

## บทที่ 5

### อภิปรายผลการวิจัย

#### อภิปรายผล

วัณโรคเยื่อหุ้มปอด (Tuberculous pleuritis) เป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญของผู้ป่วยที่มีน้ำในเยื่อหุ้มปอดชนิด exudative lymphocytic โดยกลไกการเกิดโรค เชื่อว่าเกิดจากการแตกของ sub pleural caseous foci ภายหลังจากติดเชื้อวัณโรคประมาณ 6 ถึง 12 สัปดาห์<sup>(14)</sup> ก่อให้เกิดปฏิกิริยาชนิดภูมิไวเกิน (delayed hypersensitivity reaction) โดยการกระตุ้นของแอนติเจนซึ่งเป็นโปรตีนจากเชื้อ bacilli ส่งผลให้มีการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ซึ่งได้หลั่ง lymphokines มากระตุ้นแมคโครเฟจ (macrophages) เพื่อร่วมต่อต้านเชื้อวัณโรค โดยก่อตัวเป็น granulomas<sup>(14)</sup> ในขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดการผ่านของซีรัมในหลอดเลือดบริเวณเยื่อหุ้มปอดเข้าสู่ในช่องเยื่อหุ้มปอด (permeability of pleural vessels)<sup>(14)</sup> เกิดเป็นการอักเสบชนิด granulomatous ซึ่งสามารถตรวจพบได้จากการตรวจทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อหุ้มปอด

แม้ว่าน้ำเยื่อหุ้มปอดจะหายเองได้ภายในไม่กี่สัปดาห์แต่ประมาณ 1 ใน 3 ของผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษามักกลับเป็นซ้ำและเป็นวัณโรคชนิดรุนแรง

การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในปัจจุบันนอกจากอาศัยอาการและอาการแสดงทางคลินิก ร่วมกับการทดลองใช้ยาต้านวัณโรคแล้ว ยังไม่มีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยโดยตรง เนื่องจากยังไม่มีวิธีใดที่มีความไวและความจำเพาะร้อยละ 100 จากหลายการศึกษาที่ผ่านมาทั้งในและต่างประเทศพบว่า การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยการย้อม AFB การตรวจเนื้อเยื่อหุ้มปอดทางพยาธิวิทยา การเพาะเชื้อจากน้ำเยื่อหุ้มปอด และเนื้อเยื่อหุ้มปอด ให้ความไวเป็นร้อยละ 6-23, 26-90, 13-70 และ 26-67 ตามลำดับ<sup>(5-14)</sup> แต่ได้ผลค่อนข้างช้า คือไม่ต่ำกว่า 1 สัปดาห์ (ยกเว้นการย้อม AFB)

ในช่วงระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา ได้มีการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดขึ้นใหม่หลายวิธี เช่น วิธีการทางชีวโมเลกุล (molecular technique) เช่นวิธี polymerase chain reaction (PCR) การวัดระดับ adenosine deaminase (ADA) รวมทั้ง interferon gamma ในน้ำเยื่อหุ้มปอด เป็นต้น เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคได้รวดเร็วมากขึ้น ซึ่งแต่ละวิธีก็มีความไวต่างกัน คือ วิธี PCR ของน้ำเยื่อหุ้มปอด และเนื้อเยื่อหุ้มปอด ร้อยละ 2.3-70<sup>(31,32)</sup> และ 52-100 ตามลำดับ<sup>(33-35)</sup>

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาถึงความไว ความจำเพาะของวิธีการทางชีวโมเลกุล ชนิด BDProbeTecET system ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดเมื่อเทียบกับการวินิจฉัยวิธีเดิม คือ การย้อม AFB การเพาะเชื้อของน้ำเยื่อหุ้มปอด การตรวจทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อหุ้มปอด

บี ดี โพรบ เทค อี ที เป็นการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ โดยอาศัยหลักการทางชีวโมเลกุล โดยการขยายกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ของเชื้อวัณโรค ด้วยเทคนิค strand displacement amplification (SDA) <sup>(26-28)</sup> และ IS6110 ซึ่งมีความจำเพาะสูงมากต่อ *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTb cpx) สามารถใช้ตรวจทั้งสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจและจากโคโลนีที่พบบนจานเพาะเชื้อทั้งชนิดเหลว (liquid media) และชนิดแข็ง (solid media)

