การศึกษาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วยสำหรับใช้ใน การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วย ที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

นายสุรัตน์ วรรณเลิศสกุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(1,3) β-D-GLUCAN FOR DIAGNOSIS OF INVASIVE FUNGAL INFECTIONS IN HEMATOLOGIC MALIGNANCY AND HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION PATIENTS IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL (KCMH)

Mr. Surat Wannalerdsakun

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วยสำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
โดย	นายสุรัตน์ วรรณเลิศสกุล
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ แพทย์หญิงกมลวรรณ จุติวรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. อริยา จินดามพร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์.ดร.นายแพทย์อัษฎาศ์ ลีฬหวนิชกุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์โสภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์กัมมันต์ พันธุมจินดา)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ แพทย์หญิงกมลวรรณ จุติวรกุล)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. อริยา จินดามพร)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์.ดร.นายแพทย์อัษฎาศ์ ลีฬหวนิชกุล)

....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ณัฐพงษ์ เจียมจริยธรรม)

....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เมธี ชยะกุลคีรี)

Chulalongkorn University

สุรัตน์ วรรณเลิศสกุล : การศึกษาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วยสำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ((1,3) β-D-GLUCAN FOR DIAGNOSIS OF INVASIVE FUNGAL INFECTIONSIN HEMATOLOGIC MALIGNANCY AND HEMATOPOIETIC STEM CELLTRANSPLANTATION PATIENTS IN KING CHULALONGKORNMEMORIAL HOSPITAL (KCMH)) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. พญ.กมลวรรณ จุติวรกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. อริยา จินดามพร, อ.ดร.นพ.อัษฎาศ์ ลีฬหวนิชกุล, 58 หน้า.

ที่มา: โรคติดเชื้อราชนิดลุกลามยังคงเป็นปัญหาที่เพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน และพบว่าภาวะนี้มีอัตราการเสียชีวิตที่ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ปัญหาสำคัญคือความล่าช้าในการวินิจฉัย และนำไปสู่การให้การรักษาที่ล่าช้าตามมา การตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan (BG) ในเลือดผู้ป่วยเป็นการทดสอบที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อพยายามมาแก้ไขปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามแม้ว่าการตรวจวัดค่า BG จะเริ่มมีการใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น แต่สำหรับประเทศไทยนั้นยังจำกัดอยู่เฉพาะในงานวิจัยและยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์ค่าความสามารถต่างๆ ของการทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยไทย

วัตถุประสงค์: งานวิจัยฉบับนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการตรวจวัดค่า BG ในแง่การวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบ สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังมีภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่เข้ารับการปลูกถ่ายไขกระดูก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2557 จนถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2558 โดยตรวจติดตามผู้ป่วยตลอดช่วงที่เข้ารับการรักษา เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีอาการหรืออาการแสดงต่างๆที่ทำให้สงสัยว่าจะมีโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นแล้ว ก็ทำการเก็บเลือดผู้ป่วยเพื่อตรวจวัดค่า BG และตรวจติดตามต่อว่ามีผู้ป่วยรายใดบ้างที่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์ของ European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) ปี 2008

วิธีการศึกษา: โดยเก็บรวบรวมผู้ป่วยได้ทั้งหมด 46 ราย พบว่ามีผู้ป่วย 17 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามคิดเป็นร้อยละ 37 จากผู้ป่วยทั้งหมด โดยผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นระดับ proven invasive fungal infections (IFIs) จำนวน 5 ราย และระดับ probable IFIs จำนวน 9 ราย การตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยพบว่ามีค่าความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), ค่า positive predictive value (PPV), และค่า negative predictive value (NPV) ของเครื่องมือตรวจนี้อยู่ที่ร้อยละ 14.28, 96.87, 66.67, และ 72.09 ตามลำดับ และถ้าพิจารณาในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามและมีผลการตรวจวัดค่า BG ในเลือดให้ผลบวกนั้น ผู้ป่วยจะให้ผลบวกค่า BG ในเลือดเร็วกว่าการตรวจวินิจฉัยโดยยึดตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008 โดยเฉลี่ยประมาณ 3 วัน แต่ไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P= 0.667

สรุปผลการศึกษา: โดยสรุปการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยเพียง 1 ครั้งอาจไม่เพียงพอ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังมีภาวะ neutropenia หรือกลุ่มผู้ป่วยที่เข้ารับการปลูกถ่ายไขกระดูก เนื่องจากเครื่องมือการตรวจวัด BG ในเลือดผู้ป่วยมีค่าความไวในการตรวจที่จำกัด ดังนั้นจึงควรมีการตรวจติดตามค่า BG อีกเป็นครั้งที่ 2 หรือ 3 ถ้าผู้ป่วยยังคงมีอาการหรืออาการแสดงที่ยังทำให้สงสัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนี้อยู่

ภาควิชา อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต ....
สาขาวิชา อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก ....
ปีการศึกษา 2557	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม ....

5674090630 : MAJOR MEDICINE
KEYWORDS: (1,3) ß-D-GLUCAN / INVASIVE FUNGAL INFECTIONS / HEMATOLOGIC MALIGNANCY / HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

SURAT WANNALERDSAKUN: (1,3) ß-D-GLUCAN FOR DIAGNOSIS OF INVASIVE FUNGAL INFECTIONSIN HEMATOLOGIC MALIGNANCY AND HEMATOPOIETIC STEM CELLTRANSPLANTATION PATIENTS IN KING CHULALONGKORNMEMORIAL HOSPITAL (KCMH). ADVISOR: KAMONWAN JUTIVORAKOOL, M.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. ARIYA CHINDAMPORN, M.D., ASADA LEELAHAVANICHKUL, M.D., PH.D., 58 pp.

Background: Diagnosis of invasive fungal infections (IFIs) is challenging. It remains a significant cause of morbidity and mortality in high risk patients, especially hematologic malignancy and hematopoietic stem cell transplants (HSCTs). The noninvasive diagnostic test, (1®3)-b-D glucan (BG) assay is a useful diagnostic test for IFIs in previous studies, but this diagnostic test is not available in Thailand.

Objectives: The aim of this study is a prospective evaluation of the BG assay for diagnosis of IFIs in febrile neutropenic patients who are receiving chemotherapy for hematologic malignancy or HSCTs in KCMH.

Methods: The study was prospectively preformed from July 2014 to February 2015 in adult neutropenic patients with hematologic malignancies or HSCTs. During admission, serum BG was measured using the Fungitell assay. The sensitivity and specificity of the Fungitell assay were calculated according to the proportion of patients with true, false positive and negative tests. The diagnosis of IFIs was according to the criteria of the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) 2008.

Results: A total of 46 patients were enrolled, 17 of the 46 patients (37%) had IFIs, which 5 patients had proven, and 9 patients had probable IFIs. The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of BG cutoff values ³80 pg/ml for diagnosis of IFIs was 14.28, 96.87, 66.67, and 72.09%, respectively. The time interval average between onset of fever and BG detection was earlier than the time to diagnosis of IFIs by the EORTC/MSG 2008 average of 3 days (P= 0.667).

Conclusion: The single time point of BG assay had lower sensitivity than in previous studies. The BG monitoring should be serial sampling for the usefulness of noninvasive method for early diagnosis of IFIs in high risk group patients.

Department:	Medicine	Student's Signature	....
Field of Study:	Medicine	Advisor's Signature	....
Academic Year:	2014	Co-Advisor's Signature	....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์ของบุคคลหลายท่าน ซึ่งไม่อาจจะนำมากล่าวได้ทั้งหมด ผู้มีพระคุณท่านแรกที่ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ คืออาจารย์ แพทย์หญิงกมลวรรณ จุติวรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้สละเวลา ให้ความรู้ และคำแนะนำ ตลอดจนการตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอนจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ท่านที่สอง คือ รองศาสตราจารย์ ดร.อริยา จินดามพร ที่ให้คำแนะนำตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เกี่ยวกับผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมอีกสองท่าน คือ อาจารย์ ดร.นายแพทย์อัษฎาศ์ ลีฬหวนิชกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์เมธี ชยะกุลคีรี ที่ให้ความสนับสนุนและช่วยเหลือในด้านต่างๆ

นอกจากนี้กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ธนินทร์ อัศววิเชียรจินดา ที่ให้ความรู้และแนะนำหลักการทางวิจัยทางการแพทย์ ขอขอบพระคุณ คุณนวพร วรศิลป์ชัย และเจ้าหน้าที่ท่านอื่นๆ ภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องการเก็บตัวอย่างเลือดและด้านการตรวจหาค่าทางห้องปฏิบัติการต่างๆ เป็นอย่างดี ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ร่วมถึงศาสตราจารย์ นายแพทย์กัมมันต์ พันธุมจินดา ที่ให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของงานวิจัยฉบับนี้อย่างละเอียดถี่ถ้วน ทั้งนี้ยังรวมไปถึงกราบขอบพระคุณ Dr. Malcolm A. Finkelman, Ph.D., Director of Clinical Development, Associates of Cape cod, Inc., Massachusetts, USA ผู้ให้การสนับสนุนด้านชุดตรวจ Fungitell และยังให้คำปรึกษาด้านการวิเคราะห์ผลตรวจ (1,3) β-D-glucan แก่ผู้วิจัยและคณะด้วยดีเสมอมา กราบขอบพระคุณทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2556 หมายเลขที่ทุน RA57/098 ที่ให้การสนับสนุนด้านงบประมาณแก่งานวิจัยนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาวิจัยทุกท่าน อาจารย์แพทย์หน่วยโรคติดเชื้อ เจ้าหน้าที่ประจำหน่วยโรคติดเชื้อ แพทย์ประจำบ้านต่อยอดหน่วยโรคติดเชื้อ ที่มีส่วนช่วยในการพัฒนาความรู้ ความคิด ทางด้านโรคติดเชื้อจนงานวิจัยลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณบิดา มารดา และภรรยาของผู้วิจัยที่อยู่เบื้องหลังให้ความช่วยเหลือสนับสนุนและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย...ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ... จ

กิตติกรรมประกาศ... ฉ

สารบัญ... ช

สารบัญตาราง... ฌ

สารบัญรูปภาพ... ญ

สารบัญกราฟ...ฎ

สารบัญแผนภูมิ... 1

บทที่ 1 บทนำ ... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา ... 1

1.2 คำถามของการวิจัย ... 2

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย ... 3

1.4 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย... 3

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย... 4

1.6 รูปแบบงานวิจัย ... 5

1.7 ระเบียบวิธีวิจัย... 5

1.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ... 7

1.9 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม ... 7

1.10 ปัญหาและอุปสรรค ... 8

1.11 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย... 8

บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรม ... 10

บทที่ 3 วิธีดาเนินการวิจัย... 17

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3.1 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย...... 17

3.2 การรวบรวมข้อมูล...... 20

บทที่ 4 ผลการศึกษา...... 22

บทที่ 5 บทวิเคราะห์...... 31

บทที่ 6 บทสรุป...... 36

รายการอ้างอิง...... 39

ภาคผนวก...... 43

ภาคผนวก ก...... 44

ภาคผนวก ข...... 53

ภาคผนวก ค...... 56

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์...... 57

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงการจัดกลุ่มผู้ป่วยโดยแบ่งตามโอกาสหรือความเสี่ยงที่จะเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลาม 11

ตารางที่ 2 แสดงชุดการตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan และค่าอ้างอิงที่ผลิตโดยบริษัทต่างๆที่มีใช้ในปัจจุบัน 14

ตารางที่ 3 แสดงค่าการวิเคราะห์ผลการทดสอบการตรวจวัด (1,3) β-D-glucan ในการช่วยวินิจฉัย invasive fungal infections (IFIs) โดยใช้ชุดตรวจวัดจากบริษัทที่แตกต่างกัน จะเห็นว่ามีค่าแตกต่างกันไปในแต่ละการศึกษา 16

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้ง 46 ราย และระดับที่แบ่งตามเกณฑ์การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามของ EORTC/MSG ปี 2008[5] 23

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลรายละเอียดของผู้ป่วยทั้ง 17 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008[5] 24

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลค่าความสามารถของเครื่องมือตรวจ (1,3)-B-D-glucan (BG) ในเลือดผู้ป่วย ในข้อกำหนดที่แตกต่างกัน 27

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่ 1 แสดงส่วนประกอบของพนังเซลล์ของยีสต์ (Yeast cell wall) ซึ่งประกอบไปด้วยสารต่างๆ รวมไปถึงสารประกอบ β-D-glucan ที่อยู่ในชั้นพนังเซลล์ 13

รูปภาพที่ 2 แสดง Limulus amoebocyte lysate (LAL) pathway ของแมงดาทะเล (horseshoe crab) ชนิด *Limulus polyphemus* 14

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญกราฟ

กราฟที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบระยะเวลาในกลุ่มผู้ป่วยที่นับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ให้การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามโดยอาศัยการวินิจฉัยตามเกณฑ์และเครื่องมือการตรวจวัดที่แตกต่างกัน 29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวความคิดในงานวิจัย 5

แผนภูมิที่ 2 แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย 19

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อุบัติการณ์ของการเกิดภาวการณ์ติดเชื้อราชนิดลุกลาม (invasive fungal infections, IFIs) มีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา โรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนี้นำมาซึ่งความพิการและอาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ในอัตราที่สูง บางรายงานอาจสูงถึง 60-90% ของผู้ป่วยทั้งหมด[1] โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) ไม่ว่าสาเหตุของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำนั้นจะเกิดจากตัวโรคมะเร็งเม็ดเลือดเองหรือเกิดภายหลังจากการให้เคมีบำบัด (chemotherapy) เพื่อการรักษามะเร็งเม็ดเลือดนั้นก็ตาม หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งจะมีโอกาสเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามได้สูงกว่าประชากรปกติทั่วไปหลายเท่า[2] ปัญหาที่สำคัญที่ทำให้การติดเชื้อราชนิดลุกลามยังคงมีอัตราการตายที่สูงนั้นเกิดจากความยากลำบากในการตรวจวินิจฉัย รวมไปถึงการสืบค้นหาเชื้อที่สาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะนี้ สุดท้ายมักจะได้รับการวินิจฉัยที่ล่าช้า และนำไปสู่การให้การรักษาที่ล่าช้าเช่นเดียวกัน ส่งผลกระทบทำให้ผลการรักษาไม่ดีเท่าที่ควร

ปัจจุบันจึงได้มีความพยายามพัฒนาวิธีการตรวจวัดค่าต่างๆ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามให้มีความสะดวก, รวดเร็ว, ถูกต้อง, และแม่นยำมากยิ่งขึ้น การตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย[3] ก็เป็นการทดสอบที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อพยายามมาแก้ไขปัญหาดังกล่าว แต่ก็พบว่าการทดสอบ (1,3) β-D-glucan มีรายงานความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของการทดสอบที่แตกต่างกันอย่างมากในแต่ละรายงาน โดยรายงานความไว และความจำเพาะของการทดสอบอยู่ที่ 70-90% และ 50-95% ตามลำดับ[4] ความแตกต่างของผลการรายงานนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้งจำนวนของกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน, ความหลากหลายและความรุนแรงของโรคในกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน, และรวมไปถึงค่าทางห้องปฏิบัติการว่าใช้ค่าเท่าไรในการตัดสินใจ (cut-off point value) ว่าเป็นผลบวกหรือลบ เป็นต้น อย่างไรก็ตามแม้ว่าการตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan ที่ใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามจะมีใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้นในปัจจุบันแล้วก็ตาม แต่ก็ยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยไทย

งานวิจัยฉบับนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในแง่การวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบ สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดภาวะนี้ และมุ่งหวังว่าผลที่ได้จะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางให้กับแพทย์ผู้รักษาเพื่อช่วยในการตัดสินใจ เพื่อให้ได้การวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็วที่สุด และนำไปสู่การตัดสินใจให้การรักษาที่เหมาะสมต่อไป

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลักของการวิจัย

การตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามมีค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบเป็นเท่าไร ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม โดยใช้เกณฑ์การวินิจฉัยตาม European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) เมื่อปี 2008[5] และกำหนดระดับค่า cut-off point ของการทดสอบที่ 80 pg/ml

คำถามรองของการวิจัย

1) การตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก มีค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบแตกต่างกันหรือไม่ถ้ากำหนดระดับค่า cut-off point ที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น กำหนดระดับค่า cut-off point ที่ 60 pg/ml และที่ 80 pg/ml เป็นต้น

2) ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ EORTC/MSG ปี 2008[5] แล้วนั้น การตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วยจะให้ผลบวกของการทดสอบช้าหรือเร็วกว่าเป็นจำนวนวันโดยเริ่มนับจากวันที่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ผลการทดสอบนั้นให้ผลบวกแตกต่างกันหรือไม่ เมื่อเปรียบเทียบกันการตรวจวัดค่า serum galactomannan ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อเป็นการศึกษาวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย สำหรับช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก

วัตถุประสงค์รอง

1) เพื่อเป็นการศึกษาวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าความไวและความจำเพาะของการตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วยที่ระดับค่า cut-off point ที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น กำหนดระดับค่า cut-off point ที่ 60 pg/ml และที่ 80 pg/ml เป็นต้น สำหรับช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก

2) เพื่อเป็นการศึกษาวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนวันโดยเริ่มนับจากวันที่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ผลการทดสอบนั้นๆให้ผลบวก เมื่อใช้การตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย เปรียบเทียบกับการตรวจวัดค่าด้วย serum galactomannan สำหรับช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ Neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก

1.4 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

1) ภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) หมายถึง ภาวะที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิล (absolute neutrophil count, ANC) น้อยกว่า 500 cell/cumm[3]

2) โรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (invasive fungal infections, IFIs) หมายถึง โรคที่เกิดจากการติดเชื้อราในอวัยวะภายในของร่างกายเช่น โพรงจมูก, ทางเดินหายใจส่วนล่าง, อวัยวะในช่องท้อง, ระบบประสาทและสมอง เป็นต้น ของผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรืออยู่ในภาวะมีเม็ดเลือดขาวต่ำ อาจเกิดจากการได้รับยาเคมีบำบัดทั้งในช่วง induction หรือ consolidation phase หรืออาจเกิดจากสาเหตุอื่นๆ โดยแบ่งการวินิจฉัยตาม The European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National

Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) ปี 2008[5] เป็นระดับดังนี้

Proven IFIs หมายถึง การตรวจพบเชื้อราจากเนื้อเยื่อในอวัยวะภายใน หรือจากบริเวณที่ปลอดเชื้อ เช่น จากเลือด, จากน้ำไขสันหลัง เป็นต้น ทั้งที่ตรวจพบจากชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาหรือจากการเพาะเชื้อราในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

Probable IFIs หมายถึง การตรวจพบเชื้อราในสิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่อาจไม่ปลอดเชื้อ เช่น จากน้ำล้างปอด, จากไซนัส เป็นต้น หรือผลตรวจโดยอ้อมทางห้องปฏิบัติการที่อาจบ่งชี้ถึงมีการติดเชื้อราชนิดลุกลาม เช่น serum galactomannan ให้ผลบวก (คือค่า serum galactomannan OD ratio $\geq$0.5 หรือ ค่า bronchoalveolar lavage fluid galactomana OD ratio $\geq$0.7) ร่วมกับมีการเปลี่ยนแปลงของภาพทางรังสีที่เข้าได้กับโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม เช่น halo sign จาก X-ray imaging เป็นต้น

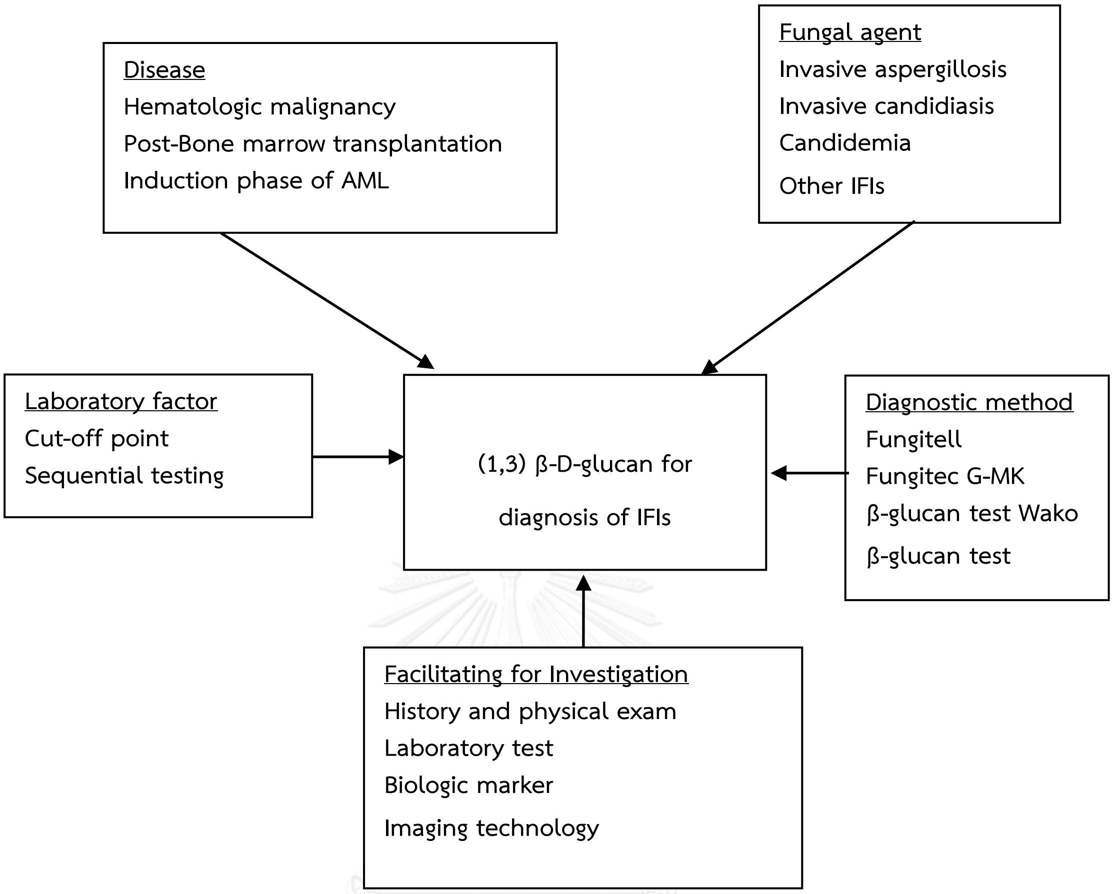
Possible IFIs หมายถึง ผู้ป่วยที่มีอาการแสดงที่สงสัย เช่น มีผื่นผิวหนังเป็นลักษณะ umbilicate papule หรือ nodules ตามร่างกาย ร่วมกับเป็นผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม แต่ยังไม่มีหลักฐานทางห้องปฏิบัติการที่แน่ชัดว่าเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามจริง

3) ผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (bacteremia) หมายถึง ผู้ป่วยที่มีไข้และผลการตรวจเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีวะจากเลือดผู้ป่วยพบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ ไม่ว่าจะตรวจพบแหล่งการติดเชื้อในร่างกายหรือไม่ก็ได้

4) ผู้ป่วยที่มีภาวะไข้ขณะที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำแต่ตรวจไม่พบหลักฐานของการติดเชื้อ (febrile neutropenia without being microbiologically documented, FNM) หมายถึง ผู้ป่วยที่มีไข้ ร่วมกับตรวจไม่พบแหล่งการติดเชื้อทั้งจากการตรวจร่างกายและจากการตรวจเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีวะ และไม่เข้ากับคำจำกัดความของโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (IFIs) ตามเกณฑ์ที่ได้กล่าวมาข้างต้น

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวความคิดในงานวิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.6 รูปแบบงานวิจัย

เป็นงานวิจัยแบบ diagnostic study ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก โดยการตรวจติดตามวัดระดับค่าความเข้มข้นของสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย พร้อมทั้งติดตามอาการของผู้ป่วยว่ามีอาการแสดงทางคลินิก หรือผลตรวจทางห้องปฏิบัติการรวมไปถึงภาพถ่ายทางรังสี ที่เข้าได้กับเกณฑ์การวินิจฉัย IFIs ตาม EORTC/MSG ปี 2008[5] เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าความไวและค่าความจำเพาะของการทดสอบนี้

1.7 ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากรกลุ่มทดลอง (Sampling population)

ประชากร หมายถึง ผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่าง (inclusion criteria)

- ผู้ป่วยผู้ใหญ่ชาวไทย ที่มีอายุ ≥18 ปีขึ้นไป
- ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดหรือผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia (ANC <500/$cumm^3$) นานกว่า 4 วัน
- ผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่มีไข้ (body temperature >38 °C) นานกว่า 4 วัน แม้ว่าจะได้รับยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสมแล้วก็ตาม
- ผู้ป่วยมีความเข้าใจถึงวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ และยินดีที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัย

เกณฑ์ในการตัดตัวอย่างออกจากการศึกษา (exclusion criteria)

- ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยอยู่ก่อนแล้วว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (IFIs) หรือผู้ป่วยที่อยู่ในระหว่างได้รับการรักษาโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามด้วยยาต้านเชื้อราอยู่
- ผู้ป่วยโรคไตวาย ที่ต้องได้รับการล้างไตโดยวิธีการฟอกเลือด

ขนาดตัวอย่าง (Sample size)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ Neutropenia หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่อยู่ระหว่างรับการรักษาและดูอาการในรพ.จุฬาลงกรณ์ เป็นจำนวนทั้งสิ้น 54 ราย

การคำนวณจำนวนกลุ่มตัวอย่างอ้างอิงข้อมูลจากการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยพบว่าการตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan โดยใช้ชุดตรวจ Fungitell® มีค่าความไว (sensitivity) อยู่ที่ 94.7%[6] และจากการศึกษาของคณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่พบอุบัติการณ์ (incidence rate) ของการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (invasive fungal infections, IFIs) ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือด (hematologic malignancies) ที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia อยู่ที่ประมาณ 10%

Estimating the proportion (P) โดย $n = [Z_{\alpha/2}^{2}P(1-P)]/d^{2}$

โดยกำหนดค่าความผิดพลาดที่ยอมรับได้ (acceptable error) ของการศึกษานี้เท่ากับ 20% และกำหนดค่าความเชื่อมั่น (Confidential interval) ที่ 95%

1.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยนี้ใช้โปรแกรม computer SPSS for Window version 16 ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้วิธีดังนี้

1. ข้อมูลทั่วไป ใช้สถิติแบบพรรณนาวิเคราะห์โดยแสดงในรูปของร้อยละ (%), ค่าเฉลี่ย (mean), และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD)

2. ใช้สถิติแบบพรรณนาวิเคราะห์โดยแสดงในรูปของร้อยละ (%) ของจำนวนผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบ (1,3) ß-D-glucan ในเลือดเป็น Positive ต่อจำนวนผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น IFIs จริง (true positive) และในผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบเป็น negative ต่อจำนวนผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น IFIs (true negative)

3. วิเคราะห์ข้อมูลแสดงค่าทางสถิติออกมาในรูปแบบของค่าความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), ค่า positive predictive value (PPV), และค่า negative predictive value (NPV) ของการทดสอบการตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย

สำหรับตัวแปรอิสระที่มีค่าไม่ต่อเนื่อง (non-paired continuous variables) วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าทางสถิติโดยใช้ Mann-Whitney rank sum test ในการทดสอบ และใช้ค่าน้อยกว่า 0.05 จึงจะถือว่าการเปรียบเทียบนั้นมีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติ

1.9 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

พิจารณาตามหลักจริยธรรมการวิจัยในคน 3 ข้อ ได้แก่ หลักความเคารพในบุคคล (respect for person) โดยการให้ข้อมูลอย่างครบถ้วนจนกลุ่มตัวอย่างเข้าใจเป็นอย่างดีและตัดสินใจอย่างอิสระในการให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของผู้ป่วย โดยไม่มีการบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกที่จะระบุถึงตัวผู้ป่วย รวมถึงหลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (beneficence/non-maleficence) โดยทางผู้วิจัยจะมีการติดตามและดูแลรักษาภาวะแทรกซ้อนที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้ป่วย รวมถึงหลักยุติธรรม คือมีเกณฑ์การคัดเข้าและออกอย่างชัดเจน มีการกระจายความเสี่ยงและผลประโยชน์อย่างเท่าเทียมกัน โดยงานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจาก

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เลขที่ IRB 168/57 ลงวันที่ 3 กรกฎาคม 2557 [ตามเอกสารในภาคผนวก ก]

1.10 ปัญหาและอุปสรรค

1. เนื่องจากงานวิจัยนี้ตรวจประเมินค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย โดยใช้ชุดตรวจวัด Fungitell® ของผู้ผลิต Associated of Cape Cod เพียงเจ้าเดียวเท่านั้น ดังนั้นหากใช้ชุดทดสอบที่ต่างออกไปอาจไม่สามารถนำผลวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ไปอ้างอิงได้

2. และในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ต้องมีการตวงน้ำยาและเลือดของผู้ป่วยในปริมาณน้อยๆ ถ้าผู้ทำการทดสอบไม่มีความชำนาญในการใช้เครื่องมือก็อาจทำให้ค่าการทดสอบออกมาผิดพลาดและคาดเคลื่อนได้

3. การวิเคราะห์ผลในงานวิจัยนี้เป็นการเปรียบเทียบผลการตรวจทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยด้วยกันเองทั้งหมด โดยไม่ได้มีการเปรียบเทียบข้อมูลกับกลุ่มควบคุมที่มีสุขภาพแข็งแรงปกติ (healthy person) ดังนั้นผลการวิเคราะห์จึงอ้างอิงถึงผู้ป่วยกลุ่มเหล่านี้เท่านั้น

4. งานวิจัยนี้ศึกษาเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม คือ ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกเท่านั้น ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้จึงไม่อาจเป็นตัวแทนของกลุ่มผู้ป่วยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามทั้งหมดได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.11 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

คาดว่าการศึกษานี้ จะทำให้สามารถทราบถึงค่าความไว (sensitivity) และค่าความจำเพาะ (specificity) ของการทดสอบ serum (1,3) ß-D-glucan ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามคือ ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก รวมไปถึงทำให้ทราบแนวโน้มความสัมพันธ์ของค่าความไวและค่าความจำเพาะของการทดสอบถ้ามีการเปลี่ยนแปลงค่า cut-off point ไปจากเดิมหรือแนวโน้มความสัมพันธ์ของค่าความไวและค่าความจำเพาะของการทดสอบถ้านำไปพิจารราร่วมกับปัจจัยทางคลินิกบางอย่างของผู้ป่วยตัวอย่างเช่น การได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม, การมีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำมากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม, หรือการมีไข้มากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่า

เป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม เป็นต้น ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานไว้ให้แพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยได้นำไปประยุกต์ใช้ในการเลือกส่งการสืบค้นทางห้องปฏิบัติให้เหมาะสม และให้การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง, แม่นยำ, และรวดเร็วมากยิ่งขึ้น เพื่อที่แพทย์จะได้ตัดสินใจให้การรักษาที่เหมาะสมแก่ผู้ป่วย สุดท้ายคือหวังผลที่จะสามารถลดอัตราการตายและความพิการจากโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามได้ในกลุ่มผู้ป่วยเหล่านี้ต่อไปในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรม

อุบัติการณ์ของการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (invasive fungal infections, IFIs) มีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา โรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนี้นำมาซึ่งความพิการและอาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ในอัตราที่สูง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งจะมีโอกาสเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามได้สูงกว่าปกติหลายเท่า หรือถ้าจัดตามความเสี่ยง (risk assessment) ผู้ป่วยเหล่านี้ก็จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง (high risk)[2] คือ มีโอกาสประมาณ 5-10% ที่จะเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามได้ [ดังในตารางที่ 1] โดยพบว่าผู้ป่วยเหล่านี้อาจมีอัตราการตายที่สูงถึง 50% ถ้าเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามของแคนดิดา (invasive candidiasis)[1] และอาจจะมีอัตราการตายใกล้เคียง 100% ถ้าผู้ป่วยเหล่านี้เกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามของแอสเปอร์จิลลัส (invasive aspergillosis)[7] , โรคติดเชื้อราชนิดฟูซาริโอซีส (Fusariosis)[8] , หรือโรคติดเชื้อราชนิดทริโคสปอโรโนซีส (Trichosporonosis)[9]

