและผู้ป่วยโรคสครับไทฟัสมาผสมรวมกันในอัตราส่วนที่เท่า ๆ กัน จากนั้นจึงนำไปทดสอบกับสไลด์ที่เคลือบแบบแยก 3 แอนติเจน ผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกลักษณะเฉพาะของแต่ละโรคออกได้อย่างชัดเจน และสะดวกในการวินิจฉัยโรคทั้งสาม