จากหลายการศึกษามีการใช้ บี ดี โพรบ เทค อี ที ในการวินิจฉัยสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเช่น เสมหะ น้ำล้างหลอดลม (bronchoalveolar lavage) เป็นต้น ซึ่งให้ความไวและความจำเพาะร้อยละ 88.8-92.3 และ 96.2-98.6 ตามลำดับ <sup>(26-28, 30)</sup> และเมื่อเทียบวิธีดังกล่าวกับการตรวจทางชีวโมเลกุลอื่น เช่น Amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test (AMTD) ของบริษัท ชานดิเอโก แคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา Genprobe และ Amplicor Mycobacterium tuberculosis Test ของบริษัท Roche Diagnostic Systems อินเดีย นาโปลิส อินเดีย นา สหรัฐอเมริกา ที่เป็นที่ยอมรับในสหรัฐอเมริกา พบว่าได้ผลใกล้เคียงกัน <sup>(15-17, 24, 25, 31)</sup>

และเนื่องจากยังไม่เคยมีการทำวิจัยเรื่องการนำวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที มาใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมาก่อน ในขณะที่เดียวกันการวินิจฉัยวัณโรคปอดด้วยวิธีดั้งเดิมมักได้ผลช้า และความไวของแต่ละการทดสอบยังค่อนข้างต่ำ การศึกษาวิจัยนี้อาจจะช่วยเป็นแนวทางหรือทางเลือกในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในอนาคต

ผลการย้อม AFB ของน้ำเยื่อหุ้มปอดจากการวิจัยนี้ให้ความไวร้อยละ 14.6 ซึ่งสูงกว่า Valdes และคณะ <sup>(14)</sup> เคยรายงานไว้ แต่ต่ำกว่า Babu และคณะ ซึ่งรายงานไว้ว่าสูงถึงร้อยละ 20 <sup>(32)</sup> และถ้าดูจากการศึกษาทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 6-23 การย้อม AFB ในการวิจัยนี้จึงน่าจะอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

การเพาะเชื้อวัณโรคจากน้ำเยื่อหุ้มปอดจากการศึกษานี้ให้ความไวร้อยละ 17.1 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาวิจัยโดย Hasaneen และคณะ <sup>(35)</sup> ซึ่งให้ความไวและความจำเพาะร้อยละ 15.4 และร้อยละ 92.3 ตามลำดับ และจากการศึกษาทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 13-70

การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาและย้อม AFB ให้ผลบวกจากการศึกษานี้ให้ความไวโดยรวม (over all sensitivity) เพียงร้อยละ 12.20 เท่านั้น ซึ่งน้อยกว่าหลายการศึกษาก่อนหน้านี้

Valdes และคณะ (ร้อยละ 79.8)<sup>(14)</sup> Hasaneen และคณะ<sup>(35)</sup> (ร้อยละ 53.8) Mitorai และคณะ<sup>(31)</sup> (ร้อยละ 30.6)

การตรวจน้ำเยื่อหุ้มปอดด้วยวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที ในการศึกษาทำให้การวินิจฉัยโรคได้ โดยมีค่าความไวโดยรวม (over all sensitivity) ร้อยละ 53.7 ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ในการตรวจน้ำเยื่อหุ้มปอดด้วยวิธี amplicor mycobacterium PCR เทียบกับ conventional method (การย้อม AFB และการเพาะเชื้อน้ำเยื่อหุ้มปอด) โดย Mitaria และคณะ<sup>(31)</sup> ซึ่งให้ความไวเพียงร้อยละ 27.3 เท่านั้น และถ้าพิจารณาในกลุ่มย่อยที่เป็น definite tuberculous pleuritis จากการศึกษา (ซึ่งใช้เกณฑ์เดียวกับ Mitorai และคณะ) พบว่า บี ดี โพรบ เทค อี ที ให้ความไวสูงถึงร้อยละ 92.3 และความจำเพาะร้อยละ 100