ปัญหาที่สำคัญคือความยากในการวินิจฉัยภาวะนี้ เนื่องจากอาการแสดงทางคลินิกที่ไม่จำเพาะ การเปลี่ยนแปลงทางเอกซเรย์ที่ล่าช้า เมื่อเห็นการเปลี่ยนแปลงทางเอกซเรย์ที่จำเพาะผู้ป่วยก็มักจะมีอาการที่มากแล้ว อีกทั้งปัจจุบันการวินิจฉัยที่เป็นมาตรฐาน (gold standard) ของโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามยังคงอาศัยการตรวจพบเชื้อราในเนื้อเยื่อจากการตรวจทางพยาธิวิทยา (histopathology) และอาศัยการเพาะเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาจากสิ่งส่งตรวจปลอดเชื้อ (sterile site) ซึ่งในบางกรณีก็มีความยากลำบากในการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหรือสิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่เราสงสัยว่ามีการติดเชื้อราชนิดลุกลาม และในหลายๆกรณีก็ไม่สามารถทำได้เนื่องจากผู้ป่วยอาจมีข้อห้ามหรือมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากการเก็บเนื้อเยื่อหรือสิ่งส่งตรวจในบริเวณนั้นๆจากผู้ป่วย ยังไม่รวมไปถึงโอกาสที่ไม่สูงมากนักในการตรวจพบเชื้อราหรือโอกาสของการเพาะเลี้ยงเชื้อราได้ในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ตัวอย่างเช่น การเก็บเพาะเลี้ยงเชื้อราจากเลือด (blood culture) อาจเพาะเลี้ยงเชื้อขึ้นได้เพียง 50% ของตัวอย่างเลือดทั้งหมดที่เก็บมาจากผู้ป่วยที่เป็นโรคติดเชื้อราชนิด invasive candidiasis หรือโรคติดเชื้อราชนิด Fusariosis[8, 10] และมีโอกาสน้อยมากที่จะสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อราขึ้นได้จากตัวอย่างเลือดที่เก็บมาจากผู้ป่วยที่

เป็นโรคติดเชื้อราชนิด invasive aspergillosis[11] หรือแม้แต่การเพาะเลี้ยงเชื้อราจากน้ำล้างปอด (bronchoalveolar lavage fluid) อาจมีโอกาสน้อยกว่า 50% ที่จะเพาะเลี้ยงเชื้อขึ้นได้จากตัวอย่างตรวจทั้งหมดที่เก็บมาจากผู้ป่วยที่เป็นโรคติดเชื้อราที่ปอดชนิด invasive pulmonary aspergillosis (IPA)[12] ด้วยเหตุผลดังกล่าวมาแล้วข้างต้นทำให้การวินิจฉัยภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามมีความล่าช้า และนำไปสู่การตัดสินใจให้รักษาผู้ป่วยที่ล่าช้า สุดท้ายก็ส่งผลต่ออัตราการตายและอัตราความพิการที่สูงไปด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 1 แสดงการจัดกลุ่มผู้ป่วยโดยแบ่งตามโอกาสหรือความเสี่ยงที่จะเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลาม

Low risk	*Intermediate risk*	*High risk*
Autologous HSCT Hodgkin's lymphoma Chronic myeloproliferative disorders [CML and Ph(-) diseases] Solid cancer Myeloma Kidney transplantation Chronic immunological disease Systemic lupus erythematosus	Acute lymphoblastic leukemia Chronic lymphocytic leukemia Lymphoma COPD AIDS Myelodysplastic syndromes	Acute myeloid leukemia [above all in first induction] Allogeneic HSCT [particularly with cord blood source] Heart, Lung, Liver transplantation

(ดัดแปลงจาก Pagano L[13, 14], Singh N[15])

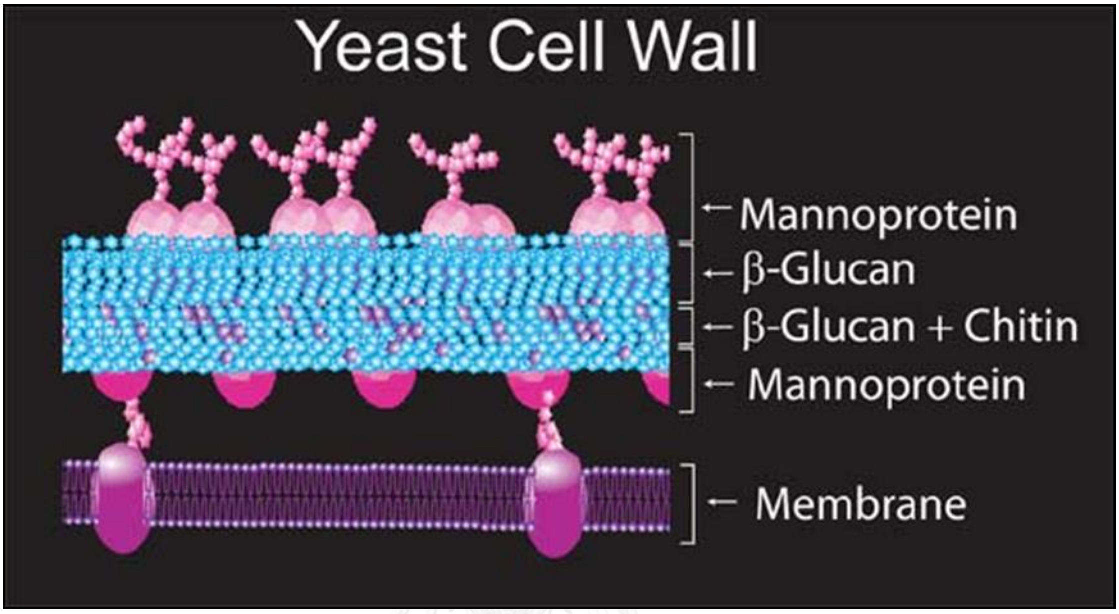
หมายเหตุ: CML= chronic myeloid leukemia, COPD= chronic obstructive pulmonary disease, Ph(-)= Philadelphia negative

ปัจจุบันจึงได้มีความพยายามพัฒนาวิธีการตรวจวัดค่าต่างๆ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามให้มีความสะดวก, รวดเร็ว, ถูกต้อง, และแม่นยำมากยิ่งขึ้น การตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย ก็เป็นอีกหนึ่งการทดสอบที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อพยายามแก้ไขปัญหาในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามดังกล่าวมาแล้ว สาร (1,3) β-D-glucan เป็นส่วนประกอบหนึ่งใน

พนังเซลล์ (cell wall) ของเชื้อราชนิด *Candida spp.* , *Aspergillus spp.* และเชื้อราชนิดอื่นๆ เกือบทุกชนิด [ดังรูปภาพที่ 1] ยกเว้นในเชื้อราชนิด Zygomycetes และ *Cryptococcus spp.* ซึ่งมีสาร (1,3) β-D-glucan เป็นส่วนประกอบของ cell wall อยู่น้อยมาก และสารประกอบ (1,3) β-D-glucan นี้ไม่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม, แบคทีเรีย, และไวรัสชนิดอื่นๆ[16] ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการนำการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วยมาช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามแบบไม่จำเพาะเจาะจงชนิดของรา (panfungus)

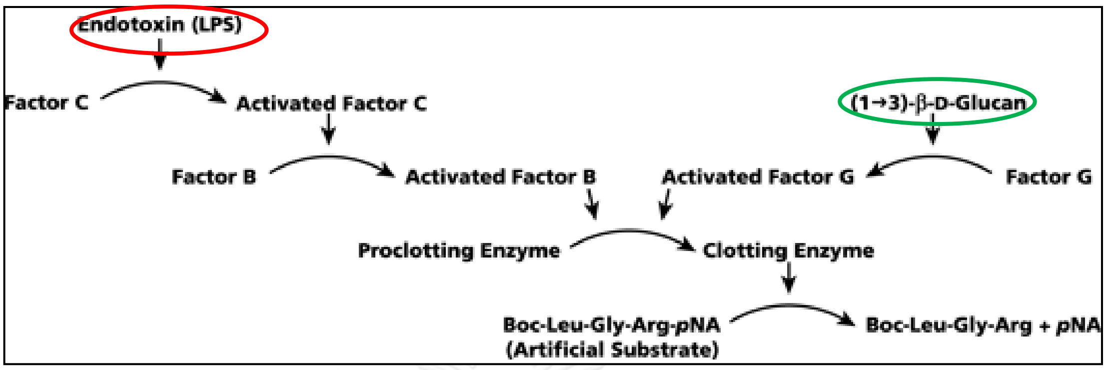
การตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) β-D-glucan อาศัยสารตั้งต้นที่สกัดจากเลือด (amoebocyte) ของแมงดาทะเล (horseshoe crab) ชนิด *Limulus polyphemus* หรือ *Tachypleus tridentalus* โดยอาศัยคุณสมบัติของสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ที่สามารถกระตุ้นกระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation cascade) โดยผ่าน Limulus amoebocyte lysate (LAL) pathway ในเลือดของแมงดาทะเลเหล่านี้ ซึ่งกระบวนการนี้โดยทั่วไปแล้วสาร lipopolysaccharide หรือ endotoxin สามารถกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ coagulation cascade นี้ได้ โดยผ่านการกระตุ้น factor C ส่วนสารประกอบ (1,3) β-D-glucan มีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ coagulation cascade นี้ได้เช่นเดียวกัน แต่โดยผ่านการกระตุ้นทาง factor G[16] โดยสารประกอบ (1,3) β-D-glucan จะไปจับกับ α-subunit ของ factor G ชักนำให้เกิดการกระตุ้น serine protease zymogen β-subunit และไปกระตุ้น proclotting enzyme ต่อเนื่องกันไปจนในที่สุดก็ไปกระตุ้น chromogenic substrate (Boc-Leu-Gly-Arg-p-nitroanilide) ได้สารที่มีสี และสามารถอ่านออกมาเป็นค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (Spectrophotometric assay) [ดังรูปภาพที่ 2] ฉะนั้นการทดสอบเพื่อต้องการหาค่าเฉพาะสารประกอบ (1,3) β-D-glucan จึงต้องกำจัด factor C และ serine protease อื่นๆ ซึ่งอาจจะพบได้ใน serum ของผู้ป่วยที่เรานำมาตรวจ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) หรือผลลบปลอม (false negative) ที่อาจเกิดขึ้นได้ โดยการใช้สารละลายที่มีความเป็นกรดทำปฏิกิริยากับ serum ของผู้ป่วยก่อนเริ่มทำการทดสอบ (pre-treatment) ขั้นตอนนี้จึงถือว่ามีความสำคัญมากสำหรับการทดสอบนี้[17, 18]

รูปภาพที่ 1 แสดงส่วนประกอบของพนังเซลล์ของยีสต์ (Yeast cell wall) ซึ่งประกอบไปด้วยสาร ต่างๆ รวมไปถึงสารประกอบ β-D-glucan ที่อยู่ในชั้นพนังเซลล์
(Obayashi T, et al., Journal of medical and veterinary mycology. 1992;30(4):275-80.[3])



การตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ใน serum ผู้ป่วย ได้ถูกคิดค้นและพัฒนาขึ้นครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นโดย Obayashi และคณะเมื่อปี ค.ศ.1992[3] ผลิตออกมาเป็นชุดตรวจวัด Fungitec G-MK® และได้ผ่านการรับรองมาตรฐานจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and drug administration, FDA) ในปี ค.ศ.1996 ในเวลาต่อมา Associated of Cape Cod ผู้ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกาได้ผลิตชุดตรวจ Fungitell® ออกมา โดยอาศัยหลักการตรวจเช่นเดียวกันแต่ใช้สายพันธุ์แมงดาทะเลคนละชนิดกัน[19] [ดังในตารางที่ 2] และได้ผ่านการรับรองมาตรฐานจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ.2004 นอกจากนี้ยังมีชุดตรวจที่ถูกพัฒนาขึ้นทั้งในประเทศญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา แต่ยังไม่ได้รับการรับรองมาตรฐานจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ตัวอย่างเช่น β-glucan test Wako (Wako Pure Chemical Industries, Japan)[20], β-glucan test Maruha (Maruha Nichiro Foods, Japan), และ Endosafe-PTS glucan (Charles River Laboratories, USA) เป็นต้น

รูปภาพที่ 2 แสดง Limulus amoebocyte lysate (LAL) pathway ของแมงดาทะเล (horseshoe crab) ชนิด *Limulus polyphemus*



(http://www.acciusa.com/img/clinical/LAL_PathwayCascade.png&imgrefurl)

จะเห็นได้ว่า endotoxin [วงลีสีแดง] สามารถกระตุ้น coagulation cascade ได้โดยผ่านการกระตุ้น factor C ส่วนสารประกอบ (1,3) ß-D-glucan [วงลีสีเขียว] สามารถกระตุ้น coagulation cascade ได้เช่นเดียวกัน แต่ผ่านการกระตุ้นทาง factor G ใน LAL pathway

ตารางที่ 2 แสดงชุดการตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan และค่าอ้างอิงที่ผลิตโดยบริษัทต่างๆที่มีใช้ในปัจจุบัน

Trade name	*Product company*	*FDA approved*	*Crab species*	*Cut-off value*
Fungitell	Associated of Cape Cod (USA)	Yes	*Limulus polyphemus*	60-80 pg/ml
Endosafe-PTS glucan	Charles River Laboratories (USA)	No	*Limulus polyphemus*	10-1,000 pg/ml
Fungitec G-MK	Seikagaku Biobusiness (Japan)	Yes	*Tachypleus tridentalus*	20 pg/ml
ß-glucan test Wako	Wako Pure Chemical Industries (Japan)	No	*Tachypleus tridentalus*	11 pg/ml
ß-glucan test Maruha	Maruha Nichiro Foods (Japan)	No	*Tachypleus tridentalus*	11 pg/ml

(http://www.acciusa.com/clinical/fungitell/index.html)

ส่วนผลบวกปลอมของการทดสอบนี้อาจเกิดได้จาก การติดเชื้อในกระแสเลือดจากแบคทีเรียชนิด สเตรปโตคอคคัส (Streptococcal bacteremia), การฟอกไตโดยใช้ cellulose membranes, การปิดบาดแผลโดย cellulose gauze, การได้รับยาฆ่าเชื้อบางชนิดรวมทั้งยาฆ่าเชื้อในกลุ่ม β-lactam, การได้รับอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin), และบางรายงานได้รายงานว่าการได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือดอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมได้เช่นเดียวกัน ส่วนผลลบปลอมอาจเกิดได้จากการติดเชื้อราชนิด Zygomycetes และ *Cryptococcus spp.* ซึ่งมีสาร (1,3) β-D-glucan เป็นส่วนประกอบของ cell wall น้อยมากดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ส่วนการได้รับยาต้านเชื้อรามาก่อนนั้นยังไม่มีหลักฐานยืนยันชัดเจนว่าก่อให้เกิดผลลบปลอมได้(5) การแปลผลในกรณีเหล่านี้จึงควรพิจารณาอย่างระมัดระวัง

หลักเกณฑ์การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามของคณะกรรมการ European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) เมื่อปี 2008(5) และตามข้อแนะนำของการประชุม European Conference on Infections in Leukemia ครั้งที่ 3 (ECIL-3) เมื่อปี 2009 ที่ผ่านมา(4) ได้รวมเอาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) β-D-glucan เป็นหนึ่งในค่าทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เป็นเกณฑ์ช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ด้วยเหตุนี้ในปัจจุบันจึงมีการตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามกันอย่างแพร่หลายมากขึ้นในต่างประเทศ แต่ก็พบว่าการทดสอบโดยการวัดค่า (1,3) β-D-glucan นี้มีการรายงานความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของการทดสอบที่แตกต่างกันอย่างมากในแต่ละรายงาน โดยมีรายงานความไว และความจำเพาะของการทดสอบอยู่ที่ร้อยละ 70-90 และ 50-95 ตามลำดับแตกต่างกันออกไปตามแต่ละการศึกษา(4) ความแตกต่างของผลการรายงานนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้งจำนวนของกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน, ความหลากหลายและความรุนแรงของโรคในกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน และรวมไปถึงค่าทางห้องปฏิบัติการว่าใช้ค่าเท่าไรในการตัดสินใจ (cut-off point value) ว่าเป็นผลบวกหรือลบ เป็นต้น [ดังในตารางที่ 3] แต่ในประเทศไทยนั้นการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) β-D-glucan มีใช้เฉพาะในกลุ่มงานวิจัยเท่านั้น และยังมิได้มีการตรวจวัดค่านี้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป จึงยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยไทย โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่

มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกดังกล่าวมาแล้วข้างต้น

ตารางที่ 3 แสดงค่าการวิเคราะห์ผลการทดสอบการตรวจวัด (1,3) ß-D-glucan ในการช่วยวินิจฉัย invasive fungal infections (IFIs) โดยใช้ชุดตรวจวัดจากบริษัทที่แตกต่างกัน จะเห็นว่ามีค่าแตกต่างกันไปในแต่ละการศึกษา

Commercial kit	*Sensitivity (%)*	*Specificity (%)*	*Positive PV (%)*	*Negative PV (%)*
Case–control studies				
Fungitell	64–78	71–92	72–89	73–77
Fungitec G-MK	90–95	86–100	59–81	96–97
ß-glucan test Wako	NA	NA	NA	NA
Cohort studies				
Fungitell	64–100	45–90	31–61	72–89
Fungitec G-MK	63	76	19	59–81
ß-glucan test Wako	50–55	89–98	56–67	87–96

(Marchetti O, et al., Bone marrow transplantation. 2012;47(6):846-54. [4])

หมายเหตุ: NA= no data available

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

งานวิจัยฉบับนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในแง่การวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบ สำหรับใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ซึ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนี้ และมุ่งหวังว่าผลที่ได้จะสามารถใช้เป็นข้อมูลเพื่อเป็นแนวทางให้กับแพทย์ผู้รักษาใช้ช่วยในการตัดสินใจ เพื่อให้ได้การวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็วที่สุด และนำไปสู่การตัดสินใจให้การรักษาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วย เพื่อหวังผลในการลดอัตราตายและความพิการให้กับผู้ป่วยในกลุ่มเหล่านี้ต่อไป

บทที่ 3
วิธีดาเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

การตรวจประเมินผู้ป่วยในงานวิจัยนี้เก็บรวบรวมข้อมูลจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาใน รพ. จุฬาลงกรณ์ โดยผู้ป่วยที่เข้าร่วมในงานวิจัยนี้จะเป็นผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามคือ ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้ [ดังแผนภูมิที่ 2]

1. กลุ่มตัวอย่างจะได้รับการอธิบายถึงโครงงานวิจัยครั้งนี้ก่อนจะตัดสินใจเข้าร่วมงานวิจัย กลุ่มตัวอย่างที่รับฟังข้อมูลและสมัครใจที่จะเข้าร่วมโครงงานวิจัยให้เซ็นใบยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย [ตามภาคผนวก ก]
2. แพทย์ผู้วิจัยทำการตรวจสอบคุณสมบัติของผู้เข้าร่วมโครงงานวิจัยว่าเป็นไปตามเกณฑ์การคัดเลือก หรือเข้าเกณฑ์การตัดออกหรือไม่ ถ้าผู้เข้าร่วมโครงงานวิจัยถูกตัดออกต้องบันทึกเหตุผลกำกับว่าเหตุใดจึงตัดออก
3. แพทย์ผู้วิจัยทำการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ทบทวนข้อมูลระบบต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูลและบันทึกลงในแบบเก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง [ตามภาคผนวก ข] เพื่อเก็บไว้เป็นข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่างในการวิเคราะห์ภายหลัง
4. เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ แพทย์ผู้วิจัยและทีมแพทย์ผู้รักษาติดตามและประเมินอาการของผู้ป่วย, ตรวจร่างกาย, ตรวจทางห้องปฏิบัติการ, และภาพถ่ายรังสี หากผู้ป่วยมีไข้ หรือมีอาการแสดงที่บ่งชี้ถึงมีการติดเชื้อระหว่างที่เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลต่ำ จะมีการตรวจหาตำแหน่งของการติดเชื้อ และการตรวจทางห้องปฏิบัติการคือ complete blood count (CBC) อาทิตย์ละ 3 ครั้งและ serum galactomannan อาทิตย์ละ 2 ครั้ง, เก็บเลือดของผู้ป่วยและสิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่สงสัยว่าจะมีการติดเชื้อ นำส่งเพาะเชื้อทางจุลชีววิทยาทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา และให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมทันที
5. และถ้าผู้ป่วยมีอาการที่เริ่มสงสัยว่าจะมีการติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์ของงานวิจัย [ตามภาคผนวก ค] ให้ทำการเก็บเลือดเพื่อส่งตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan โดยเก็บเลือดก่อนการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เริ่มให้การรักษาด้วยยาต้านเชื้อราทางหลอดเลือดดำ และให้บันทึกวันที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างเลือดด้วย

6. เมื่อตรวจติดตามและประเมินผู้ป่วยแล้วสงสัยว่าผู้ป่วยอาจเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม แพทย์ผู้วิจัยและทีมแพทย์ผู้รักษาจะต้องรีบตรวจหาตำแหน่งของการติดเชื้อ, การตรวจทางห้องปฏิบัติการ, และส่งตรวจภาพถ่ายรังสีเท่าที่จำเป็น เพื่อช่วยในการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยมีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ EORTC/MSG ปี 2008[(5)] หรือไม่ และตัดสินใจให้การดูแลรักษาด้วยยาปฏิชีวนะรวมไปถึงยาต้านเชื้อราตามแนวทางการรักษาตามมาตรฐานอย่างดีที่สุด

7. แพทย์ผู้วิจัยทำการติดตามผลการตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan และผลการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยรายใดบ้างที่เกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม และได้รับการรักษา รวมไปถึงชนิดของเชื้อราหากสามารถเพาะเชื้อขึ้นได้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

8. นำข้อมูลที่เก็บรวบรวมมาวิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 2 แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่เข้าเกณฑ์คัดเลือก

→ **คัดผู้ป่วยออกตามเกณฑ์การคัดออก**

↓

ซักประวัติ ตรวจร่างกาย ทบทวนข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล [ตามภาคผนวก ข]

↓

เมื่อผู้ป่วยเริ่มมี neutropenia, มีไข้, และเข้าตามเกณฑ์ของงานวิจัย [ตามภาคผนวก ค] ให้ตรวจร่างกาย, ตรวจทางห้องปฏิบัติการ, และภาพถ่ายรังสี เพื่อตรวจหาตำแหน่งของการติดเชื้อ และทำดังนี้

1) Complete blood count (CBC) อาทิตย์ละ 3 ครั้งและ serum galactomannan อาทิตย์ละ 2 ครั้ง
2) เก็บเลือดของผู้ป่วยและสิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่สงสัยว่าจะมีการติดเชื้อ นำส่งเพาะเชื้อทางจุลชีววิทยาทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา และให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมทันที
3) ส่งตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan โดยเก็บเลือดก่อนการให้การรักษาด้วยยาต้านเชื้อราทางหลอดเลือดดำ

↓

เมื่อสงสัยว่าผู้ป่วยอาจเกิด IFIs ให้รีบตรวจหาตำแหน่งของการติดเชื้อ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม และตัดสินใจให้การดูแลรักษาด้วยยาต้านเชื้อราตามความเหมาะสม

CHULALONGKORN UNIVERSITY

↓

ติดตามผล, รวบรวมข้อมูล, วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย

3.2 การรวบรวมข้อมูล

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลทางการแพทย์ของผู้ป่วยจะถูกเก็บรวบรวมจากทั้งการซักประวัติเพิ่มเติมจากผู้ป่วยและจากเวชระเบียนของผู้ป่วยเอง โดยเก็บรวบรวมข้อมูลด้านต่างๆดังนี้คือ เพศ, อายุ, โรคประจำตัวของผู้ป่วย ข้อมูลเกี่ยวกับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามของผู้ป่วย เช่น ผู้ป่วยมีภาวะ neutropenia นานเกินกว่า 4 วัน, หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกและมีไข้ (T >38 °C) นานเกินกว่า 4 วัน แม้ว่าจะได้รับยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสมแล้วก็ตาม เป็นต้น ข้อมูลเกี่ยวกับประวัติภาวะการเจ็บป่วยก่อนหน้านี้ว่า เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามมาก่อนหรือไม่ และถ้ามีให้บันทึกด้วยว่าผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยตั้งแต่เมื่อไร, ในช่วง 30 วันที่ผ่านมาเคยมีประวัติ neutropenia มาก่อนหรือไม่ ข้อมูลเกี่ยวกับการได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนหน้านี้ ไม่ว่าจะเป็นยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย หรือยาต้านเชื้อรา ถ้ามีให้บันทึกเกี่ยวกับระยะเวลาที่ได้รับ วันที่เริ่มต้นให้ยาปฏิชีวนะและวันที่หยุดยายาปฏิชีวนะไป เก็บรวบรวมข้อมูลเหล่านี้ไว้เป็นข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเพื่อนำไปวิเคราะห์ในงานวิจัยต่อไป

อุปกรณ์ และชุดตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) ß-D-glucan

การตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) ß-D-glucan ใน serum ผู้ป่วย ใช้ชุดตรวจวัด Fungitell® ของผู้ผลิต Associated of Cape Cod โดยชุดตรวจวัดนี้ได้ผ่านการรับรองมาตรฐานจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and drug administration, FDA) ปี ค.ศ.2004 ในชุดตรวจจะประกอบไปด้วย Fungitell® reagent, Glucan standard, 1.2M KCl solution, 0.25M NaOH solution, และ 96-well microplates น้ำยาที่ใช้ทำการทดสอบทั้งหมดให้เก็บในที่มีดอุณหภูมิ 2-8 °C ส่วน Fungitell® reagent เมื่อผสมแล้วควรใช้ภายใน 2 ชั่วโมง และสามารถเก็บแช่แข็งในอุณหภูมิ -20 °C ไว้ใช้ได้นาน 20 วัน เมื่อจะใช้ก็ให้นำน้ำยาที่แช่แข็งไว้มาละลายที่อุณหภูมิห้องก่อนจะนำน้ำยาไปทำการทดสอบ

การตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) ß-D-glucan

การทดสอบ (1,3) ß-D-glucan ใน serum ผู้ป่วย โดยใช้ชุดตรวจวัด Fungitell® นั้น ให้ปฏิบัติตามขั้นตอนเป็นไปตามคำแนะนำของผู้ผลิต Associated of Cape Cod กล่าวโดยสรุปคือ เริ่มจากการเตรียมสารละลาย pre-treatment solution ซึ่งประกอบไปด้วย 1 ส่วนของ 1.2M KCl

solution ผสมกับอีก 1 ส่วนของ 0.25M NaOH solution ต่อจากนั้นนำ serum ของผู้ป่วยที่ต้องการทำการทดสอบมาจำนวน 5 μL. โดยใช้ pipette ใส่ serum ผู้ป่วยลงใน 96-well microtiter plate และทำการเติมสารละลาย pre-treatment solution ที่เตรียมไว้จำนวน 20 μL. ลงไปผสมกับ serum ของผู้ป่วย และนำไป incubate ไว้ที่อุณหภูมิ 37 ℃ เป็นเวลานาน 10 นาที ต่อจากนั้นก็นำมาเติมด้วยสารสกัด Limulus amebocyte lysate หรือ Fungitell® reagent ลงไป แล้วนำ microplate ที่ได้ผสมสารต่างๆลงไปแล้วไปเข้าเครื่อง spectrophotometer [Molecular Devices (Sunnyvale, CA) model 384] เพื่อวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm. ที่อุณหภูมิ 37 ℃ เป็นเวลา 40 นาที เครื่องจะทำการวิเคราะห์โดยใช้ Softmax software, version 4.7.1 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ในตัวอย่างตรวจกับค่าของ standard curve โดยถ้าค่าความเข้มข้นของสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ในตัวอย่างตรวจออกมามีค่า <60 pg/ml ถือว่าผลเป็น negative, 60-79 pg/ml ถือว่าผลเป็น indetermine, และถ้าค่าออกมา ≥80 pg/ml ถือว่าผลเป็น positive

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการศึกษา

ในช่วงระยะเวลาประมาณ 8 เดือน ตั้งแต่ระหว่างวันที่ 3 กรกฎาคม พ.ศ. 2557 ถึง 28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2558 ทางคณะผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่อยู่ระหว่างรับการรักษาและดูอาการในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นจำนวนทั้งสิ้น 46 ราย ซึ่งน้อยกว่าจำนวนตัวอย่างที่คำนวณไว้แต่แรกคือจำนวน 54 ราย คิดเป็นร้อยละ 85.2 ของจำนวนตัวอย่างที่คาดการณ์ไว้แต่แรก

ส่วนที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่ศึกษา

ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เข้าร่วมในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนทั้งสิน 46 รายนั้นพบว่าเป็นผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันจำนวน 30 รายคิดเป็นร้อยละ 65.2 ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด, ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดชนิดอื่นๆ ตัวอย่างเช่น ผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma), ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดชนิดมัลติเพิล มัยอิโลมา (multiple myeloma) เป็นต้น อีกจำนวน 9 รายคิดเป็นร้อยละ 19.6 ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด, และที่เหลือเป็นผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่เข้ารับการปลูกถ่ายไขกระดูกจำนวน 7 รายคิดเป็นร้อยละ 15.2 ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด ในจำนวนผู้ป่วย 46 รายนี้คณะผู้วิจัยได้มีการติดตามและประเมินตลอดการเข้ารับการรักษาของผู้ป่วยไม่ว่าจะเป็นการเข้ารับการรักษาด้วยเคมีบำบัด หรือเข้ารับการรักษาเพื่อการปลูกถ่ายไขกระดูก โดยพบว่าผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์การวินิจฉัย IFIs ของ EORTC/MSG ปี 2008[5] เป็นจำนวนทั้งสิ้น 17 รายคิดเป็นร้อยละ 37 ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด ในจำนวนนี้เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยแบบระดับ proven IFIs เป็นจำนวน 5 ราย ซึ่งตรวจพบว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามจากเชื้อแอสเปอร์จิลลัส (invasive aspergillosis) จำนวน 2 ราย โดยตรวจพบว่าเป็นการติดเชื้อราที่บริเวณโพรงจมูกและไซนัส (*Aspergillus flavus* sinusitis) จำนวน 1 รายและจากการติดเชื้อราเป็นฝีที่สมอง (*A. fumigatus* brain abscess) อีกจำนวน 1 ราย ผู้ป่วยอีก 3 รายตรวจพบว่าเป็นการติดเชื้อราที่บริเวณโพรงจมูกและไซนัสจากเชื้อราชนิดไรโซปัส (*Rhizopus sp.*) และชนิดอัลเทอร์นาเรีย (*Alternaria alternate*) อย่างละ 1 รายและอีก 1 รายเป็นการติดเชื้อราที่ปอดจากเชื้อฮิสโตพลาสมา (pulmonary histoplasmosis), ส่วนที่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยแบบระดับ probable IFIs มีจำนวน 9 ราย โดยในจำนวนนี้ 1 รายตรวจพบและสงสัยการติดเชื้อราชนิดแคนดิดา ที่บริเวณตับและม้าม (hepatosplenic candidiasis) ส่วนที่เหลืออีก 8 รายตรวจพบและสงสัยภาวะการติดเชื้อราที่ปอดจากเชื้อแอสเปอร์จิลลัส (invasive pulmonary aspergillosis), และที่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยแบบระดับ possible IFIs มีจำนวน 3 รายซึ่งสงสัยว่าอาจมีการติดเชื้อราชนิดลุกลาม โดยทั้ง 3 รายมีภาพถ่ายทางรังสีของปอดที่ผิดปกติ และในจำนวนนี้ 1

รายที่มีผื่นผิวหนังอักเสบ (panniculitis) ร่วมด้วยทำให้สงสัยว่าอาจเกิดจากการติดเชื้อรา ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4 และตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้ง 46 ราย และระดับที่แบ่งตามเกณฑ์การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามของ EORTC/MSG ปี 2008[(5)]

Characteristic	Finding
No. of patients	46
Sex Male: Female	21:25
Age, years; mean (SD)	44.52 (13.32)
Underlying disease	
▪ AML/ALL	30 (65.22)
▪ Hematologic malignancy	9 (19.56)
▪ Hematopoietic stem cell transplantation	7 (15.22)
Duration of neutropenia before diagnosis of IFIs, days; mean (SD)	11.74 (8.20)
Duration of fever before diagnosis of IFIs, days; mean (SD)	11.04 (6.44)
Duration of antibiotic before diagnosis of IFIs, days; mean (SD)	7.26 (5.17)
Invasive fungal infections	17 (36.96)
▪ Proven IFIs	5
Invasive aspergillosis	2
Other fungal infection	3[a]
▪ Probable IFIs	9
Invasive aspergillosis	8
Other fungal infection	1[b]
▪ Possible IFIs	3[c]
Bacteremia without evidence of IFIs	12 (26.09)
Febrile neutropenia without microbiologically documented	17 (36.96)