เมื่อเทียบการตรวจด้วยวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที ของน้ำเยื่อหุ้มปอดกับการตรวจด้วยวิธี PCR assay ซึ่งใช้ยีน 16sหรือ23s-rRNA gene sequence และ nested PCR ของยีน16s rRNA ที่รายงานโดย Reechaipichitkull และคณะ<sup>(36)</sup> ซึ่งทำการศึกษาในผู้ป่วย exudative lymphocytic pleural effusion จำนวน 90 ราย ซึ่งใช้เกณฑ์ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด คือ การเพาะเชื้อวัณโรคได้จากน้ำเยื่อหุ้มปอด หรือพบ caseous granuloma จากชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา หรือมีอาการและอาการแสดงร่วมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค พบว่ามีค่าความไวของ PCR ร้อยละ 50 และ nested PCR ร้อยละ 72 ส่วนการเพาะเชื้อน้ำเยื่อหุ้มปอดมีความไวเพียงร้อยละ 17 การย้อม AFB ร้อยละ 6 จะเห็นว่าความไวโดยรวมของ บี ดี โพรบ เทค อี ที ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้นใกล้เคียงกับวิธี PCR จากการศึกษาดังกล่าว แต่ยังต่ำกว่าวิธี Nested PCR ส่วนในความจำเพาะในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น บี ดี โพรบ เทค อี ที มีค่าร้อยละ 100 ซึ่งสูงกว่าวิธี PCR (ร้อยละ 61) และ nested PCR (ร้อยละ 53) มาก ทำให้ค่า false positive น้อยกว่ามาก

ขณะเดียวกันเมื่อเทียบการตรวจ บี ดี โพรบ เทค อี ที ในกลุ่มที่เป็น definite tuberculous pleuritis พบว่ามีค่าความไวสูงกว่าการเพาะเชื้อวัณโรคน้ำเยื่อหุ้มปอดและการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาที่ย้อม AFB ให้ผลบวก และสามารถให้ความไวถึงร้อยละ 92.3 ซึ่งมีความสามารถในการวินิจฉัยใกล้เคียงกับวิธีการเพาะเชื้อกับวิธีทางพยาธิวิทยารวมกัน แต่มีประโยชน์คือได้ผลรวดเร็วกว่าและช่วยให้สามารถตัดสินใจเริ่มการรักษาได้รวดเร็วขึ้น

ส่วนในกลุ่ม probable tuberculous pleuritis นั้น บี ดี โพรบ เทค อี ที มีประโยชน์ในแง่เพิ่มการวินิจฉัยวัณโรคจากเดิมร้อยละ 23.6 ในกรณีที่ย้อม AFB ให้ผลลบทั้งในน้ำและเนื้อเยื่อหุ้มปอด

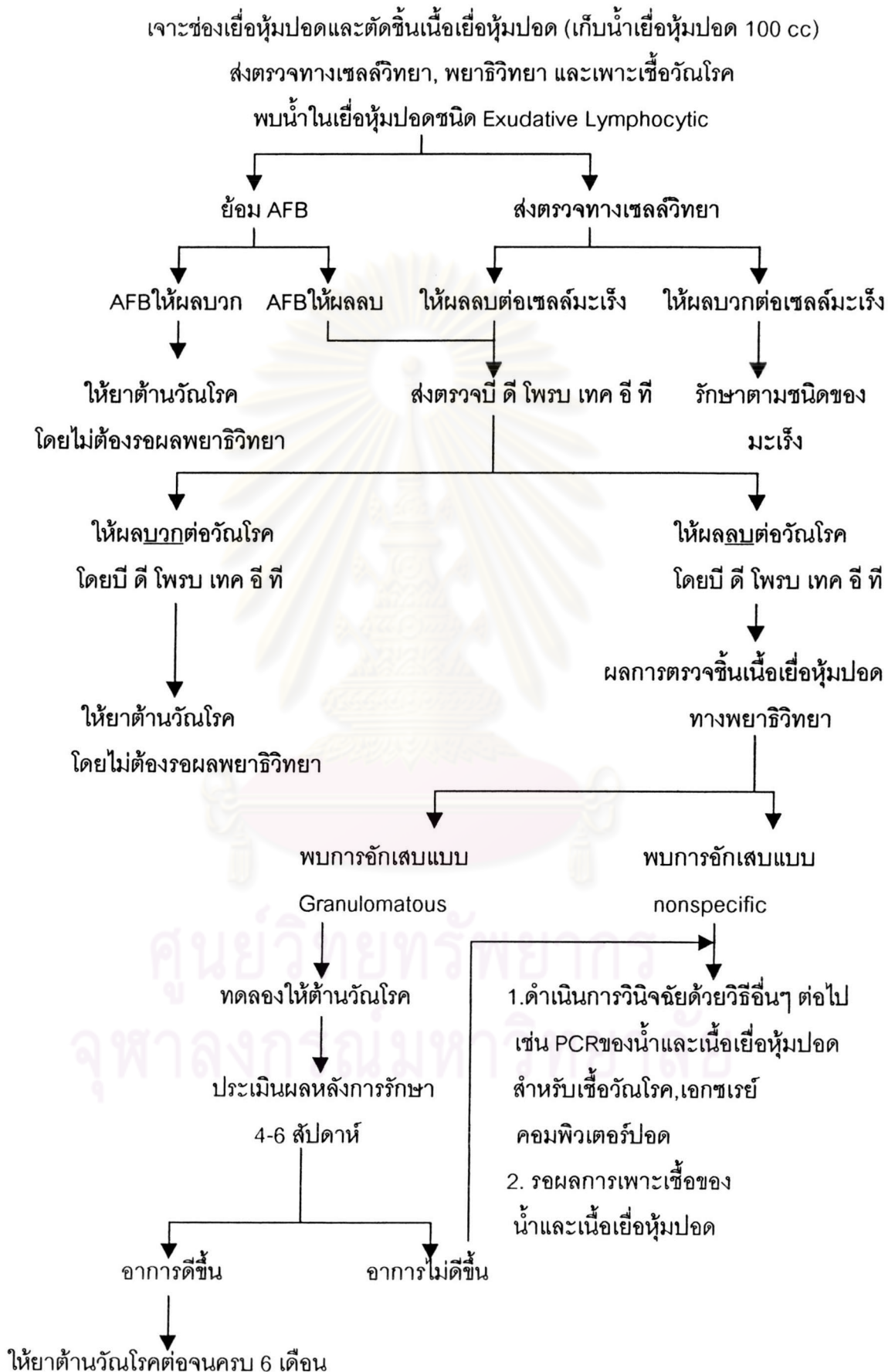
ที่สำคัญคือ ในกลุ่ม possible tuberculous pleuritis นั้นผลทางพยาธิวิทยามักไม่ชัดเจน คือ เป็น non-specific inflammation มีผู้ป่วยจำนวน 7 ใน 15 ราย ซึ่งให้ผลบวกต่อการใช้ บี ดี โพรบ เทค อี ที แต่การตรวจด้วยวิธีการย้อม AFB และเพาะเชื้อวัณโรคให้ผลลบ ทางคณะผู้วิจัยได้ทดลอง

กลุ่มตรวจน้ำเยื่อหุ้มปอดของผู้ป่วยที่ให้ผลบวกต่อ บี ดี โพรบ เทค อี ที จำนวน 3 รายจากจำนวนทั้งสิ้น 7 รายในกลุ่มนี้ ไปตรวจด้วยวิธี PCR พบว่า PCR ให้ผลบวกทั้ง 3 ราย แสดงว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีโอกาสเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดสูง เพราะให้ผลบวกทั้งกับวิธี PCR และวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที ซึ่งให้ความจำเพาะถึงร้อยละ 100 และการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีเดิมไม่สามารถตรวจพบได้ จึงมีความเป็นไปได้ว่าวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที สามารถเพิ่มการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยกลุ่มนี้เพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 46.7