Note. Data are no. (%) of patients, unless otherwise indicated. IFIs; Invasive fungal infections

[a] *Alternaria alternate, Rhizopus sp.*, and *Histoplasma capsulatum* infection

[b] Probable IFIs form hepatosplenic candidiasis

[c] Possible IFIs from 2 pulmonary infections and 1 disseminated infection

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลรายละเอียดของผู้ป่วยทั้ง 17 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008[5]

No.	Age, years	Sex	Hematological Disorder	Treatment	IFI category	Site of infection	Fungus isolation or suggestion	Duration of neutropenia[a]	Antifungal agent	GM index	BG level (pg/ml)	Outcome
1	60	M	Relapsed AML	CMT	Proven IFI	Sinusitis	*Aspergillus flavus*	13	Voriconazole	0.107	<7.812	Survived
2	36	M	ALL	CMT	Proven IFI	Sinusitis	*Alternaria alternata*	8	Amphotericin-B	0.126	43.748	Survived
3	56	M	Lymphoma	CMT	Proven IFI	Brain abscess	*Aspergillus fumigatus*	5	Amphotericin-B	2.105	25.270	Died
4	59	F	AML	CMT	Proven IFI	Pulmonary	Histoplasmosis	22	Voriconazole	2.150	<7.812	Survived
5	54	F	AML	CMT	Proven IFI	Sinusitis	*Rhizopus sp.*	10	Amphotericin-B	0.123	19.371	Survived
6	50	F	AML	CMT	Probable IFI	Hepatosplenic	IC	5	Amphotericin-B	0.190	<7.812	Survived
7	32	M	AML	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	14	Amphotericin-B	0.16	30.292	Survived
8	55	M	Lymphoma	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	8	Voriconazole	0.555	278.276	Died
9	42	M	AML	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	14	Amphotericin-B	1.479	53.551	Survived
10	37	M	Refractory ALL	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	1	Itraconazole	0.104	26.717	Died
11	24	F	ALL	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	9	Amphotericin-B	0.105	<7.812	Survived
12	32	M	AML	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	12	Amphotericin-B	0.494	72.066	Survived
13	48	F	AML	CMT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	14	Amphotericin-B	0.200	25.085	Died
14	48	M	AML	HSCT	Probable IFI	Pulmonary	IPA	26	Voriconazole	1.751	>523.438	Survived
15	29	F	AML	CMT	Possible IFI	Pulmonary	IPA	14	Voriconazloe	0.190	14.600	Died
16	29	F	ALL	CMT	Possible IFI	Pulmonary	IPA	4	Amphotericin-B	0.324	35.008	Survived
17	23	F	AML	CMT	Possible IFI	Pulmonary + Skin	Disseminated IFI	11	Amphotericin-B	0.273	<7.812	Survived

Note. M; Male, F; Female, AML; Acute myeloid leukemia, ALL; Acute lymphocytic leukemia, CMT; Chemotherapy, HSCT; Hematopoietic stem cell transplantation, IFI; Invasive fungal infection,
IC; Invasive candidiasis, IPA; invasive pulmonary aspergillosis, GM; Galactomannan, BG; (1→3)-β-D-glucan
[a] Duration of neutropenia before diagnosis of IFIs, days

Chulalongkorn University

ถ้าดูที่ระยะเวลาที่ผู้ป่วยเริ่มมีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลต่ำในเลือด (neutropenia) ไปจนถึงได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะติดเชื้อราชนิดลุกลามจะพบว่ามีตั้งแต่ 1-36 วัน โดยเฉลี่ยเท่ากับ 11.74 วัน ขณะที่ระยะเวลาตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะติดเชื้อราชนิดลุกลามจะพบว่ามีตั้งแต่ 3-25 วัน โดยเฉลี่ยเท่ากับ 11.04 วัน และถ้าดูที่ระยะเวลาการได้รับยาปฏิชีวนะทางหลอดเลือดดำไปจนถึงได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะติดเชื้อราชนิดลุกลามจะพบว่ามีตั้งแต่ 1-29 วัน โดยเฉลี่ยเท่ากับ 7.26 วันก่อนการได้รับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามและได้รับการรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อราทางหลอดเลือดดำตามมา

ส่วนที่ 2 ผลของการศึกษาข้อมูลของการตรวจหาค่า (1,3) β-D-glucan ใน serum ผู้ป่วย

จากผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่เข้าร่วมในการศึกษาทั้งหมดจำนวน 46 รายนั้นพบว่า มีผู้ป่วยจำนวน 3 รายที่ให้ผลบวกในการทดสอบตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan (BG) ใน serum หรือคิดเป็นร้อยละ 6.5 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยใช้ค่าการตรวจที่มากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml จึงจะถือว่าการทดสอบนั้นให้ผลบวก โดยผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบ BG เป็นบวกนี้เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs ตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008[5] จำนวน 2 ราย ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 11.76 ของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย IFIs ทั้งหมดจาก 17 ราย แต่อีก 1 รายที่ให้ผลการทดสอบ BG เป็นบวกนั้นเป็นผู้ป่วยที่มีภาวะไข้ขณะที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำแต่ตรวจไม่พบหลักฐานของการติดเชื้อ (Febrile neutropenia without being microbiologically documented, FNM) และที่ค่าการตรวจวัด BG ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml ถือเป็นผลบวกนั้น ถ้าคำนวณเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามระดับ proven IFIs และระดับ probable IFIs เท่านั้น ไม่คิดรวมระดับ possible IFIs จะพบว่า ค่าความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), ค่า positive predictive value (PPV), และค่า negative predictive value (NPV) ของเครื่องมือตรวจนี้อยู่ที่ร้อยละ 14.28, 96.87, 66.67, และ 72.09 ตามลำดับ และพบว่าค่า likelihood ratio (LR) of positive และค่า likelihood ratio (LR) of negative มีค่าเท่ากับ 4.58 และ 0.88 ตามลำดับ ในขณะที่ถ้าปรับค่าการตรวจวัด BG ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml ให้ลดลงมาเหลือเป็นมากกว่าหรือเท่ากับ 60 pg/ml ถือให้เป็นผลบวก (cut-off point) นั้นจะพบว่า มีผู้ป่วยที่ให้ผลบวกเพิ่มเป็น 7 ราย โดย 4 รายที่เพิ่มขึ้นมานั้นเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs จำนวน 2 ราย, ผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (bacteremia) จำนวน 1 ราย, และอีก 1 รายเป็นผู้ป่วยที่จัดอยู่ในกลุ่ม FNM ที่ค่าการตรวจมากกว่าหรือเท่ากับ 60 pg/ml ถือให้เป็นผลบวกนั้นพบว่า ค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจมีการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดคืออยู่ที่ร้อยละ 21.43, 87.50, 42.86, และ 71.79 ตามลำดับ

ในอีกทางหนึ่งถ้าดูค่าการตรวจวัด serum galactomannan (GM) ในเลือดผู้ป่วยจะพบว่า มีผู้ป่วยจำนวน 6 รายที่ให้ผลบวกในการทดสอบนี้ หรือคิดเป็นร้อยละ 13.04 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยค่า OD ratio ของ GM ที่มีค่ามากกว่า 0.5 จึงถือว่าให้ผลบวกต่อการทดสอบ ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ที่ให้ผลการ

ทดสอบ GM เป็นบวกนั้นเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ proven IFIs จำนวน 2 ราย, เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs จำนวน 3 ราย, และอีก 1 รายที่ให้ผลการทดสอบ GM เป็นบวกนั้นเป็นผู้ป่วยที่จัดอยู่ในกลุ่ม FNM และเมื่อคำนวณ ค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจ GM นี้จะพบว่าอยู่ที่ร้อยละ 35.71, 96.87, 83.33, และ 77.50 ตามลำดับ และพบว่าค่า LR of positive และค่า LR of negative มีค่าเท่ากับ 11.43, และ 0.66 ตามลำดับ แต่ถ้านำผลการทดสอบทั้ง 2 การทดสอบมาพิจารณา คือผู้ป่วยอาจมีผลบวกจากการทดสอบ BG และ/หรือการทดสอบ GM ร่วมด้วยจะพบว่าเมื่อคำนวณ ค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจทั้ง 2 อย่างร่วมกันจะมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 35.71, 93.75, 71.42, และ 76.92 ตามลำดับ

และเมื่อนำข้อมูลผลการทดสอบ BG ในเลือดของผู้ป่วยมาพิจารณาร่วมกับปัจจัยทางคลินิกบางอย่างตัวอย่างเช่น การได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม, การมีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำมากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม, หรือการมีไข้มากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม เป็นต้น โดยถ้าผู้ป่วยมีปัจจัยทางคลินิกเหล่านี้ร่วมด้วยจะทำให้ค่าความสามารถของชุดเครื่องมือตรวจมีค่าเพิ่มมากขึ้นได้ โดยพบว่าในผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามมีจำนวน 17 รายจากผู้ป่วยทั้งหมด 46 ราย ใน 17 รายนี้มีผู้ป่วยจำนวน 2 รายที่ให้ผลการทดสอบ BG มีค่าเป็นบวก และเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs ทั้ง 2 ราย เมื่อคำนวณค่าความไว, ค่าความจำเพาะ , ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจในผู้ป่วยกลุ่มนี้จะพบว่าอยู่ที่ร้อยละ 28.57, 100, 100, และ 66.67 ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันถ้าพิจารณาในผู้ป่วยที่มีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำมากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามซึ่งมีจำนวน 28 รายจากผู้ป่วยทั้งหมด 46 ราย ในจำนวน 28 รายนี้ก็พบว่า มีผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบ BG มีค่าเป็นบวกจำนวน 2 ราย และทั้ง 2 รายเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs เช่นเดียวกัน เมื่อคำนวณค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจในผู้ป่วยกลุ่มนี้จะพบว่าอยู่ที่ร้อยละ 18.18, 100, 100, และ 66.67 ตามลำดับ และถ้าพิจารณาในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะไข้มากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามซึ่งกลุ่มนี้มีจำนวน 28 รายจากผู้ป่วยทั้งหมด 46 ราย ในผู้ป่วย 28 รายนี้ก็พบว่ามีผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบ BG มีค่าเป็นบวกจำนวน 2 ราย และทั้ง 2 รายก็เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs เช่นเดียวกัน เมื่อคำนวณค่าความไว, ค่าความจำเพาะ,

ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจในผู้ป่วยกลุ่มนี้แล้วจะพบว่าอยู่ที่ร้อยละ 25, 100, 100, และ 69.23 ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นถ้าพิจารณาในกลุ่มผู้ป่วยที่มีปัจจัยทางคลินิกทั้ง 3 อย่างร่วมกันที่กล่าวมาคือ มีการได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่า 7 วัน, การมีภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำมากกว่า 7 วัน, และการมีไข้มากกว่า 7 วันก่อนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม โดยพบว่าผู้ป่วยจำนวน 14 รายที่มีปัจจัยทางคลินิกทั้ง 3 อย่างร่วมกัน จากจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 46 ราย ในผู้ป่วย 14 รายนี้ก็พบว่ามีผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบ BG มีค่าเป็นบวกจำนวน 2 ราย และเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ probable IFIs ทั้ง 2 ราย เมื่อคำนวณค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจในผู้ป่วยทั้ง 14 รายที่มีปัจจัยทางคลินิก 3 อย่างร่วมกันแล้วจะพบว่ามีค่าอยู่ที่ร้อยละ 33.33, 100, 100, และ 66.67 ตามลำดับ ดังที่แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลค่าความสามารถของเครื่องมือตรวจ (1,3)-B-D-glucan (BG) ในเลือดผู้ป่วย ในข้อกำหนดที่แตกต่างกัน

Condition	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
1.BG with use a cutoff value ≥80 pg/ml	14.28	96.87	66.67	72.09
2.BG with use a cutoff value ≥60 pg/ml	21.43	87.50	42.86	71.79
3.BG (≥80 pg/ml) and/or GM positive	35.71	93.75	71.42	76.92
4.Patients have received empiric antibiotics >7 days before diagnosis of IFIs	28.57	100	100	66.67
5.Patients with neutropenia >7 days before diagnosis of IFIs	18.18	100	100	65.38
6.Patients have persistent fever >7 days before diagnosis of IFIs	25	100	100	69.23
7.Patients with 3 clinical condition[a]	33.33	100	100	66.67

Note. BG; (1→3)-β-D-glucan, GM; Serum galactomannan

[a] 3 Clinical condition; patients with received empiric antibiotics, neutropenia, and persistent fever >7 days before diagnosis of IFIs

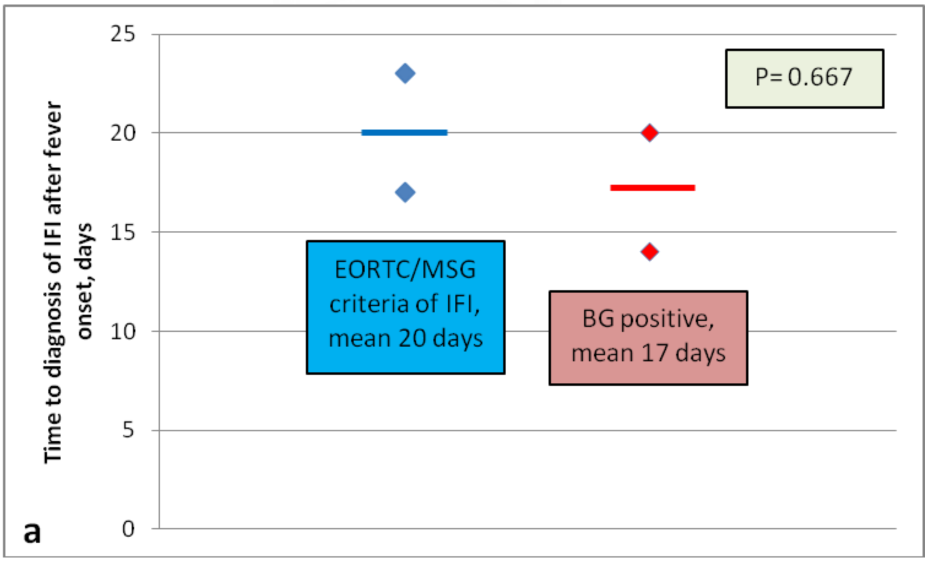
ส่วนที่ 3 ผลของการศึกษาระดับความเข้มข้นของ (1,3) β-D-glucan ในเลือดผู้ป่วย และระยะเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม

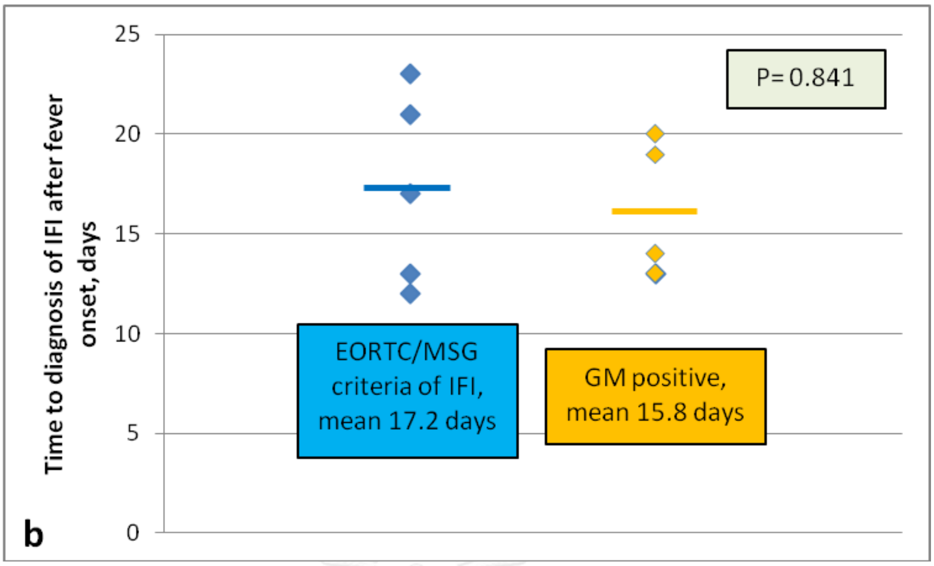
เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของ (1,3) β-D-glucan (BG) ในเลือดผู้ป่วยที่ตรวจวัดได้จะพบว่าระดับความเข้มข้นของ BG ในเลือดผู้ป่วยที่ตรวจวัดได้ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (IFIs) จะมีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วย bacteremia และกลุ่มผู้ป่วย FNM ดังนี้คือ 80.65, 23.02, และ 33.91 pg/ml ตามลำดับ แม้จะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม โดยค่า P-value ของกลุ่ม IFIs เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วย bacteremia มีค่า P= 0.350 และถ้ากลุ่ม IFIs เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วย FNM มีค่า P= 0.872 ในทำนองเดียวกันเมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของ serum galactomannan (GM) ในเลือดผู้ป่วยที่ตรวจวัดออกมาเป็น OD ratio ก็พบว่าระดับค่า OD ratio ของ GM ในเลือดผู้ป่วยที่ตรวจวัดได้ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย IFIs จะมีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วย bacteremia และกลุ่มผู้ป่วย FNM ดังนี้คือ 0.666, 0.257 และ 0.214 ตามลำดับ แม้จะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน โดยค่า P-value ของกลุ่ม IFIs เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วย bacteremia มีค่า P= 0.685 และถ้ากลุ่ม IFIs เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วย FNM มีค่า P= 0.418

ในเรื่องระยะเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนั้น โดยถ้าพิจารณาในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามและให้ผลการทดสอบ BG เป็นบวกที่ระดับค่า BG มากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml พบว่ามีจำนวน 2 รายจากผู้ป่วย IFIs 17 ราย ในกลุ่มนี้ถ้านับเป็นจำนวนวันตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ให้การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008[(5)] และเริ่มให้การรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อราทางหลอดเลือดดำ พบว่าเวลาเฉลี่ยที่ทำการวินิจฉัยได้คือ 20 วัน ในขณะที่ถ้านับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ผู้ป่วยให้ผลบวกกับการทดสอบ BG พบว่าเวลาเฉลี่ยที่ได้ผลการทดสอบ BG เป็นบวกคือ 17 วัน ซึ่งเร็วกว่าการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามโดยอาศัยการวินิจฉัยตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008 เป็นเวลาเฉลี่ย 3 วัน แม้ว่าเวลาเฉลี่ยของ 2 กลุ่มนี้เมื่อเปรียบเทียบกันแล้วจะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม โดยค่า P-value อยู่ที่ P= 0.667 ในทำนองเดียวกันถ้าพิจารณาในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามและให้ผลการทดสอบ GM เป็นบวกที่ระดับค่า OD ratio ของ GM มากกว่า 0.5 จะพบว่ามีจำนวนผู้ป่วย 5 รายจากผู้ป่วย IFIs จำนวน 17 ราย ในกลุ่มนี้

จำนวนวันตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ให้การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008 และเริ่มให้การรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อราทางหลอดเลือดดำ พบว่าเวลาเฉลี่ยที่ทำการวินิจฉัยได้คือ 17.2 วัน ในขณะที่ถ้านับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ผู้ป่วยให้ผลบวกกับการทดสอบ GM พบว่าเวลาเฉลี่ยที่ได้ผลการทดสอบ GM เป็นบวกคือ 15.8 วัน ซึ่งเร็วกว่าการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามโดยอาศัยการวินิจฉัยตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008 เป็นเวลาเฉลี่ย 1.4 วัน แม้ว่าเวลาเฉลี่ยของ 2 กลุ่มนี้เมื่อเปรียบเทียบกันแล้วจะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน โดยค่า P-value อยู่ที่ P= 0.841 ดังแสดงในกราฟที่ 1

กราฟที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบระยะเวลาในกลุ่มผู้ป่วยที่นับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ให้การวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามโดยอาศัยการวินิจฉัยตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008[5] เปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่นับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ผลการทดสอบ (1→3)-β-D-glucan ให้ผลบวก [BG ≥80 pg/ml] (a), และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่นับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้วันแรกไปจนถึงวันที่ผลการทดสอบ serum galactomanna (GM) ให้ผลบวก [GM OD ratio >0.5] (b). เส้นแถบสีแนวนอนแสดงถึง; mean values





จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
บทวิเคราะห์

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปแล้วว่าได้มีการรวมเอาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) ß-D-glucan (BG) เป็นหนึ่งในค่าทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เป็นเกณฑ์ช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม แต่ก็พบว่าการทดสอบโดยการวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วยนั้นมีการรายงานค่าความสามารถของเครื่องมือตรวจแตกต่างกันอย่างมากในแต่ละรายงาน โดยก่อนหน้านี้มีการศึกษาและรายงานค่าความไว (sensitivity) ของการทดสอบอยู่ที่ร้อยละ 55–100, ค่าความจำเพาะ (specificity) ของการทดสอบอยู่ที่ร้อยละ 87–93, ค่า positive predictive value (PPV) อยู่ที่ร้อยละ 40–84, และ negative predictive value (NPV) อยู่ที่ร้อยละ 75–100 แตกต่างกันออกไปตามแต่ละการศึกษา[21, 22] ความแตกต่างของผลการรายงานในแต่ละการศึกษานั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้งจำนวนของกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน, ความหลากหลายและความรุนแรงของโรคในกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน, และรวมไปถึงค่าทางห้องปฏิบัติการว่าใช้ค่าเท่าไรในการตัดสินใจ (cut-off point value) ว่าเป็นผลบวกหรือลบ เป็นต้น แต่ในประเทศไทยนั้นการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยนั้นยังมิได้มีการตรวจวัดในห้องปฏิบัติการทั่วไป แต่มีใช้เฉพาะในกลุ่มงานวิจัยเท่านั้น จึงยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยไทย โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกดังกล่าวมาแล้วข้างต้น

การศึกษานี้จึงได้เก็บรวบรวมผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะ neutropenia หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่อยู่ระหว่างรับการรักษาและดูอาการในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นจำนวนทั้งสิ้น 46 ราย แม้ว่าจำนวนผู้ป่วยที่เก็บรวบรวมมานี้จะน้อยกว่าจำนวนตัวอย่างที่คำนวณไว้แต่แรกคือจำนวน 54 ราย ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 85.2 ของจำนวนตัวอย่างที่คาดการณ์ไว้แต่แรก แต่เนื่องจากได้กำหนดค่าความผิดพลาดที่ยอมรับได้ (acceptable error) ของการศึกษานี้เท่ากับร้อยละ 20 จึงไม่น่าส่งผลกระทบต่อการแปรผลการศึกษาในครั้งนี้ และจากผลการศึกษาการตรวจวัดค่า (1,3) ß-D-glucan ในเลือดผู้ป่วยถ้าใช้ค่าการตรวจวัด BG ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml ถือเป็นผลบวกนั้นถ้าคำนวณเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อ

ราชนิดลุกลามระดับ proven IFIs และระดับ probable IFIs เท่านั้น ไม่คิดรวมระดับ possible IFIs จะพบว่า ค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจนี้จะมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 14.28, 96.87, 66.67, และ 72.09 ตามลำดับ และพบว่าค่า likelihood ratio (LR) of positive และค่า likelihood ratio (LR) of negative มีค่าเท่ากับ 4.58 และ 0.88 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่าความไวของการทดสอบนี้ดูมีค่าต่ำกว่าการศึกษาที่ผ่านๆมา แต่ในขณะที่ค่าความจำเพาะของการทดสอบนี้มีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลที่เคยมีการศึกษาก่อนหน้านี้[(19)] ในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าค่าความไวของการทดสอบ BG มีค่าค่อนข้างต่ำอาจเป็นเพราะเหตุผลหลายประการ ประการแรกอาจเป็นเพราะเวลาที่เลือกเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหาระดับ BG ยังมีความไม่เหมาะสมเพียงพอคืออาจจะเก็บเลือดในเวลาที่เร็วเกินไป ในขณะที่ระดับของ BG ในเลือดของผู้ป่วยยังขึ้นไม่ถึงระดับที่จะให้ผลบวกในการทดสอบคือ BG มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml และไม่ได้มีการตรวจระดับ BG ซ้ำในเวลาต่อมา (serial blood samplings) ซึ่งในการศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าการเก็บตัวอย่างเลือดซ้ำหลายครั้งตัวอย่างเช่น เก็บตัวอย่างเลือดซ้ำทุกอาทิตย์ อาทิตย์ละ 1-2 ครั้งในขณะที่ผู้ป่วยอยู่ในภาวะ neutropenia จะช่วยเพิ่มความไวของการทดสอบระดับ BG ในเลือดของผู้ป่วยได้[(22, 23)] นอกจากนี้ก็ขึ้นอยู่กับค่าในการตัดสินใจว่าจะให้เป็นผลบวกหรือผลลบ (cut-off point) ของการทดสอบนั้นๆ ในการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าถ้าปรับ cut-off point จากค่า BG ที่มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml ให้ถือเป็นผลบวก ลดลงมาเป็นค่า BG ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 60 pg/ml ให้ถือเป็นผลบวก ค่าความไวของการทดสอบจะเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 14.28 มาเป็น 21.43 ในขณะที่ค่าความจำเพาะของการทดสอบจะลดลงคือจากร้อยละ 96.87 มาเป็น 87.50 ซึ่งก็สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้[(6)] ดังนั้นค่า cut-off point ที่เหมาะสมต่อการทดสอบคงต้องพิจารณาว่าต้องการการทดสอบนั้นเพื่อประโยชน์ในการช่วยเป็นเครื่องมือในการตรวจคัดกรองโรค (screening test) ซึ่งต้องการค่าความไวของการทดสอบนั้นมากๆ หรือเพื่อประโยชน์ในการช่วยเป็นเครื่องมือตรวจในการวินิจฉัยโรค (confirmatory test) ซึ่งต้องการค่าความจำเพาะของการทดสอบนั้นมากๆ เช่นเดียวกัน อีกประการหนึ่งคืออาจเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้มีขนาดกลุ่มตัวอย่างน้อยเกินไป ซึ่งอาจส่งผลทำให้ไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของการศึกษาเปรียบเทียบค่าต่างๆได้อย่างชัดเจน และถ้าดูจากผลการทดสอบของ serum galactomannan (GM) ในการศึกษานี้จะพบว่ามีค่าความไวของเครื่องมือตรวจนี้อยู่ที่ร้อยละ 35.71, ค่าความจำเพาะอยู่ที่ร้อยละ 96.87%, ค่า PPV อยู่ที่ร้อยละ 83.33, และค่า

NPV อยู่ที่ร้อยละ 77.50 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการทดสอบการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วย คือค่าความไวของการทดสอบที่ดูค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ [22, 24] ซึ่งอาจจะอธิบายได้จากถ้าใช้เกณฑ์ในการวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลาม (IFIs) จากพื้นฐานการตรวจร่างกายและจากภาพถ่ายทางรังสีประกอบกันเพียงอย่างเดียวอาจทำให้แพทย์ผู้ทำการดูแลรักษาผู้ป่วยให้การวินิจฉัยภาวะนี้มากกว่าความเป็นจริง (over diagnosis) และอาจนำไปสู่การให้การรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อราโดยไม่จำเป็น ประการสุดท้ายในการศึกษานี้มีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในระดับ proven IFIs ตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ EORTC/MSG ปี 2008[5] จำนวน 1 รายที่ภายหลังสามารถระบุเชื้อที่เป็นสาเหตุได้ว่าเกิดจากเชื้อราชนิดไรโซปัส (*Rhizopus sp.*) ซึ่งโดยธรรมชาติของราชนิดนี้จะมีสารประกอบ (1,3) β-D-glucan ในพนังเซลล์ (cell wall) ที่น้อยมาก จึงทำให้การตรวจทดสอบวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยที่ติดเชื้อราชนิดนี้จะให้ผลการทดสอบเป็นลบ ซึ่งการศึกษานี้ไม่ได้ตัดผู้ป่วยรายนี้ออกจึงอาจทำให้ได้ค่าความไวของการทดสอบ BG ที่น้อยลงไป

ที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งในผลของการศึกษานี้คือ ถ้าอาศัยการทดสอบทั้ง 2 ชนิดร่วมกันคือผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบจากการตรวจวัดค่า BG ในเลือดเป็นบวก ที่ค่า cut-off point มากกว่าหรือเท่ากับ 80 pg/ml และ/หรือให้ผลบวกจากการตรวจวัดค่า GM จะพบว่าสามารถเพิ่มค่าความสามารถของการทดสอบขึ้นได้ โดยจากค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV ของเครื่องมือตรวจ BG ให้ผลบวกอย่างเดียวมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 14.28, 96.87, 66.67, และ 72.09 ตามลำดับ จะเพิ่มขึ้นมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 35.71, 93.75, 71.42, และ 76.92 ตามลำดับถ้าใช้การทดสอบเป็นบวกจากการตรวจวัดค่า BG ในเลือดและ/หรือเป็นบวกจากการตรวจวัดค่า GM นอกจากนี้ถ้าผลการทดสอบ BG และการทดสอบ GM ให้ผลเป็นบวกในผู้ป่วยรายเดียวกันยิ่งเป็นการยืนยันผลการตรวจซึ่งกันและกันว่าผู้ป่วยมีภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นจริง ไม่ได้เกิดจากผลการทดสอบที่เป็นผลบวกล้วง (false-positive results) จากสาเหตุอื่นๆ ที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อราในร่างกายผู้ป่วยจริง[22, 25] ในผู้ป่วยบางรายตัวอย่างเช่น ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ, ผู้ป่วยที่มีภาวะ neutropenia อยู่นาน, หรือแม้แต่ผู้ป่วยที่มีไข้สูงลอยอยู่เป็นเวลานานแม้ให้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมแล้วก็ตาม เป็นต้น ผู้ป่วยที่มีปัจจัยทางคลินิกเหล่านี้จะมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามมากขึ้นกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกเหล่านี้[13] จากผลการศึกษาในครั้ง

นี้จะพบว่าถ้าผู้ป่วยยิ่งมีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกหลายปัจจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีครบทั้ง 3 ปัจจัยคือ มีการได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนมากกว่า 7 วัน, มีภาวะ neutropenia เกินมากกว่า 7 วัน, และมีไข้มามากกว่า 7 วันก่อนการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ค่าความสามารถของการตรวจวัด BG ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกทั้ง 3 ปัจจัยนี้จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยพบว่าค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่า PPV, และค่า NPV เพิ่มขึ้นมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 33.33, 100, 100, และ 66.67 ตามลำดับ ซึ่งแพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยอาจนำหลักการนี้ไปประยุกต์ใช้ได้ในกรณีที่อาการทางคลินิกไม่ชัดเจน หรือแยกไม่ได้ว่าผู้ป่วยมีโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นแล้วหรือยัง การใช้ปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกมาช่วยร่วมพิจารณา โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกหลายปัจจัยก็จะช่วยให้แพทย์ตัดสินใจทำการส่งตรวจเพื่อสืบค้นเพิ่มเติมในผู้ป่วยกลุ่มเหล่านี้ได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น

ถ้าพิจารณาระดับของความเข้มข้น BG ในเลือดผู้ป่วยที่ตรวจพบในการศึกษานี้จะพบว่าค่าระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ BG ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามจะมีแนวโน้มสูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วย bacteremia, หรือกลุ่มผู้ป่วย FNM โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 80.65, 23.02, และ 33.91 pg/ml ตามลำดับ แม้เมื่อเปรียบเทียบแล้วจะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละกลุ่มก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้[(26)] ที่ศึกษาเปรียบเทียบค่ามัธยฐานความเข้มข้นของ BG ในเลือดของผู้ป่วยกลุ่มต่างๆ โดยพบว่าค่ามัธยฐานความเข้มข้นของ BG มีค่าสูงที่สุดในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อราชนิดแอสเปอร์จิลลัส (*Aspergillus* antigenemia) คือผู้ป่วยที่มีค่า GM ในเลือดให้ผลบวก, รองลงมาคือในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อราชนิดแคนดิดาในกระแสเลือด (candidemia), ผู้ป่วยที่ติดเชื้อราชนิดฮิสโตพลาสมา (*Histoplasma* antigenemia), ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในกระแสเลือด (gram-negative bacteremia), ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกในกระแสเลือด (gram-positive bacteremia), และเลือดจากผู้บริจาคเลือด (blood donors) ซึ่งถือว่าไม่น่าจะมีภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลามอยู่ เรียงจากกลุ่มที่มีค่ามัธยฐานความเข้มข้นของ BG จากค่าสูงมาสู่ค่าที่ต่ำกว่าตามลำดับ ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยในการช่วยวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลามนั้นคือ การที่ BG ให้ผลบวกได้เร็วกว่าการตรวจวัดโดยวิธีอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นการตรวจวัดค่า GM หรือการใช้หลักเกณฑ์การวินิจฉัยตาม EORTC/MSG criteria 2008 ก็ให้ผลการวินิจฉัยที่ช้ากว่าการตรวจพบค่า BG ให้ผลบวกทั้งสิน[(6, 27)] ทั้งนี้เนื่องจากการสืบค้นหาสาเหตุไม่ว่าจะเป็นการตรวจเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีวะ หรือการ

ตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาต่างก็ต้องอาศัยการใช้เวลาในกระบวนการตรวจนั้นๆ อีกทั้งการใช้เทคนิคการตรวจทางรังสีต่างๆ ตัวอย่างเช่น การตรวจ computor tomography (CT) imaging อาจไม่สามารถทำในผู้ป่วยทุกรายหรือทำติดต่อกันบ่อยๆ ได้ ซึ่งต่างจากการเก็บเลือดส่งตรวจค่า BG ซึ่งอาจทำได้บ่อยครั้งกว่า ด้วยเหตุนี้จึงเป็นจุดที่มีประโยชน์ของการตรวจวัด BG เมื่อเทียบกับการใช้วิธีการตรวจอื่นๆ และถ้าพิจารณาจากผลการศึกษานี้พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามและมีผลการตรวจวัดค่า BG ในเลือดให้ผลบวกนั้น ผู้ป่วยจะให้ผลบวกค่า BG ในเลือดเร็วกว่าการตรวจวินิจฉัยโดยยึดตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008 โดยเฉลี่ยประมาณ 3 วัน ถึงแม้เมื่อเปรียบเทียบแล้วจะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม โดยมีค่า P-value อยู่ที่ P= 0.667 แต่การตรวจวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลามให้ได้เร็วที่สุดนั้นมีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องปัญหาอันดับต้นๆ ของการรักษาภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลามก็คือการได้รับการวินิจฉัยที่ล่าช้านำไปสู่การตัดสินใจในการให้การรักษาที่เหมาะสมล่าช้าไปด้วย เป็นสาเหตุหลักสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ภาวะนี้มีอัตราการตายที่สูง ดังนั้นการวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลามให้ได้เร็วที่สุด นำไปสู่การให้การรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อราที่เหมาะสมต่อไปจึงมีความสำคัญมาก

ในการศึกษานี้มีข้อจำกัดในการวิจัยอยู่หลายประการด้วยกันคือ ขนาดของกลุ่มตัวอย่างมีขนาดเล็กและผู้ป่วยที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบค่า BG ในเลือดมีจำนวนน้อย จึงอาจทำให้ผลการวิเคราะห์อาจเกิดความผิดพลาดและคลาดเคลื่อนได้ง่าย ผู้วิจัยมีความเห็นแนะนำว่าควรตรวจวัดค่า BG ต่อเนื่องติดต่อกันมากกว่า 1 ครั้งเพื่อเป็นการลดข้อผิดพลาดของงานวิจัย และอาจช่วยให้ผลการวิเคราะห์มีความคลาดเคลื่อนน้อยลง นอกจากนี้เนื่องจากการศึกษานี้ทำในสถาบันเดียวคือโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ดังนั้นกลุ่มโรคของผู้ป่วยอาจมีลักษณะเฉพาะซึ่งอาจทำให้ส่งผลต่อการศึกษาวิเคราะห์ได้เช่นเดียวกัน

บทที่ 6
บทสรุป

อุบัติการณ์ของการเกิดโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม (invasive fungal infections, IFIs) ในยุคปัจจุบันมีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว โรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนี้นำมาซึ่งความพิการและอัตราการเสียชีวิตที่ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) หรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งจะมีโอกาสเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามได้สูงกว่าประชากรปกติทั่วไปหลายเท่า[(2)] ปัญหาที่สำคัญที่ทำให้โรคติดเชื้อราชนิดลุกลามยังคงมีอัตราการตายที่สูงนั้นเกิดจากความล่าช้าในการวินิจฉัย และนำไปสู่การให้การรักษาที่ล่าช้าตามมา จึงได้มีความพยายามพัฒนาวิธีการตรวจวัดค่าต่างๆ เพื่อนำมาช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามให้มีความสะดวก, รวดเร็ว, ถูกต้อง, และแม่นยำมากยิ่งขึ้น การตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan (BG) ในเลือดผู้ป่วย[(3)] ก็เป็นการทดสอบที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อพยายามมาแก้ไขปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามแม้ว่าการตรวจวัดค่า BG จะเริ่มมีการใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้นในต่างประเทศ แต่สำหรับประเทศไทยนั้นยังจำกัดอยู่เฉพาะในงานวิจัยและยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์ค่าความสามารถต่างๆ ของการทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยไทย

งานวิจัยฉบับนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการตรวจวัดค่า BG ในแง่การวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบ สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังมีภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดภาวะนี้ โดยได้เก็บรวบรวมผู้ป่วยทั้งหมด 46 ราย ที่เข้าทำการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2557 จนถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2558 และตรวจติดตามผู้ป่วยตลอดช่วงที่เข้าทำการรักษา เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีอาการหรืออาการแสดงต่างๆที่ทำให้สงสัยว่าจะมีโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นแล้ว ก็ทำการเก็บเลือดผู้ป่วยเพื่อทำการตรวจวัดค่า BG พร้อมทั้งคณะแพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยได้พิจารณาตรวจสืบค้นเพิ่มเติมเพื่อหาสาเหตุ ร่วมกับพิจารณาให้การรักษาตามความเหมาะสม และตรวจติดตามต่อว่ามีผู้ป่วยรายใดบ้างที่มีโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นจริงตามเกณฑ์การวินิจฉัยของ EORTC/MSG ปี 2008[(5)] จากการเก็บรวบรวมข้อมูลพบว่ามีผู้ป่วย 17 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามจาก 46 รายคิดเป็นร้อยละ 37 โดยเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามระดับ proven IFIs จำนวน 5 ราย,

ระดับ probable IFIs จำนวน 9 ราย, และระดับ possible IFIs จำนวน 3 ราย การตรวจทดสอบวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยโดยคำนวณเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามระดับ proven IFIs และระดับ probable IFIs เท่านั้น ไม่คิดรวมระดับ possible IFIs พบว่า ค่าความสามารถของเครื่องมือตรวจมีค่าความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), ค่า positive predictive value (PPV), และค่า negative predictive value (NPV) ของเครื่องมือตรวจนี้อยู่ที่ร้อยละ 14.28, 96.87, 66.67, และ 72.09 ตามลำดับ และถ้าพิจารณาตรวจวัดค่า BG ร่วมกับการตรวจวัดอื่นๆ ตัวอย่างเช่น ร่วมกับการตรวจวัดค่า serum galactomannan (GM) หรือการพิจารณาร่วมกับการที่ผู้ป่วยมีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกบางอย่างตัวอย่างเช่น การได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน 7 วัน, การมีภาวะ neutropenia มาก่อนมากกว่า 7 วัน, และการมีไข้มามากกว่า 7 วัน เป็นต้น จะช่วยเพิ่มค่าความสามารถของการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยได้ นอกจากนี้ถ้าพิจารณาในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามและมีผลการตรวจวัดค่า BG ในเลือดให้ผลบวกนั้น ผู้ป่วยจะให้ผลบวกค่า BG ในเลือดเร็วกว่าการตรวจวินิจฉัยโดยยึดตามเกณฑ์ของ EORTC/MSG ปี 2008 โดยเฉลี่ยประมาณ 3 วัน ถึงแม้เมื่อเปรียบเทียบแล้วจะไม่มีความแตกต่างเชิงนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม โดยมีค่า P-value อยู่ที่ P= 0.667

การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามในผู้ป่วยที่เป็นกลุ่มเสี่ยงคือ ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังมีภาวะ neutropenia และผู้ป่วยที่เข้ารับการปลูกถ่ายไขกระดูกโดยอาศัยการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยเพียง 1 ครั้งเมื่อเริ่มสงสัยว่าผู้ป่วยเริ่มมีการติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นแล้วอาจไม่เพียงพอ เนื่องจากเครื่องมือตรวจวัด BG ในเลือดผู้ป่วยมีค่าความไวในการตรวจที่จำกัด ดังนั้นในผู้ป่วยที่สงสัยว่าเริ่มมีการติดเชื้อราชนิดลุกลามเกิดขึ้นแล้วถึงแม้การตรวจวัดค่า BG ในครั้งแรกจะให้ผลเป็นลบก็ควรที่จะมีการตรวจติดตามอีกเป็นครั้งที่ 2 หรือ 3 ถ้าผู้ป่วยยังคงมีอาการหรืออาการแสดงที่ทำให้สงสัยภาวะนี้อยู่ หรืออาจพิจารณาตรวจวัดค่า BG ในเลือดร่วมกับการตรวจวัดด้วยวิธีอื่นๆ ตัวอย่างเช่น ร่วมกับการตรวจวัดค่า GM หรือการเลือกพิจารณาส่งตรวจวัดค่า BG ในผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกหลายๆปัจจัย ตัวอย่างเช่น ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะ, ผู้ป่วยที่มีภาวะ neutropenia อยู่นาน, ผู้ป่วยที่ยังมีไข้อยู่ตลอดแม้ว่าให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมแล้วก็ตาม เป็นต้น เพื่อเป็นการช่วยเพิ่มค่าความสามารถของการตรวจวัด BG ในเลือดผู้ป่วยนั้นเอง ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของเครื่องมือตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยคือ การมีค่าความจำเพาะที่สูงและความสามารถที่ให้ผล

บวกที่เร็วกว่าวิธีตรวจวัดอื่นๆ ดังนั้นอาจต้องพิจารณาให้การรักษาในทันทีถ้าผลตรวจวัดค่า BG ในเลือดให้ผลบวก ควบคู่ไปกับการรีบสืบค้นหาสาเหตุที่แท้จริงของผู้ป่วยเพื่อให้การรักษาที่เหมาะสมต่อไป สุดท้ายการตรวจวัดค่า BG ในเลือดผู้ป่วยจะนำมาใช้ประโยชน์ในวงกว้างได้จริง ก็ยังคงต้องรอให้มีการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มากพอ และมีความหลากหลายของกลุ่มผู้ป่วยมากยิ่งขึ้นในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Pagano L, Antinori A, Ammassari A, Mele L, Nosari A, Melillo L, et al. Retrospective study of candidemia in patients with hematological malignancies. Clinical features, risk factors and outcome of 76 episodes. European journal of haematology. 1999;63(2):77-85.

2. Pagano L, Akova M, Dimopoulos G, Herbrecht R, Drgona L, Blijlevens N. Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised patients. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2011;66 Suppl 1:i5-14.

3. Obayashi T, Yoshida M, Tamura H, Aketagawa J, Tanaka S, Kawai T. Determination of plasma (1-->3)-beta-D-glucan: a new diagnostic aid to deep mycosis. Journal of medical and veterinary mycology. 1992;30(4):275-80.

4. Marchetti O, Lamoth F, Mikulska M, Viscoli C, Verweij P, Bretagne S. ECIL recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic SCT recipients. Bone marrow transplantation. 2012;47(6):846-54.

5. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clinical infectious diseases. 2008;46(12):1813-21.

6. Ellis M, Al-Ramadi B, Finkelman M, Hedstrom U, Kristensen J, Ali-Zadeh H, et al. Assessment of the clinical utility of serial beta-D-glucan concentrations in patients with persistent neutropenic fever. Journal of medical microbiology. 2008;57(Pt 3):287-95.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

7. Abbasi S, Shenep JL, Hughes WT, Flynn PM. Aspergillosis in children with cancer: A 34-year experience. Clinical infectious diseases. 1999;29(5):1210-9.

8. Boutati EI, Anaissie EJ. Fusarium, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: ten years' experience at a cancer center and implications for management. Blood. 1997;90(3):999-1008.

9. Krcmery V, Jr., Mateicka F, Kunova A, Spanik S, Gyarfas J, Sycova Z, et al. Hematogenous trichosporonosis in cancer patients: report of 12 cases including 5 during prophylaxis with itraconazol. Supportive care in cancer. 1999;7(1):39-43.

10. Berenguer J, Buck M, Witebsky F, Stock F, Pizzo PA, Walsh TJ. Lysis-centrifugation blood cultures in the detection of tissue-proven invasive candidiasis. Disseminated versus single-organ infection. Diagnostic microbiology and infectious disease. 1993;17(2):103-9.

11. Duthie R, Denning DW. Aspergillus fungemia: report of two cases and review. Clinical infectious diseases. 1995;20(3):598-605.

12. Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. The American journal of medicine. 1996;100(2):171-8.

13. Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Fianchi L, Martino B, et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. Haematologica. 2006;91(8):1068-75.

14. Pagano L, Caira M, Nosari A, Van Lint MT, Candoni A, Offidani M, et al. Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study--Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. Clinical infectious diseases. 2007;45(9):1161-70.

15. Singh N, Paterson DL. Aspergillus infections in transplant recipients. Clinical microbiology reviews. 2005;18(1):44-69.

Chulalongkorn University

16. Hossain MA, Miyazaki T, Mitsutake K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, et al. Comparison between Wako-WB003 and Fungitec G tests for detection of (1-->3)-beta-D-glucan in systemic mycosis. Journal of clinical laboratory analysis. 1997;11(2):73-7.

17. Tamura H, Arimoto Y, Tanaka S, Yoshida M, Obayashi T, Kawai T. Automated kinetic assay for endotoxin and (1-->3)-beta-D-glucan in human blood. Clinica chimica acta. 1994;226(1):109-12.

18. Takaki Y, Seki N, Kawabata Si S, Iwanaga S, Muta T. Duplicated binding sites for (1-->3)-beta-D-glucan in the horseshoe crab coagulation factor G: implications for a molecular basis of the pattern recognition in innate immunity. The Journal of biological chemistry. 2002;277(16):14281-7.

19. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. Clinical infectious diseases. 2004;39(2):199-205.

20. Mori T, Ikemoto H, Matsumura M, Yoshida M, Inada K, Endo S, et al. Evaluation of plasma (1-->3)-beta-D-glucan measurement by the kinetic turbidimetric Limulus test, for the clinical diagnosis of mycotic infections. European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry. 1997;35(7):553-60.

21. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1-->3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. Clinical infectious diseases. 2005;41(5):654-9.

22. Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, Aoki K, Kurokawa M, Chiba S, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1-->3)-beta-D-glucan test in

weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. Journal of clinical microbiology. 2004;42(6):2733-41.

23. Obayashi T, Yoshida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, Iwasaki H, et al. Plasma (1-->3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. Lancet. 1995;345(8941): 17-20.

24. Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T, Lacroix C, Derouin F. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study. Cancer. 2001;91(2):311-8.

25. Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. The Lancet Infectious diseases. 2004;4(6):349-57.

26. Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. Journal of clinical microbiology. 2005;43(12):5957-62.

27. Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M, Asahi N, Satomura S, et al. 1,3-Beta-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia. Clinical infectious diseases. 2008;46(6):878-85.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

(Information sheet for research participant)

ชื่อโครงการวิจัย “การศึกษาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วย สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์”

<u>แพทย์ผู้ทำวิจัย</u>

ชื่อ นายแพทย์ สุรัตน์ วรรณเลิศสกุล

ที่อยู่ หน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1873 ถนนพระรามที่ 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

เบอร์โทรศัพท์ 089-6716661

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ อาจารย์ แพทย์หญิงกมลวรรณ จุติวรกุล

ที่อยู่ หน่วยโรคติดเชื้อ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 081-836373

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ทุนสนับสนุน งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนชุดตรวจวัดสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคน จากหน่วยราวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ รพ.จุฬาลงกรณ์

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็น ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดหรือผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัย ซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

<u>เหตุผลความเป็นมา</u>

อุบัติการณ์ของการเกิดภาวะการติดเชื้อราชนิดลุกลามมีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา โรคติดเชื้อราชนิดลุกลามนี้นำมาซึ่งความพิการและอาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ในอัตราที่สูง โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวในเลือดต่ำหรือผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งจะมีโอกาสเกิดการติดเชื้อราชนิดลุกลามได้สูงกว่าปกติหลายเท่า ปัญหาที่สำคัญคือความยากในการวินิจฉัยภาวะนี้และมักจะได้รับการวินิจฉัยที่ล่าช้า นำไปสู่การรักษาที่ล่าช้าเช่นเดียวกัน

ปัจจุบันจึงได้มีความพยายามพัฒนาวิธีการตรวจวัดค่าต่างๆ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามให้มีความสะดวก, รวดเร็ว, ถูกต้อง, และแม่นยำมากยิ่งขึ้น การตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วยก็เป็นการทดสอบที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อพยายามมาแก้ไขปัญหาดังกล่าว อย่างไรก็ตามแม้ว่าการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนที่ใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลามจะมีใช้กันอย่างแพร่หลายมากขึ้นในปัจจุบันแล้วก็ตาม แต่ก็ยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบในกลุ่มผู้ป่วยชาวไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

งานวิจัยฉบับนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคน ในแง่การวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการทดสอบ สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดภาวะนี้ และมุ่งหวังว่าผลที่ได้จะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางให้กับแพทย์ผู้รักษาเพื่อช่วยในการตัดสินใจ เพื่อให้ได้การวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็วที่สุด และนำไปสู่การตัดสินใจให้การรักษาที่เหมาะสมต่อไป

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

เพื่อเป็นการศึกษาวิเคราะห์ค่าความไวและความจำเพาะของการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วย สำหรับช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วย

มะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวในเลือดต่ำและผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก

ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดที่กำลังอยู่ในภาวะเม็ดเลือดขาวในเลือดต่ำและผู้ป่วยที่กำลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 46 คน

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้และมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้าของงานวิจัย ผู้วิจัยจะขอเก็บรวบรวมข้อมูลทางการแพทย์จากทั้งการซักประวัติเพิ่มเติมจากผู้ป่วย และจากเวชระเบียนของผู้ป่วย, แพทย์ผู้วิจัยและทีมแพทย์ผู้รักษาติดตามและประเมินอาการของผู้ป่วย, ตรวจร่างกาย, ตรวจทางห้องปฏิบัติการ, และภาพถ่ายรังสี หากผู้ป่วยมีไข้ หรือมีอาการแสดงที่บ่งชี้ถึงมีการติดเชื้อระหว่างที่เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลต่ำ จะมีการตรวจหาตำแหน่งของการติดเชื้อ และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ รวมถึงการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนอาทิตย์ละ 2 ครั้ง, เก็บเลือดของผู้ป่วยและสิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่สงสัยว่าจะมีการติดเชื้อ นำส่งเพาะเชื้อทางจุลชีววิทยาทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา และให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมตามมาตรฐานการรักษาทันที แพทย์ผู้วิจัยนำข้อมูลที่ได้เก็บรวบรวมข้อมูลมาวิเคราะห์และสรุปผลการวิจัยอีกครั้งหนึ่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยคือ ประมาณ 2 สัปดาห์ นั้นท่านจะได้รับการเก็บตัวอย่างเลือดครั้งละ 6 ซีซี เพื่อทำการวิเคราะห์ตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนเป็นจำนวนทั้งสิ้น 4 ครั้ง และตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์จะมีกระบวนการทำลายอย่างถูกต้องตามหลักมาตรฐานการกำจัดตัวอย่างทางชีวภาพต่อไป

<u>ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ ส่วนในเรื่องค่าเดินทางและค่าเสียเวลานั้นเนื่องจากงานวิจัยนี้เก็บกลุ่มตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาพยาบาลในรพ.จุฬาลงกรณ์ จึงไม่ได้กำหนดค่าชดเชยในส่วนนี้

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้อาจเกิดความเสี่ยงเล็กน้อย (Minimal risks) เช่น เสียเวลา, ไม่สะดวก, ไม่สบายในขณะเข้าร่วมทำงานวิจัย และอาจเกิดภาวะแทรกซ้อนจากการเจาะเลือด โดยอาจจะมีอาการทั่วไป ได้แก่ ได้รับความเจ็บปวด, มีเลือดออกบริเวณที่เจาะเลือด เป็นต้น ซึ่งเป็นอาการที่ไม่เป็นอันตรายร้ายแรงต่อผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยจะให้ความรู้แก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยถึงภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ เพื่อให้ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยสามารถสังเกตและแจ้งแพทย์หรือผู้วิจัยได้ทันทีที่เกิดอาการ

ระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยจะมีการติดตามดูแลอาการของท่านอย่างใกล้ชิด และกรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาการผิดปกติใดๆ ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

<u>ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย</u>

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

<u>อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย</u>

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และหากท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นายแพทย์ สุรัตน์ วรรณเลิศสกุล เบอร์โทรศัพท์ 089-6716661 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน ผู้ทำวิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งถึง นพ.สุรัตน์ วรรณเลิศสกุล สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1873 ถนนพระรามที่ 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย

5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่าน รวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 02-2564455 และ 02-2564493 ในเวลาราชการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

....

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง “การศึกษาการตรวจวัดค่าสารประกอบ (1,3) เบต้าดีกลูเคนในเลือดผู้ป่วย สำหรับใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราชนิดลุกลาม ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์”

วันให้คำยินยอม วันที่.............เดือน.......................................พ.ศ................................. ....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว..ที่อยู่
....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่ 4 เมษายน พ.ศ. 2557 และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆทั้งสิ้น

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(..) ชื่ อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ ....เดือน...................................พ.ศ............................

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

....ลงนามผู้ทำวิจัย

(นายแพทย์ สุรัตน์ วรรณเลิศสกุล) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ ....เดือน...................................พ.ศ.................. ....

....ลงนามพยาน

(...) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ ....เดือน...................................พ.ศ............................

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

Patient's sticker

Case record form for Beta-D-glucan test for invasive fungal infection

(1) ID__________ (e.g. 001, 002, etc) ☐☐☐

(2) Date of enrollment____________________________(DD/MM/YY) ☐☐ ☐☐ ☐☐

(3) Sex: ☐ MALE ☐ FEMALE ☐

(4) Age_______________ ☐☐

(5) U/D____

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

(6) Inclusion criteria

	มี	ไม่มี
1. Risk of invasive fungal infection		
a. AMLที่มี Neutropenia (ANC <500) นานกว่า 4 วัน	☐	☐
b. ALL ที่มี Neutropenia (ANC <500) นานกว่า 4 วัน	☐	☐
c. Lymphoma ที่มี Neutropenia (ANC <500) นานกว่า 4 วัน	☐	☐
d. โรคอื่นๆ (ระบุ..........................)ที่มี Neutropenia (ANC <500) นานกว่า 4 วัน	☐	☐
e. BMT ที่มีไข้ (T >38 °C) นานกว่า 4 วัน แม้ว่าจะได้รับยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสม	☐	☐
f. BMT ที่มีไข้ (T >38 °C) หรือ hypothermia(< 36 °C) ร่วมกับข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้;		
i. มีประวัติ Neutropenia นานกว่า 7 วัน (ภายใน 3 เดือนที่ผ่านมา)	☐	☐
ii. กำลังใช้ยา immunosuppression หรือเพิ่งหยุดยาน้อยกว่า 30 วัน	☐	☐
iii. เคยมี invasive fungal infection เมื่อเกิด neutropenia ครั้งก่อนๆ	☐	☐
g. BMT ที่มีลักษณะที่สงสัย Acute graft versus host disease (GVHD)	☐	☐
h. BMT ที่มีได้รับ corticosteroids นานกว่า 3 สัปดาห์ ในช่วง 2 เดือนที่ผ่านมา	☐	☐
2. มี **การวินิจฉัยแน่นอน** ว่ามีการติดเชื้อ invasive fungal infection (**Proven** invasive fungal infection) (**หากมี กรุณา check รายละเอียด ด้านล่าง** หากไม่มีข้ามไปข้อ 3)	☐	☐

a. วินิจฉัยจาก Histology/ Culture/ PCR/ Direct microscopy..

ที่บริเวณ (Site)..

b. ชื่อ Fungus ....

3. มีการวินิจฉัยว่า**น่าจะ**มีการติดเชื้อ invasive fungal infection (**Probable** invasive fungal infection) ตัวอย่างเช่น มีลักษณะที่เข้าได้กับ fungal infection ใน อวัยวะต่างๆ เช่น ตรวจพบ Halo sign จาก X-ray imaging, generalized umbilicate lesion บนผิวหนัง, ตรวจพบ Cryptococcal antigen ในสารคัดหลั่ง, มีลักษณะที่เข้าได้กับ Significant candidiuria เป็นต้น

(หากมี กรุณา check รายละเอียด ด้านล่าง) **มี** ☐ **ไม่มี** ☐

Criteria for the diagnosis...

Imaging/ lab (เช่น พบ Halo sign จาก X-ray imaging เป็นต้น)

....

(7) Medical history	**มี**	**ไม่มี**
a. ผู้ป่วยเคยมี fungal infection มาก่อน (ถ้า มี (D/M/Y)...)	☐	☐
b. ผู้ป่วยเคยมี Neutropenia เมื่อ มี fungfal infection ครั้งก่อนหรือไม่	☐	☐
c. ผู้ป่วยเคยมี Neutropenia เมื่อ 30 วันก่อนหรือไม่	☐	☐
d. ผู้ป่วยเคยผ่านการปลูกถ่ายไขกระดูก (BMT) มาก่อน หรือไม่ (ถ้ามี (D/M/Y)..)	☐	☐

(8) Medication history	**มี**	**ไม่มี**
a. ผู้ป่วยได้รับยา antifungal prophylaxis มาก่อน (ถ้ามี ระบุชื่อยา.............................วันที่เริ่ม (D/M/Y)...................... วันที่หยุด (D/M/Y)......................)	☐	☐
b. ผู้ป่วยได้รับยา empirical antifungal therapy มาก่อน หรือได้รับอยู่ (ถ้ามีระบุชื่อยา.............................วันที่เริ่ม (D/M/Y)...................... วันที่หยุด (D/M/Y)......................)	☐	☐
c. ผู้ป่วยได้รับยา pre-emptive antifungal prophylaxis มาก่อนหรือได้รับอยู่ (ถ้ามีระบุชื่อยา.............................วันที่เริ่ม (D/M/Y)...................... วันที่หยุด (D/M/Y)......................)	☐	☐
d. ผู้ป่วยเคยได้รับยา specific antifungal therapy มาก่อน	☐	☐

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

(ถ้ามีระบุชื่อยา............................ วันที่เริ่ม (D/M/Y)..................... วันที่หยุด (D/M/Y).....................)

e. ผู้ป่วยได้รับยา empirical antibiotic therapy มาก่อนหรือได้รับอยู่ ☐ ☐

(ถ้ามีระบุชื่อยา............................วันที่เริ่ม (D/M/Y)..................... วันที่หยุด (D/M/Y).....................)

(ถ้ามีระบุชื่อยา............................วันที่เริ่ม (D/M/Y)..................... วันที่หยุด (D/M/Y).....................)

(ถ้ามีระบุชื่อยา............................วันที่เริ่ม (D/M/Y)..................... วันที่หยุด (D/M/Y).....................)

f. ผู้ป่วยได้รับยา specific antibiotic therapy มาก่อนหรือได้รับอยู่ ☐ ☐

(ถ้ามีระบุชื่อยา............................ วันที่เริ่ม (D/M/Y)..................... วันที่หยุด (D/M/Y).....................)

(9) Galactomannan test: ☐ มี ☐ ไม่มี

a. Result.............................. (date/ month/year...)

b. Result.............................. (date/ month/year...)

c. Result.............................. (date/ month/year...)

d. Result.............................. (date/ month/year...)

(10)Clinical outcome: ☐ Survived ☐ Death

(11)Other laboratory data

	DAY 1 (enrollment)	DAY 3	DAY 5	DAY 7	DAY 9	DAY 11	DAY 13
Hb							
WBC							
Neutrophil							
platelet							
BUN							
Cr							
LFT							
Blood culture							
Other culture							

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค

Beta-D-glucan test for the prediction of invasive fungal infection study protocol

ผู้ป่วย Post bone marrow transplantation (BMT) และ/หรือ โรคมะเร็งเม็ดเลือดอื่นๆ ที่มีลักษณะดังต่อไปนี้อย่างน้อยหนึ่งข้อ

1. **BMTหรือโรคมะเร็งเม็ดเลือดอื่นๆ** ที่มี Neutropenia (total neutrophil <500/cumm^3) นานมากกว่า 4 วัน
2. BMT ที่มีไข้ (> 38 °C) นานมากกว่า 4 วัน แม้ว่าจะได้รับยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสม
3. BMT ที่มีไข้ (> 38 °C) หรือ hypothermia(< 36 °C) ร่วมกับข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้;
    a. มีประวัติ Neutropenia นานกว่า 7 วัน (ภายใน 3 เดือนที่ผ่านมา)
    b. กำลังใช้ยา immunosuppression หรือเพิ่งหยุดยาน้อยกว่า 30 วัน
    c. เคยมี invasive fungal infection เมื่อเกิด neutropenia ครั้งก่อนๆ
4. **BMTหรือโรคมะเร็งเม็ดเลือดอื่นๆ** ที่มีลักษณะที่เข้าได้กับ fungal infection ใน อวัยวะต่างๆ เช่น Halo sign ใน CXR, generalized umbilical lesion บนผิวหนัง, ตรวจพบ Cryptococcal antigen ในสารคัดหลั่ง, มีลักษณะที่เข้าได้กับ Significant candidiuria เป็นต้น

↓

ให้ตรวจร่างกาย, ตรวจทางห้องปฏิบัติการ, และภาพถ่ายรังสี เพื่อตรวจหาตำแหน่งของการติดเชื้อ และทำดังนี้

1) Complete blood count (CBC) อาทิตย์ละ 3 ครั้งและ Serum galactomannan อาทิตย์ละ 2 ครั้ง
2) เก็บเลือดของผู้ป่วยและสิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่สงสัยว่าจะมีการติดเชื้อ นำส่งเพาะเชื้อทางจุลชีววิทยาทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา และให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมทันที
3) ส่งตรวจวัดค่า (1,3) β-D-glucan โดยเก็บเลือดก่อนการเริ่มให้การรักษาด้วยยาต้านเชื้อราทางหลอดเลือดดำ

การเจาะเลือดตามข้อ 1 และ 2 เป็นการเจาะเลือดตรวจตาม Routine order + **พร้อมดูดเลือดใส่ Clot blood tube (ฝาแดง 3 ml) 2 tube เพื่อเก็บส่งตรวจ (1,3) β-D-glucan เพิ่มเติม**

หมายเหตุ: 1. ติดสติกเกอร์ชื่อและ HN ของผู้ป่วย พร้อมกับเขียนวันที่เก็บเลือดบน Tube ให้เรียบร้อย

2. **Tube เลือด**เก็บไว้ได้ 3 วันใน**ตู้เย็น 4 °C**

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายสุรัตน์ วรรณเลิศสกุล

วันเดือนปีเกิด 19 กรกฎาคม พ.ศ. 2522

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2528 – 2534 ระดับประถมศึกษา โรงเรียนเรวดี กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2534 – 2537 ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสามเสนวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2537 – 2540 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2540 – 2544 ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์ เกียรตินิยมอันดับสอง มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2545 – 2550 ปริญญาแพทยศาสตร์บัณฑิต เกียรตินิยมอันดับสอง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

พ.ศ. 2553 – 2556 แพทย์ศาสตรบัณฑิตปริญญาบัตรชั้นสูง วุฒิบัตรอายุรศาสตร์

ประสบการณ์การทางาน

พ.ศ. 2542 – 2544 คณะกรรมการบริหารนักศึกษา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย มหิดล

พ.ศ. 2550 – 2551 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลพุทธชินราช จังหวัดพิษณุโลก

พ.ศ. 2551 – 2553 แพทย์ใช้ทุน โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

พ.ศ. 2553 – 2556 แพทย์ประจำบ้าน สาขาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

พ.ศ. 2556 – 2558 แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาอายุรศาสตร์โรคติดเชื้อ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University