เมื่อนับรวมกลุ่ม possible และ probable tuberculous pleuritis เข้าด้วยกันซึ่งไม่สามารถวินิจฉัยวัณโรคได้โดยอาศัยอาการทางคลินิก หรือ การตรวจทางห้องปฏิบัติการเข้าด้วยกัน หรือการตอบสนองต่อการรักษาอย่างใดอย่างหนึ่งโดยลำพัง แต่การตรวจ บี ดี โพรบ เทค อี ที ให้ผลบวกถึง 10 ใน 28 ราย หรือร้อยละ 35.7 จึงเชื่อว่านอกจากประโยชน์ในแง่เพิ่มความสามารถในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในกลุ่มที่ย้อม AFB หรือการเพาะเชื้อให้ผลลบแล้ว บี ดี โพรบ เทค อี ที ยังมีความรวดเร็วในการวินิจฉัยวัณโรคทำให้ตัดสินใจให้การรักษาวัณโรคเยื่อหุ้มปอดได้รวดเร็วขึ้น

ในส่วนของค่าใช้จ่ายในการตรวจน้ำเยื่อหุ้มปอดด้วยวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ คิดค่าใช้จ่ายครั้งละ 800 บาท ต่อหนึ่งการทดสอบเมื่อเทียบกับวิธีตรวจด้วย PCR ซึ่งมีค่าใช้จ่ายครั้งละ 1,000 บาท (inhouse pcr) ส่วนวิธี Amplicor mycobacterium tuberculosis direct test ของบริษัท Roache นั้นเสนอราคาตรวจครั้งละ 2,400 บาท (ปัจจุบันทางโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์งดรับตรวจด้วยวิธีดังกล่าว เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่าวิธีอื่น) จึงนับว่าการตรวจด้วยวิธีการ บี ดี โพรบ เทค อี ที มีค่าใช้จ่ายประหยัดกว่าการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลวิธีอื่น (ค่าใช้จ่ายการตรวจน้ำเยื่อหุ้มปอดย้อม AFB , เพาะเชื้อวัณโรค การตรวจทางพยาธิวิทยาแสดงไว้ในภาคผนวกที่ 4)

ข้อเสนอแนะสำหรับการใช้ บี ดี โพรบ เทค อี ที ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด จากข้อมูลการวิจัยนี้ จะขอเสนอแนวทาง (guideline) ในการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยพิจารณาจากความเหมาะสมของการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ค่าใช้จ่ายและความสะดวกรวดเร็วในการวินิจฉัยดังนี้



### ข้อจำกัดและอุปสรรคระหว่างการวิจัย

- 1) การติดตามการรักษาของผู้ป่วยบางรายไม่ครบ 3 เดือน จึงต้องตัดออกจากการศึกษาวิจัย
- 2) งบประมาณการวิจัยมีจำกัด ไม่สามารถส่ง BDProbeTecET System ของเนื้อเยื่อหุ้มปอดเพื่อเปรียบเทียบ กับการวินิจฉัยด้วยวิธีการย้อม AFB, culture , tissue pathology และ BD Probe Tec ET System น้ำเยื่อหุ้มปอดได้ และไม่สามารถส่ง PCR ของเนื้อเยื่อหุ้มปอดและน้ำเยื่อหุ้มปอดเพื่อเปรียบเทียบ กับการวินิจฉัยด้วยวิธีการย้อม AFB, culture , tissue pathology และ BDProbeTec ET System น้ำเยื่อหุ้มปอดได้
- 3) แพทย์ผู้อ่านผลเชื้อเนื้อเยื่อหุ้มปอด มีไม่คนเดียวกันตลอดการวิจัย อาจมีผลต่อการแปลผลเนื้อเยื่อได้
- 4) การส่งสิ่งส่งตรวจล่าช้าอาจมีผลต่อการแปลผลการตรวจได้

### การแก้ไขข้อจำกัดและอุปสรรคที่เกิดขึ้น

- 1) ต้องพยายามอธิบายให้ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการวิจัยทราบถึงเหตุผลและความจำเป็นในการติดตามการรักษา เพื่อประโยชน์กับตัวผู้ป่วยเองด้วย
- 2) ติดต่อของบประมาณเพิ่มเติมจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง และชี้แจงถึงเหตุผล และประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้
- 3) กรณีสถานที่เนื้อเยื่อหุ้มปอด ให้ติดต่อแพทย์ทางพยาธิวิทยาให้ช่วยอ่านผลเนื้อเยื่อหุ้มปอดเพียงบุคคลเดียวตลอดการวิจัย
- 4) ชี้แจงให้บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการส่งสิ่งส่งตรวจ ให้ส่งน้ำและเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้เสร็จภายในกำหนดเวลา

ส่วนข้อจำกัดอื่นๆ จากการศึกษานี้ ที่เป็นผลมาจากงบประมาณจำกัด เช่น การส่งตรวจ PCR ของทั้งน้ำและเนื้อเยื่อหุ้มปอด การเพาะเชื้อจากน้ำเยื่อหุ้มปอด เพื่อใช้เปรียบเทียบกับ การวินิจฉัยโดยวิธี บี ดี โพรบ เทค อี ที

ข้อจำกัดในแง่คำจำกัดความ ในการวินิจฉัย เช่น possible tuberculous pleuritis นั้นซึ่ง อาจจะมีการซ้อนทับกับกลุ่ม probable tuberculous pleuritis ในแง่ของ Final diagnosis ซึ่งอาจนับเป็นผู้ป่วยกลุ่มเดียวกันก็ได้ และเนื่องจากภาวะน้ำในเยื่อหุ้มปอดที่มีสาเหตุจากวัณโรคซึ่งอาจหายเองได้ ใน 6 – 12 สัปดาห์ เช่นเดียวกับน้ำในเยื่อหุ้มปอดจากสาเหตุอื่นๆ เช่น เยื่อหุ้มปอดอักเสบ

จากเชื้อไวรัส ซึ่งถ้าลดจำนวนผู้ป่วยกลุ่มนี้ ที่ไม่ใช่วัณโรคเยื่อหุ้มปอดจริงๆออก อาจทำให้ค่าความไว และความจำเพาะ PPV , NPV มีค่าที่ดีขึ้นอีก

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต จากหลายการศึกษาพบว่าการตรวจ PCR หรือ commercial rRNA และ DNA amplified kits ของชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด หรือ Paraffin – Embedded pleural biopsy specimens ให้ความไวสูงถึงร้อยละ 89 และ 52.6 ตามลำดับ<sup>(33,34)</sup> จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจที่ควรนำมาใช้ศึกษาเปรียบเทียบในอนาคต เช่นเดียวกับการส่งน้ำเยื่อหุ้มปอดเพื่อตรวจ PCR ( in house ) และการส่งเพาะเชื้อเนื้อเยื่อหุ้มปอด โดยเปรียบเทียบกับบี ดี โพรบ เทค อี ที ด้วยอีกวิธีหนึ่ง

กล่าวโดยสรุป แนะนำให้ใช้ BDProbetec ET มาใช้ในการช่วยการตัดสินใจในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในแง่ complementary test ร่วมกับการตรวจ AFB จากทั้งในน้ำ และเยื่อหุ้มปอดทางพยาธิวิทยา เนื่องจากสะดวกรวดเร็ว ใช้เวลาไม่เกิน 1-2 วัน ราคา 800 บาท โดยเฉพาะในกรณีที่ยกไม่ได้จากมะเร็งปอดหรือมะเร็งเยื่อหุ้มปอด หรือมะเร็งที่แพร่กระจายมาที่เยื่อหุ้มปอด จะช่วยลดค่าใช้จ่ายและลดการทำ invasive procedure ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ เพิ่มเติม การศึกษาในอนาคตเพิ่มเปรียบเทียบกับวิธี PCR ทั้ง in house และวิธีอื่นที่มีใช้ในท้องตลาด รวมทั้งการใช้วิธีบี ดี โพรบ เทค อี ที กับเนื้อเยื่อหุ้มปอด เทียบกับน้ำเยื่อหุ้มปอด เป็นสิ่งที่น่าสนใจและควรจะนำมาศึกษาต่อไปในอนาคต

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย