การใช้เทคนิคพีซีอาร์ตรวจเยื่อหุ้มปอดเพื่อวินิจฉัยภาวะสารน้ำในโพรงปอดที่มีสาเหตุจากวัณโรค

นายกมล แก้วกิติณรงค์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-1015-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

POLYMERASE CHAIN REACTION OF PLEURAL BIOPSY SPECIMENS FOR DIAGNOSING TUBERCULOUS PLEURITIS

Mr. Kamon Kawkitinarong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2000

ISBN 974-13-1015-3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้เทคนิคพีซีอาร์ตรวจเยื่อหุ้มปอดเพื่อวินิจฉัยภาวะสารน้ำในโพรงปอดที่มีสาเหตุจากวัณโรค
โดย	นาย กมล แก้วกิติณรงค์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ นายแพทย์ ฉันชาย สิทธิพันธุ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.สมหญิง ธัมวาสร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมมันต์ พันธุมจินดา)
.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ นายแพทย์ ฉันชาย สิทธิพันธุ์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมหญิง ธัมวาสร)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)
.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พงษ์ศักดิ์ วรรณไกรโรจน์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กมล แก้วกิติณรงค์ : การใช้เทคนิคพีซีอาร์ตรวจเยื่อหุ้มปอดเพื่อวินิจฉัยภาวะสารน้ำในโพรงปอดที่มีสาเหตุมาจากวัณโรค(POLYMERASE CHAIN REACTION OF PLEURAL BIOPSY SPECIMENS FOR DIAGNOSING TUBERCULOUS PLEURITIS) อ. ที่ปรึกษา : อ. นพ. ฉันชาย สิทธิพันธุ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. สมหญิง ธัมวาสร; 75 หน้า. ISBN 974-13-1015-3.

<u>วัตถุประสงค์</u> เพื่อศึกษาถึงการใช้เทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจเยื่อหุ้มปอดในผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดเพื่อวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

<u>วิธีดำเนินการ</u> ได้ทำการศึกษาแบบไปข้างหน้า ในผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ ลิมโฟซัยท์เด่นรายใหม่ที่มาตรวจรักษาที่หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้ทำการตรวจสารน้ำในโพรงปอดและเยื่อหุ้มปอด เก็บข้อมูลการเพาะเชื้อวัณโรค การย้อมสีทนกรด และการตรวจทางพยาธิวิทยาเพื่อหาสาเหตุของสารน้ำในโพรงปอด ได้ศึกษาการใช้เทคนิคพีซีอาร์ตรวจหา สายพันธุกรรม IS6110 ที่จำเพาะต่อเชื้อวัณโรคในน้ำเจาะปอดและเยื่อหุ้มปอด

<u>ผลการศึกษา</u> ผู้ป่วย 59 รายได้รับการวินิจฉัยเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 36 ราย และจากสาเหตุอื่นๆ 23 ราย การตรวจพีซีอาร์ของเยื่อหุ้มปอดพบใน 27 รายของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด คิดเป็นความไวเท่ากับ 75% และมีความจำเพาะเท่ากับ 100%

<u>สรุป</u> การใช้เทคนิคพีซีอาร์ตรวจเยื่อหุ้มปอด เป็นวิธีที่ดีในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2543..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4275211830 : MAJOR MEDICINE (PULMONOLOGY)

KEYWORD : POLYMERASE CHAIN REACTION / TUBERCULOSIS

KAMON KAWKITINARONG POLYMERASE CHAIN REACTION OF PLEURAL BIOPSY SPECIMENS FOR DIAGNOSING TUBERCULOUS PLEURITIS. THESIS ADVISOR : CHANCHAI SITTIPUNT, M.D., THESIS COADVISOR : ASSO. PROF. SOMYING TUMWASORN. 75 pp. ISBN 974-13-1015-3.

Objectives : To evaluate the diagnostic value of polymerase chain reaction technique of pleural biopsy specimens in diagnosing of tuberculosis in patients presenting with lymphocytic exudative pleural effusions.

Methods : Patients with lymphocytic pleural effusions were studied prospectively. The pleural fluid and pleural biopsy specimens were examined for acid fast staining , histological examination and tuberculosis culture. We applied PCR technique to detect DNA (IS6110) specific for Mycobacterium tuberculosis in pleural fluid and pleural biopsy specimens.

Results : Of 59 patients with lymphocytic pleural effusions, 36 were diagnosed with tuberculous pleuritis, 23 with nontuberculous cause. PCR of pleural biopsy specimens were positive in 27 patients. The sensitivity and specificity of PCR of pleural biopsy specimens were 75% and 100% respectively.

Conclusions : PCR of pleural biopsy specimens is a useful diagnostic test for diagnosis of tuberculous pleuritis presenting with lymphocytic exudative pleural effusions.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department…….Medicine……. Student's signature……

Field of study……..Medicine……. Advisor's signature……

Academic year……2000……. Co-advisor's signature……

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้มีรายนามดังต่อไปนี้ที่ได้ให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยจนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

อาจารย์นายแพทย์ฉันชาย สิทธิพันธุ์ และคณาจารย์ ในสาขาวิชาโรคระบบการหายใจ และภาวะวิกฤติระบบการหายใจ ภาควิชาอายุรศาสตร์ ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้ และติดตามผลการวิจัยมาโดยตลอด

รองศาสตราจารย์ ดร. สมหญิง ธัมวาสร ให้ความรู้ ทักษะ ทางด้านการใช้เทคนิคพีซีอาร์เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมดีเอ็นเอของเชื้อวัณโรค

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พงษ์ศักดิ์ วรรณไกรโรจน์ ช่วยในการตรวจทาง พยาธิวิทยาของเยื่อหุ้มปอดและน้ำเจาะจากปอด ของผู้ป่วยทุกรายในงานวิจัยนี้ อาจารย์นายแพทย์ ชวิษฐ์ จันทรานุวัฒน์ ช่วยในการอ่านผลย้อมสีทนกรดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด

รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง นวพรรณ จารุรักษ์ และเจ้าหน้าที่ฝ่ายเวชศาสตร์ชันสูตร ช่วยในการตรวจหาระดับโปรตีนและ แอลดีเอช ในเลือดและในน้ำเจาะจากปอด

คุณกมลธาดา นาวีวิตรผดุง ช่วยในการจัดเตรียม การเก็บ การควบคุม การใช้เทคนิคพีซีอาร์ในงานวิจัยนี้ทั้งหมด

คุณสวัสดิ์ คล้ายคลึง คุณดาวรุ่ง ศิลาจำรูญ คุณประยูร ยิ้มพราย ช่วยในการเก็บสิ่งส่งตรวจ และการนำส่ง คุณสมคิด หมอกมืด คุณวัชรี นักบุญ ช่วยในการย้อมสีทนกรดและเพาะเชื้อวัณโรคพร้อมอ่านผล คุณคิดชอบ บางบ่อ ช่วยในการตรวจนับเซลล์ในน้ำเจาะปอด

คุณอัญชลี พัตราภรณ์ ช่วยในการกระตุ้นเตือน ประสานงาน และ จัดพิมพ์รูปแบบของวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้อง

ภาควิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา

ผู้ป่วยในการศึกษานี้ทุกท่าน

ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ สนับสนุนทุนวิจัยส่วนใหญ่

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญแผนภูมิ ..... ฌ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ญ

บทที่

1. บทนำ 1
2. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับวัณโรค 9
3. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 14
4. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับเทคนิคพีซีอาร์ 19
5. วิธีดำเนินการวิจัย 26
6. ผลการศึกษา 36
7. การอภิปรายผลการศึกษา 51
8. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 60

รายการอ้างอิง 64

ภาคผนวก 71

ประวัติผู้ทำวิทยานิพนธ์ 75

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด.....	39
2	ข้อมูลพื้นฐานของสารน้ำที่ไม่มีสาเหตุจากวัณโรค	40
3	ลักษณะทางคลินิกและคุณสมบัติเบื้องต้นของสารน้ำเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและที่ไม่ใช่วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	45
4	ความสามารถในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีต่างๆ.....	46
5	เปรียบเทียบผลของการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีต่างๆในการศึกษานี้กับผลจากการศึกษาอื่น.....	47
6	เปรียบเทียบผลการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์กับการศึกษาอื่น.....	48
7	ผลการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ในผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยจำแนกเป็นกลุ่มย่อย.....	50

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภูมิ

ตาราง		หน้า
1	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายของโรคตามเพศ	41
2	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายของโรคในช่วงอายุต่างๆ.....	42
3	แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณสารน้ำในโรคต่างๆ.....	43
4	แผนภูมิแท่งแสดงลักษณะสีของสารน้ำในโรคต่างๆ.....	44
5	แผนภูมิแท่งแสดงผลการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ของเยื่อหุ้มปอด ตามผลการเพาะเชื้อ	49

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ADA	Adenosine deaminase
AFB	Acid fast bacilli
CA	Carcinoma
CD4+ cell	T-helper cell
DNA	Deoxyribonucleic acid
HIV	Human immunodeficiency virus
IFNγ	Interferon gamma
kD	Kilodalton
LDH	Lactate dehydrogenase
PCR	Polymerase chain reaction
PMN	Polymorphonuclear cell
PPD	Purified protein derivative
RNA	Ribonucleic acid
SLE	Systemic lupus erythematosus
TB	Tuberculosis

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ภาวะสารน้ำในโพรงปอด (Pleural Effusion)[1,2] เป็นภาวะที่สำคัญและพบได้บ่อยในเวชปฏิบัติ โรคที่เป็นสาเหตุส่วนหนึ่งสามารถวินิจฉัยได้จากการซักประวัติ การตรวจร่างกาย การเจาะปอดเพื่อตรวจสารน้ำเบื้องต้น ภาวะดังกล่าวได้แก่ ภาวะสารน้ำที่เกิดจากหัวใจวาย โรคไต การขาดอัลบูมินในเลือด รวมถึง สารน้ำที่เกิดเป็นผลแทรกซ้อนของโรคปอดบวม เป็นต้น ส่วนโรคอีกกลุ่มหนึ่งที่มักเป็นปัญหาในการวินิจฉัยนั้นผู้ป่วยมักมีการดำเนินโรคช้า ประวัติและตรวจร่างกายพบเพียงว่ามีสารน้ำในโพรงปอดเท่านั้นแต่ไม่บ่งสาเหตุ ลักษณะสารน้ำมักประกอบด้วยเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น ได้แก่ ภาวะสารน้ำที่เกิดจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอด โรคมะเร็งกระจายไปยังเยื่อหุ้มปอด เป็นต้น

วัณโรคเป็นโรคที่พบได้บ่อยโดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา รวมถึงประเทศไทยและมีแนวโน้มจะทวีความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ นับตั้งแต่มีการระบาดของการติดเชื้อ HIVเป็นต้นมา[3-5] วัณโรคเยื่อหุ้มปอด (Tuberculous Pleural Effusion) เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อวัณโรคนอกปอด และยังเป็นสาเหตุที่พบบ่อยของภาวะสารน้ำในโพรงปอดในประเทศไทยด้วย โดยพบประมาณ 53-60%[6,7] ของผู้ป่วยที่มาด้วยปัญหาน้ำในโพรงปอดโดยไม่ทราบสาเหตุจากโรคทางกายอื่นๆ ปัญหาสำคัญในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น เนื่องมาจากการที่เชื้อที่เป็นสาเหตุคือเชื้อวัณโรคนั้นมีปริมาณน้อย (paucibacillary) ผู้ป่วยมักมาด้วยอาการของสารน้ำเป็นสำคัญ เช่น แน่นหน้าอก เหนื่อยง่าย ในรายที่มาเร็วอาจมีอาการเจ็บแปลบเวลาหายใจเข้าได้ นอกจากนั้นเป็นอาการที่ไม่จำเพาะเจาะจงเช่น ไข้ต่ำๆ อ่อนเพลีย เบื่ออาหารน้ำหนักลด เป็นต้น การตรวจเพื่อหาเชื้อวัณโรคตามหลักของการวินิจฉัยโรคติดเชื้อโดยทั่วไปก็พบได้น้อย กล่าวคือการย้อมสีทนกรดของน้ำเจาะปอดมักให้ผลลบ (0-5%) ยกเว้นในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ร่วมด้วยจะมีโอกาสพบได้มากขึ้น การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวกประมาณ 25-50% และ 32-76% [8-10] ตามลำดับดังนั้นในปัจจุบันจึงอาศัยการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดโดยพบการอักเสบแบบแกรนูโลมา (granulomatous inflammation) ซึ่งได้ผลประมาณ 50-60%[8,9] การตัดชิ้นเนื้อซ้ำจะได้ผลเพิ่มเป็น 80% และเมื่อร่วมกับการเพาะเชื้อจะได้ผลถึง 85-90%[9] แต่อย่างไรก็ตามการเพาะเชื้อใช้เวลานานและ 10-20 % ของผู้ป่วยยังไม่ได้

การวินิจฉัย และหลายครั้งที่อาจต้องให้การรักษาด้วยยาต้านวัณโรคไปก่อนแล้วติดตามดูผลการรักษา (Therapeutic diagnosis)

เนื่องจากปัญหาดังกล่าว จึงได้มีการศึกษาเพื่อพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเดิมให้มีความไวมากขึ้น เช่น การเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อสองชนิด [11] หรือในแบบพิเศษแบคเทค (Bactec) [10,11] การปั่นน้ำเจาะจากปอดปริมาณมากขึ้น (>100มล.) ก่อนเพาะเชื้อ [12] เป็นต้น ซึ่งทำให้มีความยุ่งยากและค่าใช้จ่ายมากขึ้น และยังมีความไวเพิ่มขึ้นไม่มากนัก

สำหรับวิธีการตรวจใหม่ที่นำมาใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น อาศัยการตรวจหาสารที่เกิดจากการกระตุ้นของเซลล์กลุ่มทีลิมโฟซัยท์ (T-lymphocyte) ได้แก่การตรวจหาสารอะดีโนซีน ดีอะมีเนส (adenosine deaminase-ADA) การตรวจหาสารลัยโซซัย์ม (lyzozyme) การตรวจหาสารอินเตอร์เฟียรอนแกมมา (interferon gamma–IFN-□) และการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม DNA ที่มีความจำเพาะกับเชื้อวัณโรคซึ่งได้แก่การใช้เทคนิค PCR เป็นต้น [13-16] ในการตรวจดังกล่าวนั้น การตรวจหาสาร ADA ในน้ำเจาะปอดเป็นวิธีที่มีข้อมูลมากที่สุดและมีความไวสูง [10,17-20] โดยเฉพาะการศึกษาในประเทศทางตะวันตก แต่ในการศึกษาต่อมา และที่ทำในชาวเอเชียพบว่าได้ผลไม่ดีเท่าในการศึกษาแรกๆ [2,10,16,21] และพบผลบวกลวงได้ในหลายโรค เช่น ในภาวะสารน้ำที่เกิดจากโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง โรค SLE โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคมะเร็งชนิดอะดีโน [2] และ โรคหนองในโพรงปอด (empyema) [22] เป็นต้น การตรวจหา lyzozyme มีความไวและความจำเพาะไม่ดีนัก การตรวจ IFN-□ โดยทั่วไปเป็นที่ยอมรับว่ามีความไวและจำเพาะกว่าการตรวจหาสาร ADA แต่ก็ยังพบผลบวกลวงได้โดยโรคที่กระตุ้นการทำงานของ T-lymphocyte อื่นๆ [13,21,24,25]

โดยทางทฤษฎีการตรวจทาง PCR น่าจะเป็นวิธีที่มีความจำเพาะต่อโรคมากที่สุดและตรงตามหลักการวินิจฉัยโรคติดเชื้อ เนื่องจากเป็นการตรวจหาสายพันธุกรรม DNA ของเชื้อที่เป็นสาเหตุคือเชื้อ มัยโคแบคทีเรียม ทูเบอร์คูโลซิส (*Mycobacterium tuberculosis*) และวิธีที่ใช้อยู่เป็นที่ยอมรับในการหาเชื้อที่มีปริมาณน้อยๆอยู่แล้วโดยมีการเพิ่มจำนวนสายพันธุกรรมดังกล่าวขึ้นอย่างมากมาย แต่เป็นที่น่าแปลกใจว่า จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการตรวจ PCR ของน้ำเจาะปอดมีความไวค่อนข้างต่ำ และแตกต่างกันมากในแต่ละการศึกษาคือ 20-81%[26-30] อย่างไรก็ตาม เนื่องจากความไวของการตรวจพบเชื้อจากเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีย้อมสีทนกรด และการเพาะเชื้อมีค่าสูงกว่าในน้ำเจาะปอดมาก กล่าวคือการย้อมสีทนกรดในน้ำเจาะปอดโอกาสพบเชื้อน้อยมาก ส่วนการย้อมสีในเยื่อหุ้มปอดพบเชื้อประมาณ 40% และจากการศึกษาของ Bueno

และคณะ [31] ซึ่งเปรียบเทียบความไวของการเพาะเชื้อเยื่อหุ้มปอดและน้ำเจาะปอดพบว่ามีค่าเท่ากับ 39 % และ13 % ตามลำดับ จึงน่าเชื่อได้ว่าการตรวจ PCR ของเยื่อหุ้มปอดน่าจะเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูง ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดจึงเป็นที่มาของการศึกษานี้

คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก (Primary Research Question)

การใช้เทคนิค PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอด ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดได้ดีหรือไม่ โดยหวังว่าจะมีค่าความไวไม่น้อยกว่า 90% ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบ เอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น (Lymphocytic exudative pleural effusions)

คำถามรอง (Secondary Research Question)

การตรวจโดยเทคนิค PCR ของเยื่อหุ้มปอดมีความไวสูงกว่าการตรวจ PCR ของน้ำเจาะปอดหรือไม่

ในสถานการณ์ปัจจุบันที่มีการระบาดของเชื้อ HIV ภาวะสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น มีสาเหตุจากโรคใดบ้างในอัตราส่วนเท่าใด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการใช้เทคนิค PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอด เพื่อวินิจฉัยภาวะสารน้ำในโพรงปอดที่มีสาเหตุจากวัณโรคว่ามีความไว และความจำเพาะเท่าไร

2. เพื่อเปรียบเทียบการตรวจโดยวิธี PCR ของเยื่อหุ้มปอดกับการตรวจวิธีอื่นๆ เช่น การตรวจ PCR ของน้ำเจาะปอด การตรวจทางพยาธิวิทยา การตรวจหาเชื้อทั้งการย้อมสีทนกรดและการเพาะเชื้อว่าสามารถวินิจฉัยโรคได้ต่างกันเพียงไร

3. เพื่อศึกษาความชุกของวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดและมีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น ในปัจจุบัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมมติฐาน

1. วัณโรคเยื่อหุ้มปอดเป็นโรคติดเชื้อ *M.tuberculosis* แต่ปัญหาคือเชื้อมีปริมาณน้อยมาก การใช้เทคนิค PCR ซึ่งยอมรับกันโดยทั่วไปว่าสามารถเพิ่มจำนวนสายพันธุกรรมขึ้นเป็นจำนวนมากได้ และมีความจำเพาะต่อโรคน่าจะเป็นวิธีที่ดีในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

2. ในผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น ปริมาณเชื้อวัณโรคที่มีอยู่ในเยื่อหุ้มปอด มีปริมาณมากกว่าในน้ำเจาะปอด ดังนั้นการใช้เทคนิค PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอดจึงมีความไวมากกว่าตรวจจากน้ำเจาะปอด

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้ทำการศึกษาใน ผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดที่มารับการเจาะปอดที่ ตึกสันติวัน หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนกันยายน 2543 และจะต้องเป็นผู้ป่วยที่ยังไม่ทราบการวินิจฉัยถึงสาเหตุของสารน้ำนั้น และมีความจำเป็นต้องทำการเจาะปอดอยู่แล้ว และคัดเลือกศึกษาเฉพาะกลุ่มที่เป็นสารน้ำแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ ลิมโฟซัยที่เด่นเท่านั้น

ข้อตกลงเบื้องต้น

การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด [1,2,8,9,32] จากข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้คือ

1. สามารถแยกเชื้อ *M.tuberculosis* ได้จากน้ำเจาะปอดหรือเยื่อหุ้มปอด

2. การตรวจทางพยาธิวิทยาของเยื่อหุ้มปอดพบเป็นแบบ caseous granuloma หรือเป็นแบบ granulomatous inflammation ร่วมกับย้อมสีทนกรดพบ acid fast bacilli

3. การตรวจทางพยาธิวิทยาพบ granulomatous inflammation และประวัติ ลักษณะทางคลินิก การดำเนินโรคเข้าได้กับสารน้ำที่เกิดจากเชื้อวัณโรค และตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค

4. การตรวจทางพยาธิวิทยาไม่จำเพาะต่อวัณโรค แต่ประวัติ ลักษณะทางคลินิก การดำเนินโรคเข้าได้กับสารน้ำที่เกิดจากเชื้อวัณโรคและตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค กลุ่มนี้จะวินิจฉัยเป็น “น่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด”

การวินิจฉัยภาวะสารน้ำในโพรงปอดที่มีสาเหตุจากมะเร็ง [33] จากข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้คือ

1. พบเซลล์มะเร็งในน้ำเจาะปอดจากการตรวจทางเซลล์วิทยา
2. พบเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดจากการตรวจทางพยาธิวิทยา

ในรายที่ผลการเจาะสารน้ำและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจให้ผลลบไม่เข้าเกณฑ์ การวินิจฉัยทั้งวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและภาวะสารน้ำที่เกิดจากมะเร็งนั้น มีแนวปฏิบัติดังนี้

1. ผู้ป่วยที่อาการทางคลินิกบ่งว่าน่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด จะให้การรักษาด้วยยาต้านวัณโรคไปเลย และติดตามดูการตอบสนองต่อการรักษาโดยประเมินจากอาการทางคลินิกและภาพรังสีปอดที่เวลา 8 สัปดาห์หลังการรักษา จะถือว่ามีการตอบสนองต่อการให้ยาต้านวัณโรคเมื่อผู้ป่วยหายจากไข้ ไอ เหนื่อย เจ็บหน้าอก มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ภาพรังสีปอดมีปริมาณสารน้ำลดลงมากกว่า 50% ในผู้ป่วยบางรายอาจยังมีอาการเจ็บเสียดหน้าอกเวลาหายใจลึกหรือ จาม หรือสะอึกซึ่งสัมพันธ์กับการที่มีเยื่อหุ้มปอดหนาและอาจคงอยู่ได้เป็นเวลานาน ในรายที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาให้พิจารณาเจาะน้ำและตัดเยื่อหุ้มปอดซ้ำ

2. ผู้ป่วยที่อาการทางคลินิกและผลการสืบค้นอื่นๆ บ่งชี้ว่าสารน้ำน่าจะมีสาเหตุจากมะเร็งให้พิจารณาเจาะน้ำและตัดเยื่อหุ้มปอดซ้ำ สำหรับในรายที่มีโรคมะเร็งในระบบอื่นกำลังดำเนินอยู่และสามารถอธิบายการเกิดสารน้ำในโพรงปอดได้และไม่พบโรคอื่นที่อาจเป็นสาเหตุได้ จะให้การวินิจฉัยว่ามี สารน้ำในโพรงปอดที่เกี่ยวเนื่องกับมะเร็ง (Paramalignant Effusion)

3. การวินิจฉัยว่าสารน้ำมีสาเหตุจากโรคอื่นๆ เมื่อพบโรคที่อธิบายสาเหตุของสารน้ำในโพรงปอดนั้นได้และมีลักษณะทางคลินิก ลักษณะของสารน้ำ การวินิจฉัยเฉพาะ การดำเนินโรคและการตอบสนองต่อการรักษาสอดคล้องร่วมไปกับโรคนั้นๆ ซึ่งจะได้รับการตรวจเพิ่มเติมตามมาตรฐานการวินิจฉัยโรคที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อจำกัดของการวิจัย

1. การศึกษานี้เลือกทำในประชากรผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่นมากกว่า 50 % เท่านั้นซึ่งเป็นลักษณะสำคัญและพบได้บ่อยที่สุดในสารน้ำที่เกิดจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอด อย่างไรก็ตามผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดบางรายอาจพบมีสารน้ำลักษณะอื่น เช่นมีเซลล์ PMN เด่นได้ จึงไม่ควรนำผลการศึกษานี้ไปใช้กับผู้ป่วยที่แตกต่างจากประชากรที่ศึกษาโดยไม่มีข้อมูลที่มากเพียงพอ

2. การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดอาศัยหลายวิธีร่วมกันผลที่ได้จะไม่ถึง 100 % การตรวจบางอย่างเช่นการเพาะเชื้อใช้เวลานาน และบางครั้งผลที่ได้ต้องร่วมกับการตอบสนองต่อการรักษา ถ้าผู้ป่วยขาดการติดตามการรักษาไปจะทำให้ต้องตัดผู้ป่วยออกจากการศึกษาซึ่งถ้าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีจำนวนมากจะทำให้การวิจัยนี้มีความเชื่อถือลดลงได้

3. การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยที่ไม่พบลักษณะทางจุลชีววิทยา และทางพยาธิวิทยาที่จำเพาะต่อการติดเชื้อวัณโรคแต่อาศัยลักษณะทางคลินิกและการตอบสนองต่อการรักษานั้นอาจมีโอกาสวินิจฉัยผิดได้บ้าง ถ้าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีในอัตราส่วนที่มาก จะทำให้ความน่าเชื่อถือของงานวิจัยนี้ลดลงได้

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

ภาวะสารน้ำแบบเอกซูเดท (Exudative Pleural Effusion) [34] หมายถึง สารน้ำที่เกิดเนื่องจากความผิดปกติของเยื่อหุ้มปอดเอง ในที่นี้ใช้มาตรฐานการแยกตามของ Light คือมีลักษณะเข้ากับข้อใดข้อหนึ่งดังนี้คือ

1. อัตราส่วนของโปรตีนในน้ำเจาะปอดกับในเลือดมีค่ามากกว่า 0.5
2. อัตราส่วนของ LDH ของน้ำเจาะปอดกับในเลือดมีค่ามากกว่า 0.6
3. ค่า LDH ในน้ำเจาะปอดมีค่ามากกว่า สองในสาม ของค่าปกติสูงสุดของ LDH ในเลือด

สารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น (Lymphocytic Exudative Pleural Effusion) [35] หมายถึง Exudative Pleural Effusion ที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์มากกว่า 50 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด

<u>ปริมาณสารน้ำในโพรงปอดจากภาพรังสีปอด</u>

ปริมาณน้อย (mild) คือ ปริมาณสารน้ำน้อยกว่าหนึ่งในสามของทรวงอกหนึ่งข้าง

ปริมาณปานกลาง (moderate) คือ ปริมาณสารน้ำอยู่ระหว่างหนึ่งในสามถึงสองในสามของทรวงอกหนึ่งข้าง

ปริมาณมาก (massive) คือ ปริมาณสารน้ำมากกว่าสองในสามของทรวงอกหนึ่งข้าง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบว่าการใช้เทคนิค PCR ตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด มีประโยชน์ในการวินิจฉัย วัณโรคเยื่อหุ้มปอดหรือไม่ เพียงใด โดยวัดจากค่าสถิติเป็น ความไว และความจำเพาะ ความถูกต้อง ซึ่งหากได้ผลดีย่อมสามารถพัฒนาวิธีการตรวจในปัจจุบัน รวมทั้งอาจเป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยโรคต่อไปในอนาคต

2. เป็นข้อมูลพื้นฐานของการวิจัยต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้เทคนิค PCR ในประเทศที่มีความชุกของวัณโรคสูงรวมทั้งประเทศไทย

3. ทราบถึงผลการตรวจโดยวิธีอื่นๆ เช่น การเพาะเชื้อ การย้อมสีทนกรด การตรวจทางพยาธิวิทยา เพื่อเปรียบเทียบว่าห้องปฏิบัติการที่ดำเนินการ อยู่ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์นั้นมีมาตรฐานเพียงใด

4. ทราบถึงความชุกของวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอด แบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่นในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในช่วงเวลาดังกล่าว

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการการแก้ไข

1. เทคนิค PCR อาจให้ผลบวกลวงได้จากการปนเปื้อน สามารถแก้ไขโดยการตรวจสอบวิธีการวัดให้เป็นมาตรฐานโดยใช้สาร Uracil N-glycosylate ทำลาย PCR product ก่อนเริ่ม PCR cycling โดยที่ในช่วง amplify DNA ใช้ dUTP แทน dTTP วิธีการเก็บตัวอย่าง การตรวจตามขั้นตอนอย่างเคร่งครัด นอกจากนั้นยังมีการตรวจสอบมาตรฐานของห้องปฏิบัติการอยู่เป็นประจำอยู่แล้วด้วย

2. เทคนิค PCR อาจให้ผลลบลวงได้จากการมีสารยับยั้ง (inhibitor) ต่อ เอ็นไซม์ Taq polymerase สามารถแก้ไขได้โดยการทำ positive control และ negative control ควบคู่กันไปด้วยเสมอ

3. ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HIV ร่วมด้วย อาจมีจำนวนเชื้อที่มากกว่าปกติซึ่งทำให้ผลการตรวจมีค่าความไวและความจำเพาะสูงเกินจริงได้ หากมีผู้ป่วยกลุ่มนี้ในการศึกษาในอัตราส่วนที่มาก สามารถแก้ไขได้โดย การเจาะเลือดตรวจหาการติดเชื้อ HIV ในผู้ป่วยทุกรายที่

ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด และมีการแยกวิเคราะห์ผลเป็นกลุ่มย่อยที่มีและไม่มีการติดเชื้อ HIV ร่วม

4 การเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ในการศึกษานี้มี วิธีการ และขั้นตอนที่ต่าง ไปจากที่ทำอยู่ตามปกติ จึงอาจมีปัญหาเรื่องการเก็บตัวอย่างที่ไม่เพียงพอหรือไม่ถูกต้องได้ สามารถแก้ไขได้โดยต้องทำความเข้าใจและขอความร่วมือจากแพทย์เจ้าของไข้ และเจ้าหน้าที่ทุกคนที่มีส่วนร่วมในการศึกษา มีการทดลองทำในช่วงแรกเพื่อหาจุดบกพร่องและนำมาแก้ไข ผู้วิจัยจะต้องอยู่ดูแลและให้คำแนะนำในกรณีที่มีปัญหาตลอดการวิจัยและสำหรับการนำส่งไปยังภาควิชาจุลชีววิทยา เพื่อตรวจทาง PCR นั้น จะส่งโดยผู้วิจัยเท่านั้นทุกรายเพื่อป้องกันความล่าช้า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับวัณโรค

เชื้อวัณโรค ลักษณะโดยทั่วไป [36,37]

เชื้อวัณโรค เฉพาะที่ก่อโรคในมนุษย์นั้น จัดอยู่ในกลุ่ม tubercle bacillus หรือที่ เรียกว่า Mycobacterium Tuberculosis Complex ซึ่งประกอบไปด้วย 4 species คือ

M. tuberculosis และ *M. africanum* ทำให้เกิดวัณโรคในมนุษย์

M. bovis ทำให้เกิดวัณโรคในวัว ควาย และทำให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ด้วย

M. microti ทำให้เกิดวัณโรคในสัตว์แทะแต่ไม่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์

เชื้อในกลุ่มดังกล่าวเป็นเชื้อที่มี virulence สูง และสามารถติดต่อระหว่างคนสู่คนได้ทาง droplet infection

M. tuberculosis เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญของวัณโรคในมนุษย์ มีรูปร่างเป็นทรงแท่ง หนาประมาณ 0.3 ไมครอน ยาวประมาณ 3 ไมครอน เมื่อย้อมด้วยสีแกรม จะติดสีแกรมจางๆ เมื่อย้อมด้วยสีประเภท acrylmethane dye เช่น carbolfuchsin ตามวิธี Ziehl-Neelsen จะติดสีแดงสดที่ทนต่อการล้างด้วยกรด คือมีคุณสมบัติเป็น acid-fastness ซึ่งเกิดเนื่องจากการมี ไขมันโดยเฉพาะ mycolic acid เป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์มากทำให้การซึมผ่านของสารต่างๆที่เป็นสารประเภทมีขั้ว ไม่ค่อยดีนัก คุณสมบัติดังกล่าวพบได้ในเชื้อ genus Mycobacterium. แบคทีเรียใน genus อื่นบางตัว เช่น Nocardia , Rhodococcus เป็นต้น ก็มีคุณสมบัตินี้เช่นกันแต่การติดสี acid-fast จะไม่สม่ำเสมออย่างที่พบในพวก Mycobacterium เนื่องจาก mycolic acid มีขนาดเล็กกว่า เชื้อ M. tuberculosis เป็นเชื้อที่พบในรอยโรคของผู้ป่วยเท่านั้นไม่พบในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชีวโมเลกุลของเชื้อวัณโรค

เชื้อวัณโรค เป็นเชื้อที่มีขนาดจีโนมเท่ากับ 4,411,529 คู่เบส มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ $3x10^6$ กิโลดาลตัน ประกอบด้วยเบส guanine , cytosine สูงถึง 65.6 % ซึ่งสูงกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ [38]

ในจีโนมของมัยโคแบคทีเรียแต่ละชนิด จะมีส่วน DNA insertion sequence ที่ไม่เหมือนกัน ดังแสดงในตาราง

ลำดับเบส	เชื้อ	จำนวน copies
IS6110 (IS986)	M. tuberculosis complex	0-20
IS1081	M. tuberculosis complex	5-6
IS1245	M. avium	2-27
IS901	M. avium (birdpathogen only)	2-8
IS900	M. paratuberculosis	15-20
IS100	M. fortuitum, single strain	4

Insertion sequence ที่พบใน *M. tuberculosis* มีชื่อเรียกว่า IS6110 ซึ่งพบได้ใน *M. bovis* ด้วย แต่พบใน *M. tuberculosis* สูงกว่าที่พบใน *M. bovis* (5-17 copies ในเชื้อ *M. tuberculosis* และ 1-5 copies ในเชื้อ *M. bovis*)

IS6110 เป็นส่วนของสารพันธุกรรม DNA ที่มีความยาว 1361 คู่เบส และมีส่วนปลาย 28 คู่เบส เนื่องจากความจำเพาะดังกล่าว และแม้ว่า *M. bovis* จะสามารถก่อโรคในคนได้แต่พบน้อยมาก จึงได้มีการประยุกต์นำเอา IS6110 มาเป็นไพรเมอร์ (primer) ในปฏิกิริยา PCR เพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคในสิ่งส่งตรวจ นอกจากนี้ยังใช้ในการทำ DNA fingerprint กล่าวคือเมื่อสกัดเอา สายพันธุกรรม DNAจากเชื้อที่เพาะขึ้นแล้ว ใช้เอ็นซัยม์ endonuclease Pvu II เพื่อตัด DNA ที่อยู่ใน IS6110 นั้น แล้วนำมาแสดงผลโดย gel electrophoresis ลักษณะของแถบที่เหมือนกันจะบอกว่าเป็นเชื้อ *M. tuberculosis* สายพันธุ์เดียวกัน แถบที่ต่างกันก็บ่งถึงสายพันธุ์ที่ต่างกันจึงมีประโยชน์ในแง่การสืบสวนการระบาดของวัณโรคได้

นอกจากนี้ในเชื้อวัณโรคส่วนที่เป็น ribosome จะมี RNA ที่มีคุณลักษณะจำเพาะเรียกว่า 16S rRNA ซึ่งมีอยู่ประมาณ 2000 copies ต่อเซลล์ จึงสามารถใช้เป็น RNA เป้าหมายในการตรวจหาเชื้อวัณโรคได้เช่นเดียวกับ การตรวจหา IS6110 ในกรณีของ DNA

มีการศึกษาเกี่ยวกับการดื้อยาของเชื้อวัณโรคในระดับยีน พบว่าการดื้อยาต่อยา ไอโซไนอะซิด มีความผิดปกติของยีน 2 ชนิดที่เรียกว่า katG และ inhA ยีน katG มีหน้าที่ควบคุมการสร้างเอ็นซัยม์ catalase-peroxidase ส่วนยีน inhA ควบคุมการสร้างกรดไขมันอิสระ เชื้อวัณโรคที่ดื้อยาไอโซไนอะซิด เกือบทั้งหมดจะมี การขาดหายหรือการเปลี่ยนแปลงของยีน katG มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของยีน inhA สำหรับการดื้อต่อยาไรแฟมปิซิน นั้นพบว่า 97 % มีการเปลี่ยนแปลงของยีน rhoB ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่ ควบคุมการสร้างส่วนย่อยหนึ่งของเอ็นซัยม์ RNA polymerase ชนิดที่ต้องอาศัย DNA ส่วนยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาตัวอื่นๆยังไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กันชัดเจนเท่าที่กล่าวมาแล้ว

ดังจะเห็นได้ว่า การศึกษาทางชีวโมเลกุลที่พัฒนาขึ้นนั้น ทำให้เกิดความรู้ใหม่มากมาย บางอย่างก็ได้ทำลายความเชื่อเก่า เช่น การที่เชื้อวัณโรคมีอัตราการแบ่งตัวช้า เพาะเชื้อได้ยากนั้นเดิมเชื่อว่าเป็นเพราะผนังเซลล์ซึ่งมีไขมันสูง จึงกีดขวางทำให้สารต่างๆเข้าสู่เซลล์ได้ไม่ดี แต่ในปัจจุบันพบว่าเกิดจากจำนวน copies ของยีนที่ควบคุมการสร้าง RNA ที่แตกต่างกันมากกว่า นอกจากนั้น การเข้าใจถึงลักษณะเฉพาะ กลไกการดื้อยา ยังอาจนำไปสู่การพัฒนาวิธีวินิจฉัยใหม่ตลอดจน ยาใหม่ๆ ที่จะช่วยในการรักษาวัณโรคให้มีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคตได้

วัณโรค สถานการณ์และผลกระทบจากการแพร่กระจายของการติดเชื้อ HIV และความสำคัญของการวิจัยเกี่ยวกับการวินิจฉัยวัณโรคนอกปอด

ในปัจจุบัน วัณโรคจัดได้ว่ามีความสำคัญในระดับโลก นับตั้งแต่การระบาดของการติดเชื้อไวรัส HIV เป็นต้นมา วัณโรคเป็นสาเหตุการตายที่สูงที่สุดในกลุ่มโรคติดเชื้อ ในปี 2534 องค์การอนามัยโลกได้ประมาณว่ามีผู้ติดเชื้อวัณโรคมากถึง 1700 ล้านคนทั่วโลก และมีผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ 8 ล้านคนต่อปีและเสียชีวิต 3 ล้านคนต่อปี [39] โดยเกือบ 95 % ของผู้เสียชีวิตอยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนา และ 80 % อยู่ในวัยทำงานคือช่วงอายุ 15-59 ปี ซึ่งทำให้มีผลต่อการพัฒนาประเทศและเศรษฐกิจโดยรวม

สำหรับในประเทศไทยนั้น [40] แม้ว่าอัตราป่วยและอัตราตายของวัณโรคได้ลดลงอย่างมากในช่วงปี 2482 ถึง 2534 ก็ตาม แต่หลังจากปี 2534 เป็นต้นมานั้น พร้อมๆกับการแพร่กระจายของโรคติดเชื้อ HIV และโรคเอดส์ ทำให้จำนวนผู้ป่วยวัณโรคเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆโดยเฉพาะในเขตภาคเหนือตอนบนที่มีการระบาดของเอดส์รุนแรง มีอัตราการงานรายป่วยวัณโรคเพิ่ม 3-7 % ต่อปี ในช่วงปี 2532-2538 ทำให้จำนวนผู้ป่วยวัณโรคในบางจังหวัดเพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า

โรคเอดส์เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อและการป่วยเป็นวัณโรค ที่สำคัญที่สุดในปัจจุบัน ซึ่งมากกว่าโรคอื่นๆที่เคยกล่าวถึงมาแล้วในอดีต เช่น โรคเบาหวาน หรือ โรคซิลิโคซิส เป็นต้น เมื่อผู้ป่วยเอดส์ติดเชื้อวัณโรคแล้วจะมีโอกาสป่วยเป็นวัณโรคสูงกว่าคนที่ไม่ติดเชื้อโรคเอดส์มาก กล่าวคือโอกาสเสี่ยงต่อการป่วยเป็นวัณโรคในคนที่ติดเชื้อทั้งสองชนิด เท่ากับ 5-10 %ต่อปี และความเสี่ยงตลอดช่วงที่มีชีวิตอยู่ประมาณ 50 % [41] ซึ่งสูงกว่าคนทั่วไปที่ติดเชื้อวัณโรคเพียงอย่างเดียวจะมีโอกาสป่วยเป็นวัณโรคเพียง 5-10 % ตลอดช่วงชีวิต [42] และแม้รักษาหายแล้วก็ยังสามารถติดเชื้อซ้ำป่วยได้อีก วัณโรคเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบบ่อยที่สุดในผู้ป่วยเอดส์ที่รับเข้ารักษาในโรงพยาบาล นอกจากนั้น วัณโรคเกือบจะเป็นโรคติดเชื้อแทรกซ้อนเดียวในผู้ป่วยเอดส์ที่สามารถแพร่เข้าสู่คนปกติรอบข้างได้ ผู้ป่วยเอดส์มีโอกาสแพ้ยาที่ใช้รักษาวัณโรคได้ง่ายกว่าปกติคือประมาณ 10-15 % ทำให้มีโอกาสขาดยาสูงขึ้นซึ่งเป็นอุปสรรคในการรักษาและทำให้มีโอกาสเกิดเชื้อวัณโรคดื้อยาเพิ่มมากขึ้นด้วย

การเพิ่มขึ้นของเชื้อวัณโรคดื้อยา จากข้อมูลที่ได้จากการทดสอบการดื้อยาใน ผู้ป่วยวัณโรคที่รวบรวมโดยกองวัณโรค พบว่า ระหว่างปี 2534-2537 [43] อัตราการดื้อยาแรกเริ่มเพิ่มจาก 17.7 % เป็น 23.2 % โดยในปี 2537 ยาที่ดื้อขนานเดียวตั้งแต่เริ่มแรกคือ ยาสเตร็พโตมัยซิน รองลงมาคือ ยาไอโซไนอะซิด และสำหรับกลุ่มที่ดื้อต่อยาไอโซไนอะซิด และ ยาไรแฟมปิซิน ขึ้นไป (Multidrug resistance) เพิ่มจาก 1.9 % เป็น 5.14 % แสดงให้เห็นแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเนื่องมาจากประสิทธิภาพในการรักษาที่มีอัตราการหายต่ำ มีการขาดการรักษาสูง และระบบยารักษาซ้ำที่ไม่ดีพอ รวมทั้งการระบาดของการติดเชื้อเอดส์ดังกล่าวแล้วด้วย

ปัญหาหลักในการลดอุบัติการณ์ของวัณโรค คือ จำเป็นต้องทำควบคู่ไปกับการควบคุมการระบาดของการติดเชื้อ HIV ต้องมีการวางระบบการรักษาผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ ที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งแบ่งออกเป็นวัณโรคปอด และวัณโรคนอกปอด ในการรักษาวัณโรคปอด ปัญหาสำคัญคือการให้ผู้ป่วยได้รับยาที่ถูกต้องและครบถ้วนต่อเนื่อง เพื่อไม่ให้เกิดการดื้อยาตามหลังองค์การอนามัยโลกได้แนะนำ การใช้มาตรการณ์รักษาแบบระยะสั้นภายใต้การสังเกตโดยตรง [44]

หรือ DOTS (directed observed treatment, short course) เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวซึ่งในปัจจุบันประเทศต่างๆรวมทั้งประเทศไทยได้รับเอานโยบายดังกล่าวมาปฏิบัติ และมีหลักฐานยืนยันในหลายประเทศว่าสามารถเพิ่มอัตราการหายจากวัณโรคได้ดี [45,46] โดยการใช้ระบบยารักษาในสูตรเดิม สำหรับวัณโรคนอกปอด เช่น วัณโรคเยื่อหุ้มปอด วัณโรคต่อมน้ำเหลืองนั้น เนื่องจากเชื้อที่เป็นสาเหตุมีปริมาณน้อย และการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อหาเชื้อทำได้ยากกว่า ปัญหาการรักษาจึงอยู่ที่การวินิจฉัยโรคให้ถูกต้องเพื่อป้องกันการเกิดตามมาของวัณโรคปอดและที่อวัยวะอื่นที่มีความรุนแรงและมีโอกาสแพร่เชื้อมากขึ้น ซึ่งถือได้ว่าการวิจัยในเรื่องดังกล่าวมีความสอดคล้องกับความต้องการของประเทศไทยในปัจจุบัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

วัณโรคเยื่อหุ้มปอด [1,2]

พยาธิกำเนิดและพยาธิสรีรวิทยา

การเกิดของวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้นเชื่อว่าเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นเฉพาะส่วนของภูมิคุ้มกันแบบพึ่งพาเซลล์ (cell mediated immunity) โดยอาจเป็นผลจากการติดเชื้อที่ได้รับเมื่อ 6-12 สัปดาห์ก่อน (postprimary) หรือเกิดจากการกำเริบของเชื้อวัณโรค (reactivation) ก็ได้ เริ่มแรก mycobacteria สามารถเข้าสู่โพรงเยื่อหุ้มปอดได้โดยผ่านการแตก (rupture) ของ subpleural caseous focus ในปอด โดยมีหลักฐานสนับสนุนจากการค้นพบของ Stead และคณะ [47] ซึ่งได้ รายงานการตรวจพบ caseous tuberculous focus ในปอด บริเวณที่ใกล้กับเยื่อหุ้มปอดที่มี ความผิดปกติขณะทำการผ่าตัด ผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 12 รายจากทั้งหมด 15 ราย โดยผู้ป่วยอีก 3 รายที่เหลือในรายงานนั้นมีวัณโรคปอดร่วมด้วย แม้จะไม่พบ caseous foci บริเวณใกล้ๆกับเยื่อหุ้มปอดก็ตาม

กลไกในการเกิดสารน้ำในวัณโรคเยื่อหุ้มปอดขึ้นนั้น เชื่อว่าเกิดจาก ปฏิกิริยาแบบ Delayed type hypersensitivity มีการศึกษาในสัตว์ทดลอง [48-50] แสดงถึงปฏิกิริยาดังกล่าวโดยเมื่อฉีด Purified protein derivative (PPD) เข้าในโพรงเยื่อหุ้มปอด ของสัตว์ที่เคยถูก immunize ด้วย tuberculous protein มาก่อน 3-5 สัปดาห์แล้ว จะทำให้เกิดสารน้ำที่มีลักษณะเป็นเอกซูเดทขึ้นภายใน 12-48 ชั่วโมง และถ้าให้ antilymphocyte serum เข้าไปก่อนจะสามารถป้องกันการเกิดสารน้ำได้ [50] ซึ่งมีรูปแบบการกระตุ้นและ ยับยั้งเหมือนกับที่พบใน Delayed type hypersensitivity ต่อ PPD ที่ผิวหนัง ในการศึกษาพบว่าใน 24 ชั่วโมงแรก [51] เซลล์ที่พบมากในน้ำเจาะปอดจะเป็นเซลล์ชนิด PMN ต่อมาจะพบเซลล์แมคโครฟาจ ในวันที่ 2-5 และหลังจากนั้นจะมีเซลล์ลิมโฟซัยท์มากขึ้นจนในที่สุดเป็นเซลล์ที่มากที่สุดในน้ำเจาะปอด ซึ่งเซลล์ในช่วงหลังจะมีบทบาทในการเกิด granuloma ต่อไป ซึ่งเกี่ยวข้องกับสารต่างๆมากมายเช่น interleukin 2 , IFN γ เป็นต้น ถ้าทำให้สัตว์เกิดภาวะที่มีเซลล์ PMN ต่ำในเลือด (neutropenia) ก่อน พบว่าจะทำให้การเกิดสารน้ำในโพรงเยื่อหุ้มปอดรวมทั้งการอักเสบลดลง [51] ซึ่งจะกลับเป็นปกติได้โดยการฉีด PMN เข้าไปในโพรงเยื่อหุ้มปอด จากข้อมูลดังกล่าวทำให้เกิดความคิดว่า เซลล์ PMN ในโพรง

เยื่อหุ้มปอดเป็นเซลล์ที่มีความสำคัญในการเกิดสารน้ำในวัณโรคเยื่อหุ้มปอด และหลั่งสารดึงดูดเซลล์อื่นๆเข้ามาในภายหลัง

เมื่อเกิดปฏิกิริยาแบบ Delayed type hypersensitivity ขึ้นจะทำให้เกิดการเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านได้ (permeability) ของเยื่อหุ้มปอดต่อโปรตีน ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณโปรตีนซึ่งทำให้ oncotic pressure ในการดึงน้ำไว้ภายในโพรงเยื่อหุ้มปอดเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีหลักฐานว่า มีการกีดขวางการกลับของสารน้ำและโปรตีนทางรู (stomata) ที่เยื่อหุ้มปอดด้าน parietal ด้วยซึ่งร่วมกันทำให้เกิดการสะสมของสารน้ำในโพรงเยื่อหุ้มปอดในที่สุด [52]

<u>อุบัติการณ์</u>

อุบัติการณ์ของวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น มีความแตกต่างกันมากในแต่ละท้องถิ่น เช่นเดียวกับการติดเชื้อวัณโรค โดยพบประมาณ 20-35 % ของผู้ป่วยวัณโรคทั้งหมด ข้อมูลในปัจจุบันยังไม่มีความแน่ชัดว่า การติดเชื้อ HIV ร่วมจะทำให้เกิดวัณโรคเยื่อหุ้มปอดเพิ่มขึ้นหรือไม่ แม้ว่าในทางทฤษฎีอาจเชื่อได้ว่าขณะที่ภูมิคุ้มกันลดลงในผู้ป่วย HIV ระยะหลังและผู้ป่วยเอดส์น่าจะทำให้มีผลให้การเกิดสารน้ำลดลงได้ เนื่องจากกลไกการเกิดโรคนี้อาศัยปฏิกิริยาแบบ Delayed type hypersensitivity ซึ่งพบว่ามีน้อยลงในผู้ป่วยกลุ่มนี้ [53,54]

<u>อาการทางคลินิก</u>

โดยทั่วไปผู้ป่วยมักมีอาการมาไม่นาน ในการศึกษาหนึ่ง [55] พบว่า 30 % ของ ผู้ป่วยมีอาการมาน้อยกว่าหนึ่งสัปดาห์ และ 60 % มีอาการน้อยกว่า 1 เดือน อาการที่พบส่วนมากประมาณ 70 % ของผู้ป่วยมีอาการไอแห้งๆ ส่วนอาการเจ็บหน้าอก พบประมาณ 50 -70 % ซึ่งมักเป็นแบบ pleuritic คือมีอาการเจ็บแปลบเวลาหายใจเข้า ผู้ป่วยมักมีไข้ แม้ว่าบางรายอาจมาด้วยอาการแบบเรื้อรังได้ เช่น มีไข้ต่ำๆ อ่อนเพลีย และมีอาการเหนื่อยจากสารน้ำ [12,56,57]

สารน้ำในผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด มักพบข้างเดียว โอกาสเกิดข้างขวามากกว่าข้างซ้าย ส่วนน้อยพบสารน้ำทั้งสองข้าง ปริมาณสารน้ำ มักอยู่ในระดับน้อยถึงปานกลาง [12,57] แม้ว่าบางรายอาจพบสารน้ำเต็มทั้งข้างก็ได้ ในการศึกษาหนึ่ง [58] พบว่า ผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดปริมาณมากๆ นั้นมีสาเหตุจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอดได้ประมาณ 4 % นอกจากนั้นหนึ่งในสามของ

ผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดจากวัณโรค จะพบความผิดปกติของเนื้อปอดจากภาพรังสีปอดร่วมด้วย [12]

สารน้ำในโรคนี้จะเป็นแบบเอกซูเดท มักมีสีเหลืองฟาง มีโปรตีนสูงเฉลี่ยประมาณ5.0 กรัม/ดล. เม็ดเลือดขาวที่พบเด่นมากกว่า 50 % คือเซลล์ชนิดลิมโฟซัยท์ แม้ว่าในรายที่มีอาการมาน้อยกว่า 2 สัปดาห์อาจพบเซลล์ชนิด PMN เด่นกว่าได้ [55]

ธรรมชาติของโรค

จากการศึกษาของ Roper และ Waring [59] ซึ่งได้ติดตามผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดและให้ผลบวกต่อการทำการตรวจสอบที่ผิวหนังด้วย PPD จำนวน 141 คน พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่อาการและสารน้ำจะหายไปภายใน 2-4 เดือน แต่ผู้ป่วยจำนวน 92 รายใน 141 ราย (65%) เกิดวัณโรคขึ้นที่ปอดหรือที่อวัยวะอื่นตามมาภายใน 5 ปี โดยไม่มีความสัมพันธ์กับ ปริมาณสารน้ำหรือการเกิดเยื่อหุ้มปอดหนาตัวหรือผลการเพาะเชื้อของสารน้ำเลย

การรักษาวัณโรคเยื่อหุ้มปอดด้วยยาต้านวัณโรค สามารถลดการเกิดวัณโรคปอดหรือที่อวัยวะอื่นที่เกิดตามมาได้ การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดอย่างถูกต้องจึงมีความสำคัญต่อการรักษาวัณโรคโดยรวมด้วย

การวินิจฉัย [1,2,52]

การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด อาศัยความรู้ทางพยาธิกำเนิดและพยาธิสรีรวิทยาดังกล่าวแล้วโดยสามารถแบ่งได้ดังนี้คือ

1. การตรวจหาเชื้อที่เป็นสาเหตุคือเชื้อวัณโรคนั่นเอง เช่น

1.1 การย้อมสีทนกรดด้วยวิธี Ziehl-Neelsen จากเสมหะ น้ำเจาะปอดหรือชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด โดยทั่วไปการตรวจจากเสมหะไม่ใช่การวินิจฉัยชี้ชัด การตรวจจากน้ำเจาะปอดนั้นไม่ได้ทำตามปกติเนื่องจากมีโอกาสพบเชื้อน้อยมาก ส่วนการย้อมในชิ้นเนื้อ เยื่อหุ้มปอดนั้นควรทำทุกรายที่สงสัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดแม้ว่าการตรวจทางพยาธิวิทยาไม่ให้ลักษณะเฉพาะก็ยังมีโอกาสพบเชื้อได้

1.2 การเพาะเชื้อวัณโรคจาก เสมหะ น้ำเจาะปอด หรือ ชิ้นเนื้อ เยื่อหุ้มปอด การเพาะเชื้อจากเสมหะบ่งถึงวัณโรคปอดไม่ชี้ชัด ถึงสารน้ำในโพรงปอดแต่อาจรักษาแล้วติดตามอาการได้ การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด มีความไวประมาณ 23-35 %

และ 50-80 % ตามลำดับ [8-10] และหากชิ้นเนื้อไม่พบลักษณะเฉพาะทางพยาธิวิทยาพบว่ามีโอกาสพบเชื้อเพียง 10 % [31] การใช้ระบบ BACTEC ในการเพาะเชื้อจะทำให้ทราบผลเร็วขึ้นจากเฉลี่ย 33 วันเหลือ 18 วัน (ค่ามัธยฐาน) แต่เพิ่มความไวของการเพาะเชื้อเพียงเล็กน้อย [10]

1.3 การใช้เทคนิค PCR ตรวจน้ำเจาะปอด เพื่อหาสายพันธุกรรม DNA ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อวัณโรค เป็นต้น ซึ่งจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป

2. การตรวจเพื่อหาหลักฐานของปฏิกิริยาแบบ delayed type hypersensitivity เช่น การตรวจทางผิวหนังด้วยสาร PPD เป็นต้น มีความไวประมาณ 70 % และความจำเพาะไม่ดีนัก ในรายที่ให้ผลลบเชื่อว่าเกิดจาก การมีเซลล์ยับยั้ง (suppressor cell) ในกระแสเลือดซึ่งยับยั้งปฏิกิริยาของ T-lymphocyte หรือเกิดจากการที่ T-lymphocyte ชนิด CD4+ ไปรวมกันอยู่บริเวณที่เกิดการอักเสบในขณะนั้นมาก (compartmentalization) ก็ได้ [12,60,61]

3. การตรวจเพื่อหาหลักฐานทางภูมิคุ้มกันอื่น เช่น การตรวจหาภูมิต้านทานชนิดแอนติบอดิ (antibody) ต่อเชื้อวัณโรค มีการศึกษาในช่วงหลัง พบว่าแอนติเจนบางอย่างเช่น tubulostearic acid หรือ แอนติบอดี้ต่อเชื้อวัณโรค [62,63] พบมากในน้ำเจาะปอดของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด แต่ค่าที่ได้ยังคงคาบเกี่ยวกันมากเกินกว่าจะมีประโยชน์ในทางคลินิก

4. การตรวจหาสารที่เกิดขึ้นจากการอักเสบ [2,52,64] เช่น การหาสาร ADA การหาสาร IFN-γ ในน้ำเจาะปอด เป็นต้น ซึ่งเป็นการตรวจโดยอ้อม มีรายละเอียดพอสังเขปดังนี้คือ

สาร ADA (Adenosine deaminase) เป็นเอ็นซัยม์ ที่พบได้ในเซลล์ต่างๆของ ร่างกาย พบมากใน lymphocyte ที่ได้รับการกระตุ้นทางปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน และสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ปัญหาของการใช้ระดับ ADA ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดคือ ระดับต่ำสุดที่ใช้ตัดนั้นมีค่าต่างกันไปในแต่ละกลุ่มประชากรและความชุกของวัณโรคในแต่ละท้องถิ่น นอกจากนั้นยังสามารถเกิดผลบวกลวงได้ในหลายโรค คือ ภาวะสารน้ำจากโรค SLE โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง โรคมะเร็งปอด เป็นต้น การแก้ไขอาจต้องพิจารณาร่วมกับอาการทางคลินิก และหารูปแบบย่อยของ ADA ชนิดที่ 2 (ADA isoenzyme-2) ซึ่งอาการทางคลินิกอาจแยกได้ยากและการหา ADA-2 ทำไม่ได้ทั่วไป

สาร IFN-γ สร้างขึ้นมาจาก T-lymphocyte ที่ถูกกระตุ้นเช่นกัน กับสาร ADA มีหน้าที่เกี่ยวกับการกระตุ้นแมคโครฟาจ (macrophage) ให้กำจัดเชื้อก่อโรคชนิดอยู่ในเซลล์ การใช้วิธีนี้ต้องทำด้วยความละเอียดและค่าใช้จ่ายสูง มีปัญหาเรื่องเกณฑ์ที่ใช้ในแต่ละท้องถิ่น การเกิดผลบวกลวงเช่นกัน และขึ้นกับการเกิดภูมิคุ้มกันว่ามากน้อยเพียงใด

5. การตรวจหาลักษณะทางพยาธิวิทยาที่เฉพาะต่อวัณโรคจากเยื่อหุ้มปอด เช่นการพบลักษณะ caseous granuloma เป็นต้น

สำหรับการพบ non-caseating granuloma นั้นอาจพบได้ในโรคอื่นด้วย เช่น การติดเชื้อราของเยื่อหุ้มปอด โรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบรูมาตอยด์ โรค sarcoidosis โรค tularemia เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม สาเหตุส่วนใหญ่ของลักษณะพยาธิสภาพนี้ ประมาณ 95 % มีสาเหตุมาจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

ดังจะเห็นได้ว่า การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นไปได้ไม่ง่ายนัก บางวิธีต้องอาศัยเวลานาน บางวิธีมีข้อจำกัด ต้องร่วมกับวิธีอื่นหรือ ร่วมกับอาการทางคลินิก ในบางครั้งอาจต้องใช้วิธีการวินิจฉัยโดยการรักษา (Therapeutic diagnosis) แล้วติดตามอาการเป็นระยะๆ

<u>การรักษา</u> [1,2,52]

การรักษาวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีจุดมุ่งหมาย 3 ประการคือ เพื่อป้องกันการเกิดวัณโรคปอดหรือที่อวัยวะอื่นตามมา เพื่อบรรเทาอาการของผู้ป่วย และเพื่อป้องกันการเกิดภาวะพังผืดในช่องเยื่อหุ้มปอด (fibrothorax)

การรักษาด้วยยาต้านวัณโรค ตามคำแนะนำของ สมาคมโรคทรวงอกแห่งสหรัฐอเมริกา (American Thoracic Society) ให้ใช้ระบบยารวม 6 เดือนแบ่งเป็น 2 ระยะคือ ระยะแรก 2 เดือน ใช้ยา ไอโซไนอะซิด ไรแฟมปิซิน พัยราซินามัยด์ และให้อีแธมบูทอลร่วมด้วยในประเทศที่มีการดื้อยาแรกเริ่มต่อไอโซไนอะซิด มากกว่า 4 % หรือมาจากประเทศนั้นๆ หรือ เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านวัณโรคมาก่อน หรือมีการสัมผัสต่อเชื้อวัณโรคดื้อยา เหล่านี้ข้อใดข้อหนึ่ง สำหรับในระยะที่ 2 ให้ใช้ยาไอโซไนอะซิด และไรแฟมปิซิน เป็นเวลา 4 เดือน

หลังการรักษาโดยทั่วไป ผู้ป่วยจะไม่มีไข้ภายใน 2 สัปดาห์ บางรายอาจมีไข้ได้ถึง 2 เดือน ระยะเวลาเฉลี่ยในการหายของสารน้ำประมาณ 6-12 สัปดาห์ 50 % ของผู้ป่วยจะเกิดเยื่อหุ้มปอดหนาตัว 6-12 เดือนหลังเริ่มรักษา [65] แต่มีน้อยรายที่จะทำให้เกิดอาการจนต้องทำการลอกเยื่อหุ้มปอด (decortication) ในปัจจุบัน ยังไม่มีวิธีที่จะทำนายหรือวิธีการป้องกันการหนาตัวของเยื่อหุ้มปอดได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับเทคนิค PCR

เทคนิค PCR [66,68]

เทคนิค PCR (PCR = Polymerase Chain Reaction) เป็นเทคนิคใหม่ทางด้านอณูชีววิทยา คิดค้นขึ้นโดย Kary B. Mullis ในปี ค.ศ. 1985 เป็นวิธีเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรม DNA ส่วนที่มีความจำเพาะต่อจุลชีพที่ต้องการตรวจหา ทางทฤษฎีจะทำให้สามารถตรวจพบ จุลชีพก่อโรคเพียง 1 เซลล์ในสิ่งส่งตรวจต่างๆได้ ขั้นตอนของการทำ PCR เป็นการเลียนแบบการเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรม DNA (DNA replication) ในหลอดทดลองโดยให้เกิดซ้ำๆกันหลายรอบ โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ

1. จะใช้ความร้อนขนาด 90-95°C เพื่อทำให้DNAสายคู่แยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยว ขั้นตอนนี้เรียกว่า denaturation

2. ต่อไปเป็นขั้นตอนที่เรียกว่า primer annealing ทำได้โดยลดอุณหภูมิลงเหลือประมาณ 40-60°C เพื่อให้สายนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์ขนาดยาว 20-30 เบสที่เรียกว่า ไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อวัณโรคเข้าไปจับคู่สมกับ DNA สายเดี่ยวต้นแบบ (template)

3. ขั้นต่อไปคือ primer extension อาศัยเอ็นไซม์ Taq Polymerase ในการสร้างสาย DNA ต่อจากไพรเมอร์ทางด้าน 3-OH จนได้เป็นสาย DNA ขนาดยาวเท่าที่ต้องการ โดย เอ็นไซม์จะทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72 °C

เวลาที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนจะประมาณ 30 วินาทีถึง 2 นาที รวม 3 ขั้นตอนเรียกว่าเป็น 1 รอบของ PCR เมื่อทำซ้ำๆจำนวนหลายๆรอบทำให้สามารถเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน DNA ที่จำเพาะจากเดิมได้อย่าง exponential ผลผลิตจะเท่ากับ 2^n (n = จำนวนรอบของ PCR)

การพัฒนานำวิธี PCR มาใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรคในสิ่งส่งตรวจนั้นสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆตามเป้าหมายของสายพันธุกรรมที่ขยายคือ เป้าหมายที่เป็น RNA และเป้าหมายที่เป็น DNA สำหรับเชื้อวัณโรคนั้นเป็นเชื้อที่มีขนาดจีโนมเท่ากับ 4,411,529 คู่เบส ประกอบด้วยเบส guanine , cytosine สูงถึง 65.6 % ชิ้นส่วน DNA ของเชื้อวัณโรคที่มีกลุ่มผู้วิจัยเลือกมาเป็นเป้าหมายในการเพิ่มจำนวนโดยวิธี PCR สามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. DNA ส่วนยีนที่ทำหน้าที่เฉพาะ และสร้างผลผลิตที่มีการศึกษารายละเอียดมาแล้ว เช่น

ยีน gro EL ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนฮีทช็อคที่มีขนาดโมเลกุล 65 kD

ยีน MPB 64 ควบคุมการสร้างโปรตีน MPB 64

ยีน Pab ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนแอนติเจนบี ขนาดน้ำหนักโมเลกุล 38 Kd

ยีน MPB 70 ควบคุมการสร้างโปรตีน MPB 70

ยีนควบคุมการสร้างโปรตีนของมัยโคแบคทีเรียขนาด 32kD

และยีนสำหรับการสังเคราะห์ 16S rRNA

2. DNA ที่ยังไม่ทราบหน้าที่ แต่มีการทดลองแสดงผลว่าเป็น DNA ที่จำเพาะพบในเชื้อวัณโรค มีทั้งที่มีเพียง 1 ชุดใน 1 จีโนมเช่น mtp 40, pT7T3 18U, pPH 7311, ชิ้นส่วน DNA Mt 308 และที่มีหลายชุดต่อ 1 จีโนมเช่นชิ้นส่วน DNA p36T, pCM3, pMTbsk2 และ M13KE39 ซึ่งชิ้น DNA ใน M13KE39 จากการศึกษาลำดับเบสต่อมาพบว่าจัดเป็น DNA กลุ่ม insertion sequence (IS) มีชื่อว่า IS6110 หรือ IS986

ความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรค ส่วนใหญ่จะจำเพาะต่อ มัยโคแบคทีเรียกลุ่มก่อวัณโรค ส่วนความไวของไพรเมอร์ชุดต่างๆที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน DNA โดยวิธี PCR มีค่าต่างๆกัน จำนวน DNA เริ่มต้นที่จะทำให้ตรวจพบผลผลิต PCR ได้มีปริมาณระหว่าง 50 พิโคกรัม (pg) ถึง 1 เฟมโตกรัม (fg) ไพรเมอร์ของ DNA ที่มีจำนวนหลายชุดในจีโนม จะมีความไวสูงกว่าไพรเมอร์จากยีนที่มีเพียง 1 ชุดในจีโนมประมาณ 10-20 เท่า และ DNA เป้าหมายที่จะใช้เริ่มในการทำ PCR เพื่อให้ได้ผลบวก เมื่อตรวจจากการดูแถบ DNA เรืองแสงมีปริมาณต่ำสุด ประมาณ 100-10 fg หรือ จากการทำการตรวจทางรังสีโดยวิธี autoradiography หลังการทำ DNA hybridization จะมีปริมาณต่ำสุดถึง 10-1 fg

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การใช้เทคนิค PCR ตรวจสิ่งส่งตรวจต่าง ๆเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรค</u>

การพัฒนานำเทคนิค PCR มาใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรม ของเชื้อวัณโรค ในสิ่งส่งตรวจนั้นเริ่มโดย Brisson Noel A. และคณะ [67] เมื่อ ค.ศ. 1989 โดยตรวจเสมหะ น้ำล้างกระเพาะ ชิ้นเนื้อ หนองจากแผล พบว่ามีความไวและความจำเพาะสูงมาก (100%) แต่ยังเป็นการศึกษาในผู้ป่วยจำนวนน้อย ต่อมาได้มีการศึกษาอีกในสิ่งส่งตรวจอื่น เช่น น้ำล้างหลอดลม เซรุ่ม น้ำเจาะปอด ในจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นซึ่งให้ผลแตกต่างกันไปดังแสดงในตาราง

<u>ตารางแสดงงานวิจัยด้วยเทคนิค PCR เพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจต่างๆ</u> [68]

ผู้วิจัย	primer	ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	ความไว	ความจำเพาะ
Brisson-Noel et al 1989	gro EL	เสมหะ น้ำล้างกระเพาะชิ้นเนื้อ หนองจากแผล	100% (12/12)	100% (20/20)
Pao CC. Et al 1990	gro EL	เสมหะ น้ำในโพรงปอด	100% (49/49)	62.6 (166/235)
Pierre C. et al 1991	gro EL	เสมหะ น้ำล้างกระเพาะ	100% (24/24) เทียบกับผลเพาะเชื้อ 63% (35/59) เทียบกับผลเพาะเชื้อและอาการทางคลินิก	91% (21/23)
Seelig R et al 1991	gro EL	เสมหะ น้ำล้างกระเพาะ น้ำล้างปอด น้ำในโพรงปอด ปัสสาวะ น้ำไขสันหลัง เลือดชิ้นเนื้อ ไขกระดูก อุจจาระ	93.8%	---
Brisson-Noel et al 1991	gro EL IS6110	เสมหะ น้ำล้างกระเพาะ น้ำล้างปอด น้ำในโพรงปอด	98.2% (108/110)	78.8% (156/198)

		ปัสสาวะ น้ำไขสันหลัง เลือด ชิ้นเนื้อ หนอง และอื่นๆ		
Thierry D et al 1990	IS6110 gro EL	เซรุ่ม น้ำล้างกระเพาะ เสมหะ น้ำไขสันหลัง น้ำเจาะจากปอด	100% (30/30)	90.9% (50/55)
ผู้วิจัย	primer	ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	ความไว	ความจำเพาะ
De Lassence A. et al 1992	IS6110 gro EL	น้ำเจาะจากปอด	60% (9/15) 20% (3/15)	---
Walker DA et al 1992	IS6110 gro EL	เสมหะ น้ำล้างปอด	80% (4/5) (ผู้ป่วยกำลังเป็นโรค)	89.3% (50/56) 65.1% (28/43)
Saboor SA et al 1992	IS6110 gro EL	น้ำล้างหลอดลม น้ำล้างปอด	61.5% (8/13) (ผู้ป่วยกำลังเป็นโรค) ดูจากอาการและผลเพาะเชื้อ 32.7% (16/49) (ผู้ป่วยที่เคยป่วยเป็นวัณโรค)	90.9% (20/22)
Eisenack KD et al 1991	IS6110	เสมหะ	97.7% (43/44) เทียบกับการเพาะเชื้อ	91.5% (108/118)
Buck GE et al 1991	IS6110	ไม่บอกชนิด	92% (24/26) เทียบกับการเพาะเชื้อ	100% (17/17)
Shawar RM et al 1993	IS6110	ไม่บอกชนิด	66% (24/36) ย้อมดูแถบ DNA ด้วย ethidium bromide	1000% (40/40)
			77% (28/36) ตรวจแถบ DNA ด้วย DIG system	95% (38/40)
			75% (26/34) ตรวจแถบ DNA ด้วย AP system	100% (40/40)

Folgueira L et al 1993	IS6110	เสมหะ ต่อมน้ำเหลืองหนอง น้ำจากข้อ น้ำเจาะปอด ปัสสาวะ	100% (71/71)	81.8 (18/22)
Kolk AHJ et al 1992	IS986	น้ำไขสันหลัง เสมหะ เลือด น้ำเจาะปอด ปัสสาวะ ไขกระดูก ชิ้นเนื้อ หนอง	95.6% (43/45)	80.2% (142/177)
Shankar P et al 1991	MPB64	เสมหะ น้ำไขสันหลัง	8/8 เสมหะ 22/34 น้ำไขสันหลัง	88.2% (45/51)

ผู้วิจัย	primer	ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	ความไว	ความจำเพาะ
Kaneko K et al 1991	MPB64	น้ำไขสันหลัง	83.3% (5/6)	---
Soini H et al 1992	gen for 32kD Ag	เสมหะ	55.9% (19/34)	93.5% (87/110)
Cousins DV et al 1992	MPB70	เสมหะ ปัสสาวะ อุจจาระ น้ำล้างปอด เนื้อปอด	97.0% (64/67) เทียบกับการย้อมสีทนกรดและการเพาะเชื้อ	75.5% (83/110)
Portillo PD et al 1991	mtp40	เสมหะ น้ำไขสันหลัง ปัสสาวะ	100% (14/14) เทียบกับการย้อมสีทนกรดและการเพาะเชื้อ	71.4% (10/14)
De Wit D et al 1990	p36	น้ำไขสันหลัง น้ำเจาะปอด น้ำจากโพรงเยื่อหุ้มหัวใจชิ้นเนื้อปอด	100% (14/14) เทียบกับการเพาะเชื้อ	
Sritharn V, Barker Jr.R.H. 1991	PMTb4	สิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินหายใจ	100% (74/74) เทียบกับการเพาะเชื้อ	36.4% (14/22)
Altamirano M et al 1992	PT7T3 18U	เสมหะ	98% (43/44) เทียบกับการเพาะเชื้อ	100% (156/156)
Thierry D	Mt308	เสมหะ น้ำเจาะปอด	92.9% (13/14)	93.8% (15/16)

et al 1992		น้ำล้างกระเพาะปัสสาวะ น้ำล้างปอด ชิ้นเนื้อ	เทียบกับการเพาะเชื้อและหรือการย้อมสีทนกรด	
Chareonratanakul S 1996	16S rRNA	น้ำล้างหลอดลม	77% (10/13) เทียบกับการเพาะเชื้อและหรือการย้อมสีทนกรด	83% (5/6)
Chaiprasert A et al 1996	16S rRNA	เสมหะ	91.9% (57/62) เทียบกับการเพาะเชื้อ	95.4% (42/44)

ดังจะเห็นได้ว่าผลการวิจัยต่างๆจะมีค่าความไวและความจำเพาะแตกต่างกันไปได้ ซึ่งปัจจัยหลักขึ้นกับจำนวนเชื้อที่นำมาตรวจ หากในสิ่งส่งตรวจมีเชื้ออยู่ปริมาณมาก เช่น จาก เสมหะในผู้ป่วยวัณโรคปอดมักจะมีความไวสูงหรือหากทำการศึกษาเฉพาะกลุ่มที่ย้อมติดสีทนกรดและผลการเพาะเชื้อให้ผลบวกด้วยก็จะให้ผลบวกได้มากกว่าในกลุ่มที่ผลการเพาะเชื้อให้ผลบวกอย่างเดียว เนื่องจากมีเชื้อมากกว่า แต่ในทางปฏิบัติกลุ่มที่ย้อมติดสีทนกรดอยู่แล้วย่อมไม่เป็นปัญหาในการวินิจฉัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การใช้เทคนิค PCR ตรวจน้ำเจาะปอดเพื่อวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด</u> [2,26-30,52]

สำหรับการศึกษาการใช้เทคนิค PCR ในการตรวจน้ำเจาะปอดเพื่อวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้นมีมากมายหลายการศึกษาแต่ส่วนใหญ่ผู้ป่วยจะมีจำนวนน้อย และส่วนหนึ่งเป็นการศึกษาในสิ่งส่งตรวจหลายๆชนิดในการศึกษาเดียว [30] ทำให้ไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในประเทศไทยซึ่งมีความชุกของวัณโรคสูงได้

การศึกษาของ de Lassence A และคณะ [28] ในปี ค.ศ. 1992 นั้น เปรียบเทียบการใช้เทคนิค PCR เพื่อตรวจหาสายพันธุกรรม IS6110 กับ ยีนที่ควบคุมการสร้างแอนติเจนของวัณโรคขนาด 65kD ซึ่งเป็น primer 2 ชนิดที่ต่างกันในสิ่งส่งตรวจ 15 ตัวอย่าง พบว่า การตรวจหา IS6110 มีความไวกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (60% เทียบกับ 20%) ซึ่งอาจช่วยอธิบายได้ว่า การที่ความไวในแต่ละการศึกษาต่างกันนั้นส่วนหนึ่งมีผลจากการใช้ primer ที่ต่างกัน

ในการศึกษาของ Querol และคณะ [27] เมื่อ ค.ศ.1995 ศึกษาการใช้เทคนิค PCR เพื่อตรวจหา IS6110 ในน้ำเจาะปอดของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 21 ราย ในการศึกษานี้ ผลการเพาะเชื้อในน้ำเจาะปอดให้ผลบวกใน 52% และจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวกใน 67% พบพยาธิสภาพแบบ caseous granuloma มากถึง 72% ซึ่งบ่งว่าศึกษาในกลุ่มที่มีเชื้อวัณโรคอยู่มากกว่าที่พบทั่วไป จึงไม่เป็นที่น่าแปลกใจว่า ความไวของเทคนิค PCR ในการศึกษานี้มีค่าสูงถึง 81%ซึ่งมากกว่าที่พบในการศึกษาอื่นๆ ส่วนความไวในกลุ่มย่อยที่ผลเพาะเชื้อให้ผลลบนั้นมีค่าเท่ากับ 60% ในการศึกษานี้ เมื่อเทียบกับการศึกษาอื่นๆพบว่าอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่านี้คือประมาณ 20-60%

สำหรับการตรวจด้วยวิธี PCR จากเยื่อหุ้มปอดนั้นมีรายงานอยู่เพียงการศึกษาเดียว โดย N. Takagi และคณะ [69] ได้ใช้เทคนิค PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอดพบว่ามีความไว 89% และมีความจำเพาะสูงถึง 100% อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ทำในผู้ป่วยเพียง 28 ราย และเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 11 รายเท่านั้น ทำให้ไม่สามารถนำมาใช้กับ ประเทศที่มีความชุกของวัณโรคสูงเช่นในประเทศไทยได้ นอกจากนั้น ประชากรในการศึกษานี้ยังมีเพียง 2 กลุ่มคือ วัณโรคเยื่อหุ้มปอด และที่เกิดจากมะเร็งเท่านั้น และขาดการเปรียบเทียบกับ PCR ของน้ำเจาะปอดในผู้ป่วยแต่ละราย ซึ่งมีความไวค่อนข้างต่างกันมากในแต่ละการศึกษาดังกล่าว

ดังนั้นสรุปได้ว่า การศึกษาการใช้เทคนิค PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอดมีข้อมูลน้อยมากและยังไม่เคยทำการศึกษาในประเทศที่มีความชุกของวัณโรคสูงเช่นในประเทศไทยมาก่อน นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคนี้ในการตรวจน้ำเจาะปอดนั้น มักจะไม่ได้ออกแบบให้ทดสอบในกลุ่มประชากรที่เหมาะสม ซึ่งในทางคลินิกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่จะนำมาใช้ได้จริง

บทที่ 5
วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงพรรณนา (Descriptive study)

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากร (Population) คือ ผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์มากกว่า 50 % ทุกราย

ประชากรตัวอย่าง (Sample) คือ ผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์มากกว่า 50% รายใหม่ที่มารับการเจาะปอดที่หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนกันยายน 2543

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษา (Inclusion Criteria) มีลักษณะทั้ง 2 ข้อดังนี้คือ

1. ผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป
2. ผู้ป่วยที่ตรวจพบสารน้ำในโพรงปอด จากการตรวจร่างกายและภาพรังสีปอด และลักษณะสารน้ำเป็นแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์มากกว่า 50 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria) มีลักษณะข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้

1. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าสารน้ำในโพรงปอดเกิดจากสาเหตุใด
2. ผู้ป่วยที่มีโรคอันเป็นข้อห้ามต่อการเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจ เช่นมีภาวะเลือดออกง่าย เป็นต้น
3. ผู้ป่วยซึ่งไม่สามารถติดตามการรักษาได้โดยตลอด
4. ผู้ป่วยที่ไม่ยินยอมเข้าการศึกษาแม้ได้อธิบายแล้ว
5. ผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการวินิจฉัย แม้ว่าได้ทำการเจาะปอด และตัดเยื่อหุ้มปอดซ้ำ หรือกลุ่มที่ไม่พบลักษณะเฉพาะต่อโรคและไม่ตอบสนองต่อยาต้านวัณโรค (ในกรณีลองรักษาด้วยยาต้านวัณโรค)

ขนาดตัวอย่าง (Sample Size)

เนื่องจากเป็นงานวิจัยที่ทำกับคนกลุ่มเดียวและเป็นข้อมูลชนิดนับ

ดังนั้นสูตรคือ $n = Z^2_{\alpha} P(1-P) / E^2$

โดย n เป็นจำนวนตัวอย่างในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

Z_{α} เป็นค่าที่ได้จาก ตารางการแจกแจงปกติมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Z=1.96)

P คือค่าคาดหวังว่าความไวของการตรวจPCR ในที่นี้ให้เท่ากับ 90% (P=0.9)

E คือค่าความคลาดเคลื่อนทางคลินิกที่ยอมรับได้ ในที่นี้ให้เท่ากับ 10% (E=0.1)

ดังนั้นจำนวนตัวอย่างที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดเท่ากับ $(1.96)^2(0.9)(0.1) / (0.1)^2$ เท่ากับ 35 ราย

แต่ความชุกของวัณโรคเยื่อหุ้มปอดที่มีรายงานมาแล้วประมาณเท่ากับ 60 % [7,75] ของสารน้ำแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่นดังนั้นจะต้องใช้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด เท่ากับ 35 × (100/60) เท่ากับ 58 ราย

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้ป่วยทุกรายที่เข้าการศึกษาจะได้รับการ

1. ซักประวัติ ตรวจร่างกาย
2. เจาะน้ำในโพรงปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจ
3. เจาะเลือดตรวจหาระดับโปรตีน และ สาร LDH
4. ให้การรักษาตามอาการ
5. ในรายที่จากลักษณะทางคลินิกเข้าได้กับวัณโรคเยื่อหุ้มปอด จะได้รับการรักษาด้วยยาต้านวัณโรคโดยทันทีและติดตามผลการรักษาทั้งอาการและภาพรังสีปอดโดยประเมินที่ 2 เดือนหลังการรักษา
6. ในรายที่จากลักษณะทางคลินิกเข้าไม่ได้กับวัณโรคเยื่อหุ้มปอด จะรอผลการตรวจทางพยาธิวิทยาเยื่อหุ้มปอด หากได้ผลลบ จะทำการเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดซ้ำ รวมทั้งการติดตามดูอาการในระบบอื่นด้วย

7. ในรายที่ผลการตรวจไม่จำเพาะทั้งทางพยาธิวิทยาและจุลชีววิทยา และไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรคที่ 2 เดือนหลังการรักษา จะได้รับการเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดซ้ำ รวมทั้งติดตามดูอาการในระบบอื่นด้วย

8. ในรายที่จากลักษณะทางคลินิกสงสัยสาเหตุของสารน้ำจากมะเร็ง จะได้รับการตรวจตามระบบอื่นๆเพื่อหาตำแหน่งของมะเร็งต้นเหตุร่วมด้วย

9. ผู้ป่วยทุกรายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด จะได้รับการเจาะเลือดตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ HIV (Anti HIV) ด้วยโดยวิธี ELISA

วิธีการเจาะน้ำในโพรงปอด

ใช้ syringe พลาสติก ขนาด 20 มล.ต่อกับเข็มเบอร์ 20 เจาะน้ำในโพรงปอดปริมาณ 40 มล.แล้วแบ่งเป็น

ส่วนที่ 1 ส่งตรวจหาระดับโปรตีน และ LDH ในน้ำเจาะปอด โดยทำการส่งที่ห้องปฏิบัติการตึกเวชศาสตร์ชันสูตร ปริมาณ 5 มล.

ส่วนที่ 2 ส่งนับจำนวนเม็ดเลือดขาวและนับแยกชนิด (white blood cell count and differential cell count) ที่ห้องปฏิบัติการหน่วยโรคปอดตึกสันติวัน ปริมาณ 5 มล.

ส่วนที่ 3 ส่งตรวจทางเซลล์วิทยา ที่ตึกพยาธิวิทยา ปริมาณ 10 มล.

ส่วนที่ 4 ทำการปั่น (centrifuge) ที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วน sediment ไปตรวจโดยการย้อมสีทนกรดด้วยวิธี Ziehl-Neelsen และการเพาะเชื้อวัณโรค ที่หน่วยโรคปอดตึกสันติวัน ปริมาณ 10 มล.

ส่วนที่ 5 ส่งตรวจทางเทคนิค PCR ที่ภาควิชาจุลชีววิทยาต่อไป ปริมาณ 1 มล.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด

ตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดด้วยเข็ม Abram หรือ Cope โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ และทำการตัดอย่างน้อย 4 ชิ้น

ส่วนที่ 1 ส่งตรวจทางพยาธิวิทยา ที่ตึกพยาธิวิทยา อย่างน้อย 2 ชิ้นโดยใส่ในสารละลายฟอร์มาลิน

ส่วนที่ 2 ส่งเพาะเชื้อวัณโรค ทำที่หน่วยโรคปอดตึกสันติวัน จำนวน 1 ชิ้นโดยใส่ใน 0.9% Sodium Chloride 5 มล.

ส่วนที่ 3 ส่งตรวจทาง PCR ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา ต่อไป จำนวน 1 ชิ้นโดยใส่ใน 0.9% Sodium Chloride 5 มล.

วิธีการเพาะเชื้อวัณโรคจากน้ำในโพรงปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด [9,70,71]

การเพาะเชื้อทำในห้องปฏิบัติการของหน่วยโรคปอดตึกสันติวัน โดยที่เจ้าหน้าที่ผู้ตรวจไม่ทราบผลการตรวจในส่วนอื่นและไม่ทราบลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยแต่ละราย

1. น้ำในโพรงปอดที่นำไปปั่นที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาทีนั้นแยกเฉพาะส่วนตะกอนมาทำ decontaminate ด้วย 4% sodium hydroxide (4% NaOH) แล้วใช้ไม้พันสำลีที่ปลอดเชื้อ inoculate ลงบน Ogawa media จำนวน 2 หลอด

2. สำหรับชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด นำมาบดด้วยครกบดใน 0.9% sodium chloride แล้ว decontaminate ด้วย 4% sodium hydroxide เช่นเดียวกันก่อน inoculate ลงบน Ogawa media จำนวน 2 หลอด

3. นำหลอด Ogawa media ที่ inoculate เชื้อแล้วไป incubate ในตู้ incubator ที่อุณหภูมิ 35 $\pm$ 2°C

4. ทำการอ่านผลทุกสัปดาห์หลังจาก inoculation เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ ลักษณะ colony ของเชื้อ M.tuberculosis จะมีลักษณะหยาบแห้ง สีขาวแกมเทาหรือสีครีม มักใช้เวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์จึงจะเห็นได้ด้วยตาเปล่า

5. smear เชื้อที่เพาะได้จาก colony ย้อมด้วยสีทนกรดตามวิธี Ziehl-Neelsen เพื่อยืนยันว่าเชื้อเป็น acid fast bacilli

6. ทำ Niacin test เพื่อยืนยันว่าเชื้อที่เพาะได้นั้นเป็น M.tuberculosis ซึ่งจะให้ผลบวก วิธีตรวจทำได้โดยดูดน้ำในอาหารเพาะเชื้อประมาณ 0.5-1 มล. ใส่ในหลอดทดลองแล้วใช้TB niacin test reagents strip ของบริษัท BBL and Taxo สาร niacin ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร potassium thiocyanate และ chloramine T ทำให้เกิดสีเหลืองขึ้น ในกรณีที่ไม่มีน้ำค้างอยู่

ก่อนในอาหารเพาะเชื้อใช้การเติมน้ำกลั่น 0.5-1 มล. ลงไป แล้วรอประมาณ 3-7 วันเพื่อให้สาร niacin ที่สร้างมาอยู่ในน้ำนั้นก่อนนำมาตรวจ

วิธีการตรวจตัวอย่างโดยใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction –PCR) ประกอบด้วยขั้นตอนใหญ่ๆ 3 ส่วนคือ

1. การเตรียมตัวอย่างหรือสิ่งส่งตรวจ มีขั้นตอนปฏิบัติดังนี้คือ

1.1 ทำการปั่น (centrifuge) ตัวอย่างจำนวน 1 มล. ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลานาน 5 นาที แล้วดูดส่วนน้ำใส (supernatant) ทิ้ง

1.2 ปั่นล้างด้วยสาร Tris pH 8.3 ความเข้มข้น 0.02 M จำนวน 1.5 มล. ในกรณีที่มีเม็ดเลือดแดงปนให้ล้างด้วย TTE buffer 1-2 ครั้ง

1.3 เก็บตะกอนให้เหลือปริมาตร 90 ไมโครลิตร นำมาเติมด้วย 10 x digestion buffer จำนวน 10 ไมโครลิตร รวมเป็น 100 ไมโครลิตร หรือเท่ากับ 0.1 มล.นั่นเอง

1.4 Incubate ไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 60 °C

1.5 เข้าสู่การ inactivatation ด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

1.6 นำไปผสมกับสารต่างๆ (PCRmix) ในอัตราส่วนดังนี้

	จำนวน (μl)	ความเข้มข้นสุดท้าย
1. 10x buffer	5	10mM Tris pH8.3
2. 25mM MgCl2	2	3mM MgCl2
3. 10mM dNTP (A,C,G,U)	3	0.2mM each dNTPs
4. primer 1 (INS,pt3)	5	
5. UNG (1u/μl)	0.16	
6. DDW	10.44	
7. Taq Polymerase (5u/μl)	0.4	
8. sample	5	
9. water	5	
10. mineral oil	50	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.7 ในกรณีที่สิ่งส่งตรวจเป็นชิ้นเนื้อนั้น ให้นำชิ้นเนื้อ มาใส่ในหลอดก่อนเริ่มตามขั้นตอนที่ 1.2

1.8 สำหรับในรายที่ยังไม่ได้ทำการตรวจ PCR ในทันที สิ่งส่งตรวจที่ถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C จะต้องนำมาทำให้ละลายก่อนด้วยการแช่ในน้ำอุ่น

2. การเข้าสู่ขบวนการของเทคนิค PCR (PCR cycling) ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ตามลำดับดังนี้

2.1 File # 33ที่ 37 °C นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ

2.2 File # 7ที่ 94 °C นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ

2.3 File # 8 ผ่านขบวนการ

Denaturingที่ 94 °C นาน 2 นาที

Annealingที่ 65 °C นาน 2 นาที จำนวน 50 รอบ

Extensionที่ 72 °C นาน 3 นาที

2.4 File # 9ที่ 72 °C นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ

2.5 File # 14 Soak ที่ 72 °C ข้ามคืนแล้วให้ความร้อนที่ 95 °C นาน 10 นาที

ในแต่ละตัวอย่างของสิ่งส่งตรวจ (ผู้ป่วยแต่ละรายจะส่ง 2 อย่างคือน้ำเจาะปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด) เมื่อนำไปเตรียมแล้วตามขั้นตอนที่ 1 จะนำมาบรรจุ ดังนี้

1. Reaction control : PCRmix + DNA 100 fg (5 μl.)

2. Negative control : PCRmix + DDW (5 μl.)

(using DDW instead of sample in treated step)

3. Test sample 1 : PCRmix + PK treated sample (5 μl.)

4. Test sample 2 : PCRmix + PK treated sample (5 μl.)

5. Inhibitor Detection : PCRmix + PK treated sample (5 μl.)
+ DNA 100fg (5 μl.)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการ amplification ครั้งแรกเริ่มที่ File # 33 สำหรับการตรวจซ้ำ (nested PCR) นั้น ใช้สารที่ได้จากการ amplification ครั้งที่ 1 มาจำนวน 5 μl. เป็น sample ใหม่ ใช้ primer 2 (INS2,pt6) แทน primer 1 และไม่ใช้ UNG โดยเริ่มที่ File # 7 ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำซ้ำ (nested) ทุกตัวอย่างของสิ่งส่งตรวจ ดังรายละเอียดในการแปลผลการตรวจ PCR

3. การแสดงผลการตรวจออกมาโดยใช้หลักการของ gel electrophoresis

การแปลผล ดังแสดงในตารางคือ

	หลอดที่					
	1	2	3	4	5	การแปลผล
1st Amp	--	--	--	--	--	Reaction mix failed
1.1						Do new mix and repeat
1.2	+	--	+/-	+/-	+	No Inhibitor Do 2nd Amp
1.3	+	--	--	--	--	Inhibitor Clean and Repeat
1.4	+	+	+	+	+	False Positive
2nd Amp	+	--	+	+	+	Positive PCR
2.1						
2.2	+	--	--	--	+	Negative PCR
2.3	+	--	--	+	+	Repeat tube 3, 4 again
2.4	+	--	--	--	--	Inconclusive

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ้ามี inhibitor จะนำมา extract DNA ด้วย phenol/chloroform/isoamyl alcohol

1. เติม ph/ch/iso (25:24:1) ใน sample อัตราส่วน 1:1

2. mix แล้วปั่น max.speed เป็นเวลา 15 วินาที เก็บน้ำใสส่วนบน ส่วนล่างเติม TrisEDTA 50-100 μl. mix แล้วปั่นเก็บส่วนใสอีกครั้ง รวมกับส่วนใสแรก

3. extract อีกครั้งด้วย chloroform/isoamyl (24:1) อัตราส่วน 1:1

4. mix แล้วปั่น เก็บส่วนใสส่วนบน extract ด้วย TE อีกครั้ง รวมน้ำใสทั้งหมด

5. เติม absolute ethanol 2 เท่า เก็บไว้ที่ –70 ° C นาน 15-30 นาที ปั่น 12000g 20 นาที

6. ล้างตะกอนด้วย 70% ethanol

7. ทิ้งตะกอนให้แห้ง แล้ว resuspend ด้วย TrisEDTA นำไปทำ PCR

การให้ยารักษาวัณโรค

ให้ยาต้านวัณโรคในสูตรระยะสั้น ซึ่งประกอบด้วยยา ไอโซไนอะซิด ไรแฟมปิซิน ไพราซินามายด์ และอีแธมบูทอล ในช่วง 2 เดือนแรกและให้ต่อด้วย ไอโซไนอะซิด และ ไรแฟมปิซิน ในช่วง 4 เดือนหลัง โดยปรับขนาดตามน้ำหนักของผู้ป่วย ในผู้ป่วยบางรายที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดผลข้างเคียงที่รุนแรงจากยา ผู้ที่แพ้ยาบางตัว ผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์ แพทย์ผู้รักาสามารถใช้สูตรยาที่ต่างไปจากนี้ได้ตามมาตรฐานของการรักษาวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

การวิเคราะห์ข้อมูล [72]

1. แบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มสารน้ำที่เกิดจากวัณโรค และกลุ่มที่ไม่ได้เกิดจากวัณโรค

2. วิเคราะห์โดยสร้างตาราง 2 × 2 ใช้ค่าสถิติวัดดังนี้คือ

ความไว (Sensitivity) เท่ากับจำนวนตัวอย่างที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและผลตรวจ PCR ให้ผลบวก ต่อจำนวนตัวอย่างที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดทั้งหมด

ความจำเพาะ (Specificity) เท่ากับจำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและตรวจ PCR ให้ผลลบต่อจำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดทั้งหมด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Positive Predictive Value (PPV) เท่ากับ จำนวนตัวอย่างที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและตรวจ PCR ให้ผลบวก ต่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ PCR ให้ผลบวกทั้งหมด

Negative Predictive Value (NPV) เท่ากับ จำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นวัณโรค เยื่อหุ้มปอดและตรวจ PCR ให้ผลลบ ต่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจให้ผลลบทั้งหมด

ความถูกต้อง (accuracy) เท่ากับสัดส่วนของตัวอย่างทั้งหมดที่สามารถวินิจฉัยได้ถูกต้องโดยการตรวจ PCR นี้

3. ค่าระดับความเชื่อมั่น 95% ของความไวและความจำเพาะ ซึ่งคำนวณได้จาก ค่าความไว $\pm$ 1.96 เท่าของค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Standard Error of the Mean--SEM) และค่าความจำเพาะ $\pm$ 1.96 เท่าของ SEM

ค่า SEM คำนวณจากสูตร SEM = $\sqrt{P(1 - P)/n}$ โดย P คือค่าความไวหรือความจำเพาะ และ n คือ ขนาดตัวอย่าง

ปัญหาทางจริยธรรม

การวิจัยนี้ชอบด้วย จริยธรรม มนุษยธรรม และไม่เป็นการกระทำที่ผิดกฎหมาย เพราะเป็นการศึกาาในผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจอยู่แล้วเพื่อการวินิจฉัยและการรักษาที่ถูกต้องต่อไป การเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจนั้นแม้ว่าจะเป็นการตรวจที่มีโอกาสทำให้เกิดอันตรายได้ (invasive) ก็ตาม แต่โดยทั่วไปถือว่ามีความเสี่ยงต่ำและ ทำโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ การตรวจเลือดเพื่อหาข้อมูลต่างๆทางห้องปฏิบัติการนั้น ใช้ปริมาณไม่มาก ไม่มีอันตราย ทำโดยพยาบาลผู้มีความชำนาญ อย่างไรก็ตามผู้ป่วยจะได้รับคำอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการเจาะ วิธีการที่ใช้ ประโยชน์ที่จะได้รับ อันตรายที่อาจเกิดขึ้นได้ก่อนการเจาะอยู่แล้ว และแพทย์จะทำการเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจเมื่อได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยแล้วเท่านั้น นอกจากนี้จะมีการให้คำแนะนำการปฏิบัติตัว การติดตามผลโดยใกล้ชิด รวมถึงวิธีที่ผู้ป่วยสามารถติดต่อแพทย์ได้หากมีปัญหาหรือข้อสงสัยใดๆเกิดขึ้นหลังการเจาะปอดด้วย อนึ่งโครงการนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมแล้ว

กรณีที่การตรวจน้ำเจาะปอดและเยื่อหุ้มปอดในครั้งแรกไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้นั้น เมื่อติดตามผู้ป่วยมารับการรักษาเพิ่มเติม ผู้ป่วยจะได้รับคำอธิบายถึงสาเหตุที่การเจาะครั้งแรกไม่ได้ผล ในรายที่มีความจำเป็นต้องรับการเจาะปอดซ้ำนั้น ผู้ป่วยจะเป็นผู้เลือกว่าจะทำการเจาะปอดซ้ำหรือติดตามดูอาการทางคลินิกต่อไปโดยรับทราบถึงข้อดีข้อเสียจากผู้วิจัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6
ผลการศึกษา

การคัดเลือกผู้ป่วยเข้ารับการรักษาและข้อมูลพื้นฐาน

ในช่วงเวลาที่ศึกษา ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนกันยายน พ.ศ.2543 นั้น มีผู้ป่วยได้รับการเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตามวิธีดำเนินการวิจัย 73 ราย ถูกตัดออกเนื่องจาก ผลตรวจเป็นสารน้ำแบบทรานซูเดท 5 ราย มีเซลล์ PMN เด่นในน้ำเจาะปอด 5 ราย ขาดการติดตามผลและไม่มีลักษณะอื่นจากการตรวจบ่งว่าเป็นวัณโรคทำให้ไม่สามารถให้การวินิจฉัยแน่นอนได้ จำนวน 4 ราย เหลือผู้ป่วยเข้าการศึกษาจริง 59 ราย

ผู้ป่วย 59 ราย แบ่งเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 36 ราย เข้าตามเกณฑ์วินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 29 รายคิดเป็น 80.56% และ เข้าเกณฑ์น่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด 7 รายคิดเป็น19.44% มีข้อมูลพื้นฐานดังแสดงในตารางที่ 1

ผู้ป่วยกลุ่มสารน้ำที่มีสาเหตุมาจากโรคอื่นไม่ใช่วัณโรค พบทั้งสิ้น 23 ราย คิดเป็น 39.0 % ในจำนวนนี้ประกอบด้วยสาเหตุจาก มะเร็งกระจายมาที่เยื่อหุ้มปอด และเกี่ยวเนื่องจากมะเร็ง จำนวน 20 ราย คิดเป็น 33.9% ของผู้ป่วยทั้งหมดและ 87.0% ของผู้ป่วยกลุ่มนี้ สำหรับสาเหตุอื่นๆ พบ เยื่อหุ้มปอดอักเสบจากโรค SLE 1 ราย ภาวะสารน้ำจากหัวใจบาดเจ็บ (postcardiac injury syndrome) 1 ราย และสารน้ำจากความผิดปกติของระบบน้ำเหลือง 1 ราย (chylothorax) คิดเป็นรายละ 1.69% ของผู้ป่วยทั้งหมดและ 4.35% ของผู้ป่วยเฉพาะกลุ่มนี้ มีข้อมูลพื้นฐานดังแสดงในตารางที่ 2

ในการศึกษานี้ มีผู้ป่วย 3 ราย ซึ่งสาเหตุของสารน้ำในโพรงปอดที่ไม่ได้เกิดจาก วัณโรคเยื่อหุ้มปอด และไม่ได้เกิดจากมะเร็งโดยมีรายละเอียด คือ

ผู้ป่วยรายแรกได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น Post cardiac injury syndrome ผู้ป่วยเกิดสารน้ำในโพรงปอด 1 วันหลังจากเกิดภาวะเยื่อหุ้มหัวใจบีบรัด (cardiac tamponade) ซึ่งเกิดโดยอุบัติเหตุขณะทำการใส่เครื่องควบคุมการเต้นของหัวใจ (pacemaker) เข้าไปในหัวใจ หลังจากเจาะสารน้ำตรวจพบเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น จึงได้รับการตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจ จากการทบทวนรายงานในต่างประเทศ [73,74] เกี่ยวกับภาวะนี้พบว่าพยาธิสภาพที่พบให้ลักษณะแบบ granuloma ได้ซึ่งตรงกับที่พบในผู้ป่วยรายนี้ หลังการติดตามการรักษา พบว่าสารน้ำได้หายไปเองภายในเวลา 6 วัน ตลอดช่วงที่ตรวจพบสารน้ำ ผู้ป่วยไม่มีไข้มีเพียงอาการเจ็บหน้าอกเล็กน้อยและอาการหายไปพร้อมกับการหายของสารน้ำ

ผู้ป่วยรายที่สองได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเยื่อหุ้มปอดอักเสบเนื่องจากโรค SLE เป็นหญิงวัยกลางคนมาโรงพยาบาลด้วยอาการเหนื่อยง่าย จากการตรวจร่างกายและภาพรังสีปอดพบว่ามีสารน้ำในโพรงปอดทั้ง 2 ข้าง การเจาะปอดพบสารน้ำแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น การตรวจเยื่อหุ้มปอดทางพยาธิวิทยา พบการอักเสบแบบเรื้อรังชนิดไม่จำเพาะ ได้ส่งตรวจเลือดและน้ำเจาะปอดหาภูมิคุ้มกันต่อตัวเอง (autoantibody) พบว่าค่าANA ในเลือดให้ผลบวก 1 : 640 และค่า ANA ในน้ำเจาะปอดให้ผลบวก 1 : 1280 จึงได้วินิจฉัยว่าเป็นโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบจากโรค SLE [(2)] อนึ่งในผู้ป่วยรายนี้ไม่มีอาการและอาการแสดงทางระบบอื่นเลย และหลังจากรักษาด้วยยาสเตรียรอยด์ 60 มก. ต่อวันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าอาการและสารน้ำจากภาพรังสีปอดดีขึ้นอย่างชัดเจน

ผู้ป่วยรายที่สามเป็นชายวัยกลางคน มาโรงพยาบาลด้วยอาการเหนื่อยง่าย ไม่มีไข้ ตรวจร่างกายและภาพรังสีปอดพบ สารน้ำปริมาณมากในโพรงปอดข้างขวา การตรวจสารน้ำเบื้องต้นพบสารน้ำสีขาวขุ่นและเป็นเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น การตรวจหาไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในน้ำเจาะปอดพบว่ามีค่าเท่ากับ 192 มก./ดล. ซึ่งเข้าได้กับภาวะสารน้ำจากความผิดปกติของระบบทางเดินน้ำเหลือง (chylothorax) การตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจทางพยาธิวิทยาพบการอักเสบแบบเรื้อรังชนิดไม่จำเพาะ จึงได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดเปิดทรวงอก เพื่อหาความผิดปกติของทางเดินน้ำเหลืองในช่องอกและผูกปิดตำแหน่งรั่ว หลังผ่าตัดผู้ป่วยหายดี และการตรวจร่างกาย ลักษณะที่เห็นในระหว่างผ่าตัด การติดตามอาการ ไม่พบลักษณะของมะเร็งหรือโรคอื่น จึงได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น ภาวะสารน้ำจากความผิดปกติของระบบทางเดินน้ำเหลืองแบบไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic chylothorax) [(2)]

การเปรียบเทียบลักษณะข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ เช่น เพศ ช่วงอายุ คุณสมบัติของสารน้ำระหว่างกลุ่มที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและไม่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น แสดงด้วย ตารางที่ 3 และแผนภูมิที่ 1 ถึง 4 โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในกรณีเป็นข้อมูลต่อเนื่องเช่น อายุ ระดับโปรตีนในเลือดและในน้ำเจาะปอด ระดับ LDH ในเลือดและในน้ำเจาะปอด จำนวนเซลล์เป็นต้น

การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีมาตรฐาน

มีค่าความไว ความจำเพาะของแต่ละวิธีตรวจดังแสดงในตารางที่ 4 และเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในตารางที่ 5

การศึกษาการตรวจโดยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction)

การตรวจโดยเทคนิค PCR จากน้ำเจาะปอด และชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด และเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่นๆ และวิธีตรวจด้วยเทคนิคใหม่อื่นๆ โดยแสดงเป็นค่าความไว ความจำเพาะ ดังแสดงในตารางที่ 6

การวิเคราะห์ในกลุ่มย่อยเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง ผลการตรวจโดยวิธี PCR กับผลการเพาะเชื้อ ปริมาณสารน้ำ สีของสารน้ำ ลักษณะทางพยาธิวิทยา แสดงในตารางที่ 7 และแผนภูมิที่ 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด

จำนวนผู้ป่วย	36 ราย
เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด	29 ราย (80.56%)
น่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด	7 ราย (19.44%)
เพศ ชาย:หญิง	25:11 (69.4:30.6%)
อายุเฉลี่ย	32.97 $\pm$ 13.97
พิสัยของอายุ	16 – 69 ปี
โรคที่พบร่วมทางอายุรกรรม	13 (36%)
การติดเชื้อไวรัสเอชไอวี	10
เบาหวาน	3

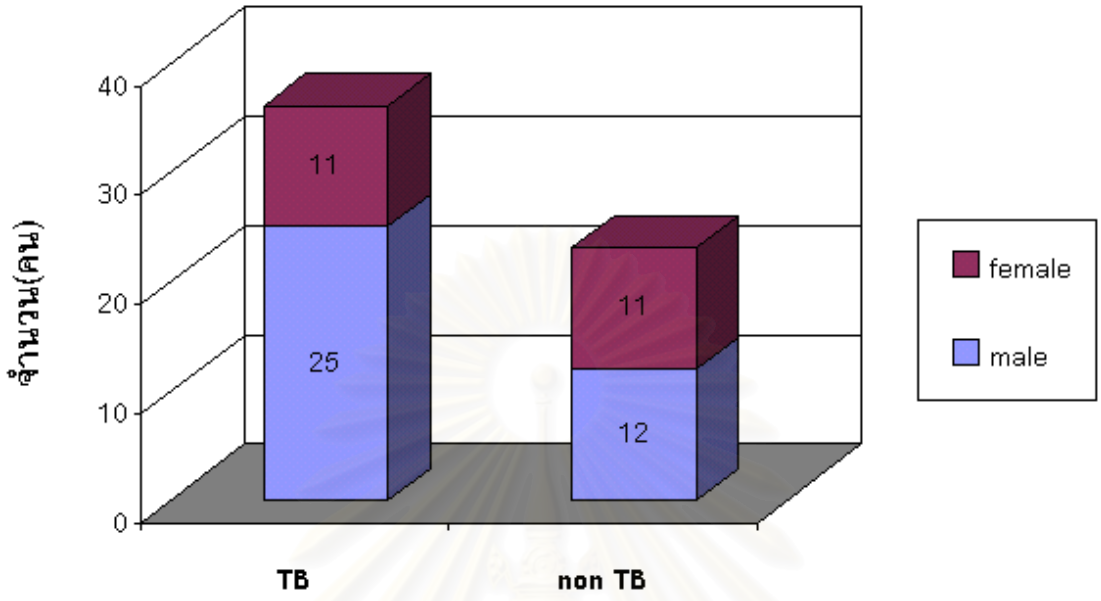
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ข้อมูลพื้นฐานของสารน้ำที่ไม่มีสาเหตุจากวัณโรค

จำนวนผู้ป่วย	23 ราย
เพศ ชาย:หญิง	12:11 (52.2:47.8%)
อายุเฉลี่ย	54.61 $\pm$ 15.88
พิสัยของอายุ	23 – 87 ปี
เป็นสารน้ำที่มีสาเหตุมาจากมะเร็ง	20 ราย (86.96%)
มะเร็งปอด	7 ราย
มะเร็งเต้านม	3 ราย
มะเร็งรังไข่	2 ราย
มะเร็งต่อมน้ำเหลือง	2 ราย
มะเร็งตับ	1 ราย
มะเร็งที่คอ (pyriform sinus)	1 ราย
มะเร็งไม่ทราบต้นกำเนิด	4 ราย
สารน้ำที่มีสาเหตุอื่นๆ	3 ราย (13.04%)
ภาวะสารน้ำหลังการบาดเจ็บของหัวใจ	1 ราย
โรค SLE	1 ราย
ภาวะสารน้ำเนื่องจากระบบน้ำเหลือง ผิดปกติ	1 ราย

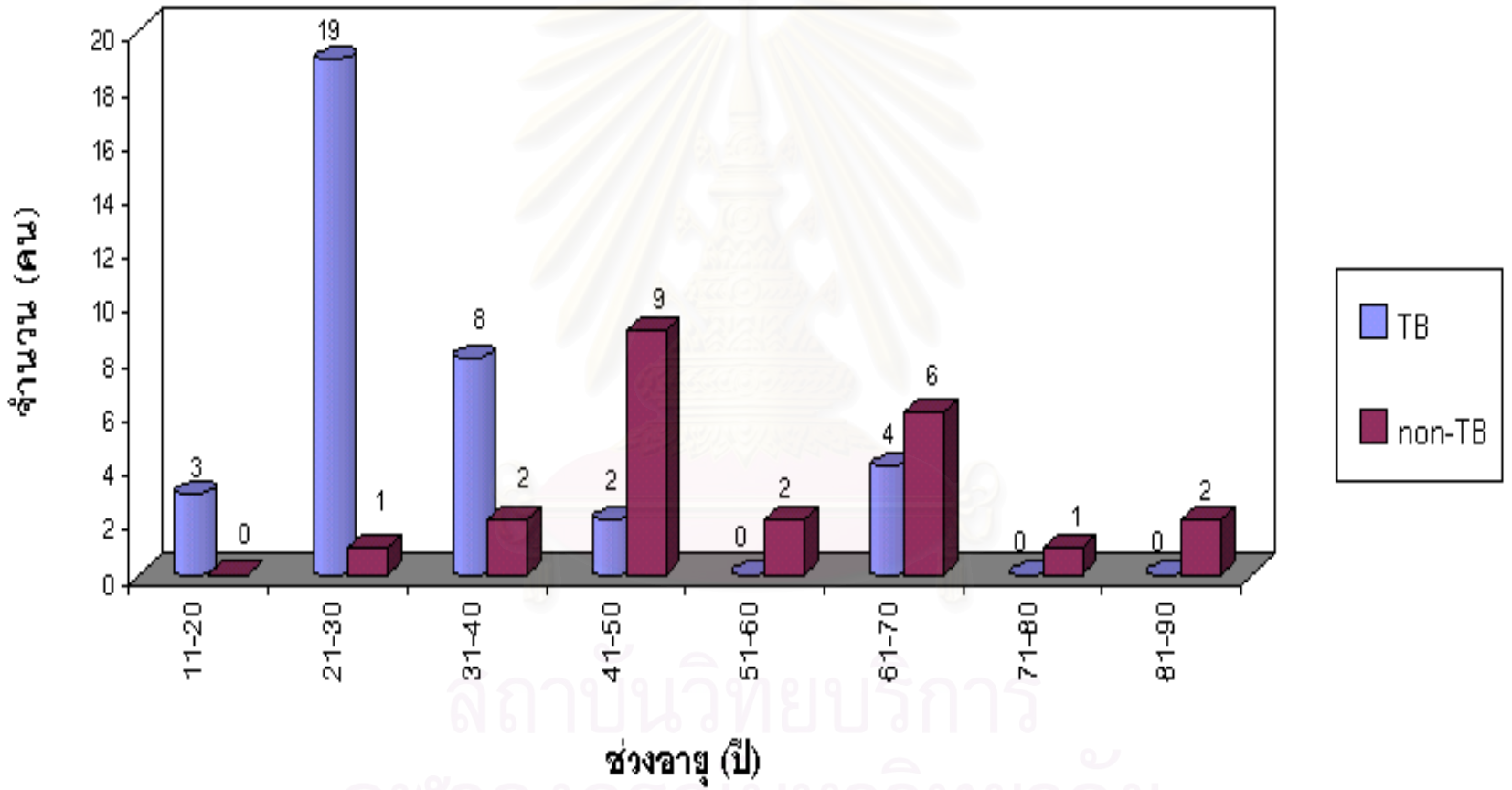
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 1 แสดงการกระจายของโรคตามเพศ



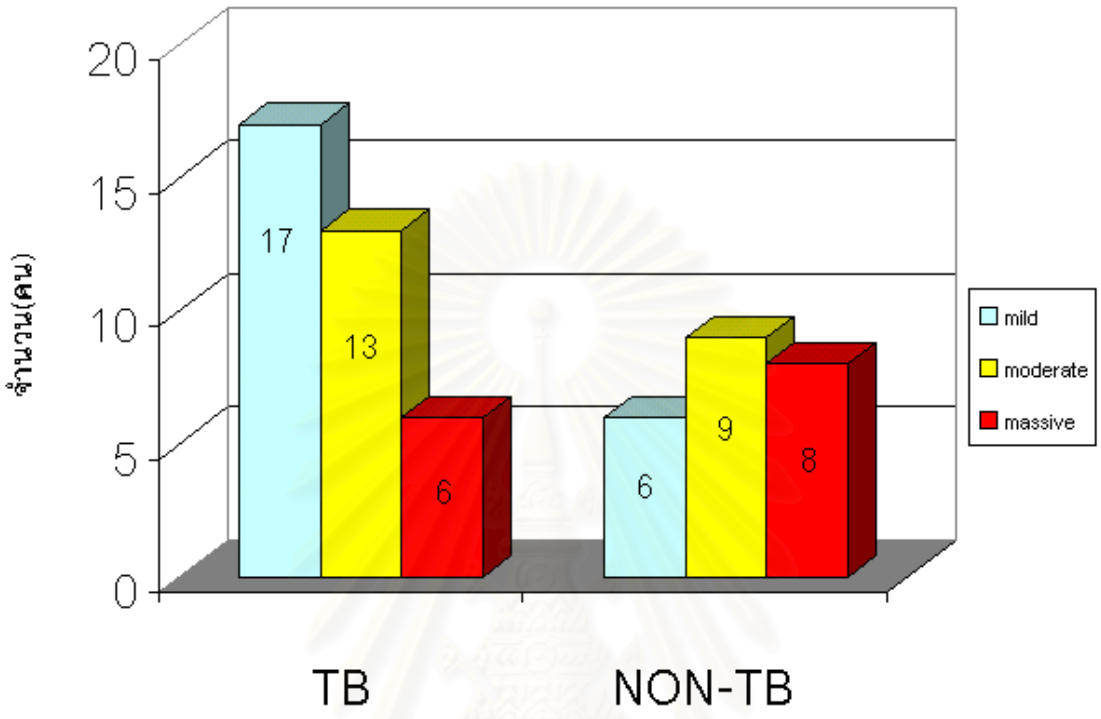
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 2 แสดงการกระจายของโรคในช่วงอายุต่าง ๆ



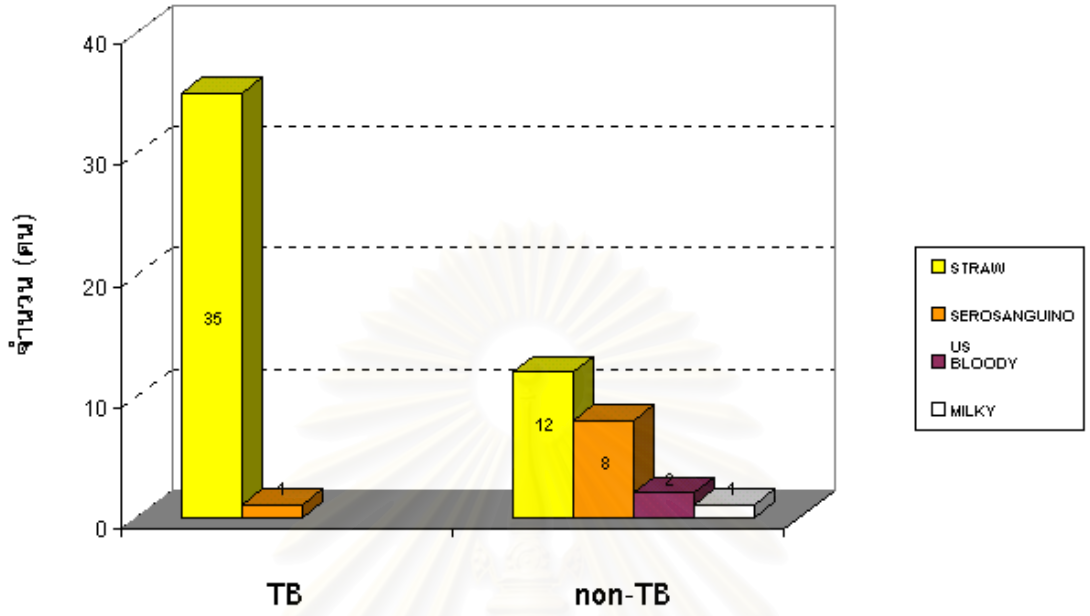
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 3 แสดงปริมาณสารน้ำในโรคต่าง ๆ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 4 แสดงลักษณะสีของสารน้ำในวัณโรคเยื่อหุ้มปอด
และภาวะสารน้ำที่ไม่ใช่จากวัณโรค



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ลักษณะทางคลินิกและคุณสมบัติเบื้องต้นของสารน้ำเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและที่ไม่ใช่วัณโรคเยื่อหุ้มปอด

ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย (mean)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD)	พิสัย (range)	P-value
อายุ				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	32.97 ปี	13.97	16 – 69	<0.001
ไม่ใช่วัณโรค	54.60 ปี	15.88	23 - 87	
ระยะเวลาก่อนมารักษา				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	18.64 ปี	16.54	4 วัน – 3 เดือน	<0.001
ไม่ใช่วัณโรค	46.39 ปี	36.63	2 วัน – 4 เดือน	
โปรตีนในน้ำเจาะปอด				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	5.63 g/dl	0.77	3.3 – 7.1	<0.001
ไม่ใช่วัณโรค	4.58 g/dl	0.93	2.2 – 5.8	
โปรตีนในเลือด				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	8.11 g/dl	0.73	5.7 – 9.3	<0.001
ไม่ใช่วัณโรค	6.96 g/dl	0.90	4.6 – 8.8	
LDH ในน้ำเจาะปอด				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	1189.44 U/L	1186.63	169 – 3470	0.879
ไม่ใช่วัณโรค	1234.83 U/L	969.86	173 – 3305	
LDH ในเลือด				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	552.17 U/L	424.05	251 – 2760	0.131
ไม่ใช่วัณโรค	854.96 U/L	1065.38	300 – 5555	
จำนวนเม็ดเลือดขาว/μl				
วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	2347.22	1992.61	400 – 9650	0.152
ไม่ใช่วัณโรค	1665.65	1295.96	300 - 5000	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ความสามารถในการวินิจฉัย (diagnostic yield) วัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีต่าง ๆ

วิธีการตรวจวินิจฉัย	ความไว (sensitivity)	ความจำเพาะ (specificity)
1. การย้อมสีทนกรดจากน้ำเจาะปอด	0 % (0/36)	
2. การย้อมสีทนกรดจากชิ้นเนื้อ	22.22 % (8/36)	100 % (23/23)
3. การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอด	11.11 % (4/36)	100 % (23/23)
4. การเพาะเชื้อจากชิ้นเนื้อ	41.67 % (15/36)	100 % (23/23)
5. การตรวจพบ granuloma	72.22 % (26/36)	95.65 % (22/23)
caseous granuloma	19.23 % (5/26)	100 % (23/23)
non-caseous granuloma	80.77 % (21/26)	95.65 % (22/23)
6. รวมวิธีที่ 4 และ 5	77.78 % (28/36)	95.65 % (22/23)
7. รวมทุกวิธี	80.56 % (29/36)	95.65 % (22/23)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบผลของการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีต่างๆ ในการศึกษานี้กับการศึกษาอื่นๆ

วิธีการตรวจวินิจฉัย	ผลจากการศึกษานี้	ผลจากการศึกษาอื่น
1. การย้อมสีทนกรดจากน้ำเจาะปอด	0 %	0 – 14.29 % [9-13,31]
2. การย้อมสีทนกรดจากชิ้นเนื้อ	22.22 %	0 – 18 [8,29,31]
3. การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอด	11.11 %	13 – 52.4 [8-13,26-29,31]
4. การเพาะเชื้อจากชิ้นเนื้อ	41.67 %	31 – 76.2 [8-13,29,31]
5. การตรวจพบ granuloma	72.22 %	62.5 – 84 [8-13]
caseous granuloma	19.23 %	62.5 – 78.8 [8-13]
non-caseous granuloma	80.77 %	37.9 [12]
6. รวมวิธีที่ 4 และ 5	77.78 %	78.6 – 95.2 [8,9,12]
7. รวมทุกวิธี	80.56 %	80 – 86 [8,12,31]

เกณฑ์ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในแต่ละการศึกษามีความแตกต่างกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลการตรวจด้วยวิธี PCR กับการศึกษาอื่น ๆ

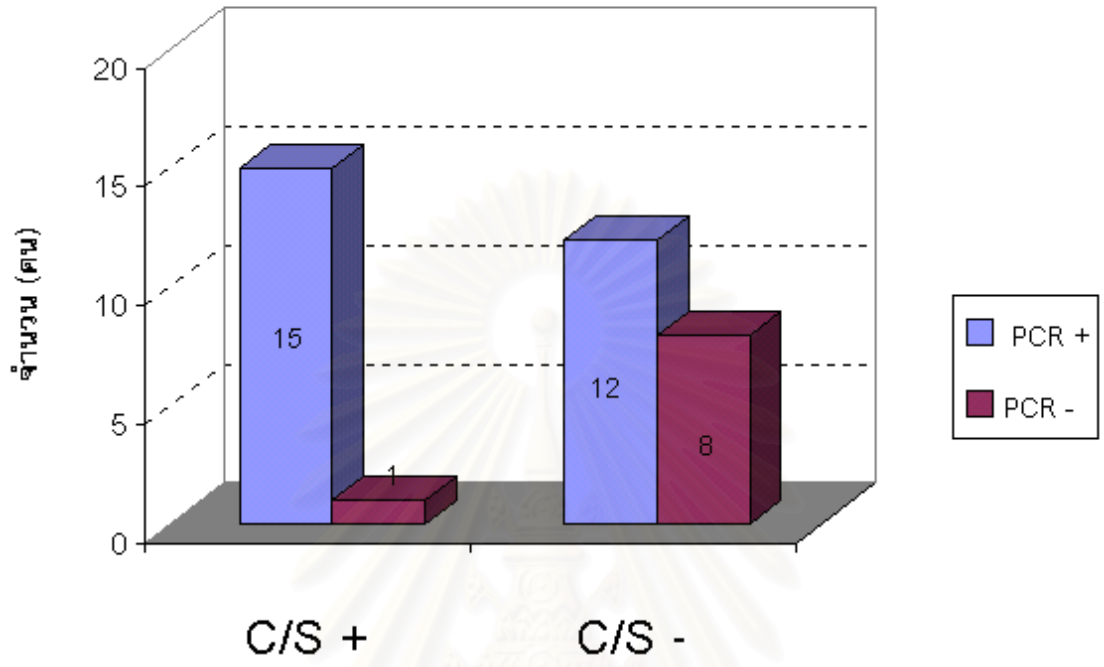
รายละเอียด	Lassence	Villena V.	Querol JM.	N. Takagi	การศึกษานี้
ประชากรที่ศึกษา	TP and CP	All patients	All patients	All patients	lymphocytic exudates
Target sequence	65XD: IS6110	IS6110	IS6110	IS6110	IS6110
สิ่งส่งตรวจทาง PCR	Pleural fluid	Pleural fluid	Pleural fluid	Pleural Bx specimens	Pleural Bx specimens
ขนาดตัวอย่าง*	14/24	33/131	21/107	19/28	36/59
ผลบวกจากการเพาะเชื้อ	33.33% (PF+PB)	48.48%(PF +PB)	80.95%(PF +PB)	21.05% (PF)	44.44%(PF +PB)
ความไว	20 : 60	42	81%	89 %	75%
ความจำเพาะ	100	94	100%	100 %	100%

* รายงานเป็นจำนวนผู้ป่วยที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดต่อจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด

PF = Pleural fluid ; PB = Pleural biopsy specimens

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 5 แสดงผลการตรวจด้วยวิธี PCR ของเยื่อหุ้มปอดตามผลการเพาะเชื้อ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 แสดงผลการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ในผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด เมื่อจำแนกเป็นกลุ่มย่อย

กลุ่มผู้ป่วย (จำนวน)	ผลการตรวจ PCR น้ำเจาะปอด	ผลการตรวจ PCR เยื่อหุ้มปอด	P – value
แบ่งตามเกณฑ์การวินิจฉัย			
● เข้ากับวัณโรค (29)	6/29 = 20.7%	22/29 = 75.9%	0.59 *
● น่าจะเป็นวัณโรค (7)	1/7 = 14.3%	5/7 = 71.4%	0.45 **
แบ่งตามผลการเพาะเชื้อ			
● ผลบวก ในน้ำเจาะปอดหรือเยื่อหุ้มปอด (16)	4/16 = 25%	15/16 = 93.8%	0.25 *
● ผลลบ ทั้งในน้ำเจาะปอดและเยื่อหุ้มปอด (20)	3/20 = 15%	12/20 = 60%	0.02 **
แบ่งตามสถานะการติดเชื้อเอชไอวี			
● anti HIV positive (10)	3/10 = 30%	9/10 = 90%	0.29 *
● anti HIV negative (26)	4/26 = 15.4%	18/26 = 69.2%	0.19 **
แบ่งตามผลการตรวจทางพยาธิวิทยา			
● granuloma (26)	6/26 = 23.1%	19/26 = 73.1%	0.35 *
● non-specific change (10)	1/10 = 10%	8/10 = 80%	0.35 **

* เทียบในกลุ่มน้ำเจาะปอด

** เทียบในกลุ่มเยื่อหุ้มปอดโดยวิธี Fisher's exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 7
การอภิปรายผลการศึกษา

การคัดเลือกผู้ป่วยเข้ารับการศึกษาและข้อมูลพื้นฐาน

ประชากรที่ศึกษาคือ ผู้ป่วยรายใหม่ที่มีสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น การที่ศึกษาผู้ป่วยกลุ่มนี้เนื่องจากในทางปฏิบัติในรายที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นชนิด PMN เด่นนั้น อาการมักจะดำเนินโรคเร็ว มีลักษณะที่แยกยากกับภาวะสารน้ำที่เกิดตามหลังปอดอักเสบโดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อแบคทีเรียแบบไม่พึ่งออกซิเจน ดังนั้นโดยทั่วไปจะยังไม่ตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดตรวจ อาจใช้วิธีติดตามดูอาการและเจาะปอดซ้ำเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดขาวว่ามีการเปลี่ยนอัตราส่วนของเซลล์ลิมโฟซัยท์ไปในทางที่มากขึ้นหรือไม่ ก่อนทำการตัดเยื่อหุ้มปอด อย่างไรก็ตามการศึกษาเฉพาะกลุ่มที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่นนั้นย่อมทำให้พลาดการศึกษาผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในระยะแรกๆไป และการศึกษานี้ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้โดยตรงกับกรณีวัณโรคเยื่อหุ้มปอดที่สารน้ำมีเซลล์ PMN เด่นได้

ผู้ป่วยที่เข้าการศึกษาทั้งหมด 59 ราย เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดทั้งสิ้น 36 ราย คิดเป็น 61.02 % ขอผู้ป่วยที่มีสารน้ำแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ได้ประมาณไว้ในการคิดขนาดตัวอย่าง และใกล้เคียงกับสถิติที่ได้จากการบันทึกไว้ ที่หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ [7,75]

ผู้ป่วยกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด มีอายุเฉลี่ย 33.0 ปี อยู่ในช่วงอายุ 16 ถึง 69 ปี ซึ่งมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าในข้อมูลเดิม (39.9 ปีช่วงอายุ 15-75 ปี) [7,75] อัตราส่วนชายมากกว่าหญิงในการศึกษานี้เท่ากับ 69.4 ต่อ 30.6 ซึ่งมีแนวโน้มลดลงกว่าเดิม อายุเฉลี่ยในกลุ่มที่เป็นวัณโรคมีความแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เป็นอย่างมีนัยสำคัญ

ผู้ป่วยกลุ่มที่สารน้ำมีสาเหตุจากมะเร็ง มีอายุเฉลี่ย 55.6 ปี ช่วงอายุตั้งแต่ 23 ถึง87 ปี ซึ่งขึ้นกับว่าเป็นมะเร็งชนิดใด เช่นในรายที่มีอายุน้อยที่สุดนั้นเกิดจากมะเร็งต่อมน้ำเหลือง มีอายุเพียง 23 ปี อัตราส่วนตามเพศพบว่าชายมากกว่าหญิงในอัตราส่วน 52.2% ต่อ 47.8% ซึ่งต่างจากข้อมูลเดิมที่มีหญิงมากกว่าชาย [76] แต่ในอัตราส่วนที่ไม่มากนัก (คือชายต่อหญิงเท่ากับ 47.9% ต่อ 52.1%) อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ไม่อาจชี้บ่งได้จริงเนื่องจากมีผู้ป่วยจำนวนน้อย แต่อาจเป็นจุดสนใจต่อไปว่าระบาดวิทยาของผู้ป่วยที่มีสารน้ำจากมะเร็งมีการ

เปลี่ยนแปลงหรือไม่ หรือมีอัตราส่วนการเกิดจากมะเร็งบางชนิดมากขึ้นหรือลดลงหรือไม่ ทั้งนี้เนื่องจากมะเร็งบางชนิดที่เป็นสาเหตุของสารน้ำพบมากในเพศหญิง เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งรังไข่ รวมถึง มะเร็งปอดชนิดอะดีโน ซึ่งพบบ่อยในรายที่ไม่สูบบุหรี่แต่มีคนใกล้ชิดสูบ (passive smoker) การวิเคราะห์สีของสารน้ำนั้นพบว่า กลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดพบสีเหลืองฟางเกือบทั้งหมด มีสีน้ำล้างเนื้อเพียงรายเดียว คิดเป็นอัตราส่วน 97.2 ต่อ 2.8 % ส่วนในกลุ่มที่มีสาเหตุจากมะเร็งนั้นพบสีเหลืองฟาง 10 ราย สีน้ำล้างเนื้อ 8 ราย และสีเลือด 2 ราย คิดเป็นอัตราส่วน 50 ต่อ 40 ต่อ10 % การที่พบสารน้ำมีสีเหลืองฟางจึงไม่สามารถโน้มเอียงว่าเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดได้ แต่หากพบว่าสารน้ำมีสีน้ำล้างเนื้อหรือสีเลือด โอกาสเป็นจากมะเร็งมีสูง และจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Chi-Square Test พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งตรงกับความรู้เดิม

ในผู้ป่วยกลุ่มที่สารน้ำไม่ได้มีสาเหตุจากวัณโรคอื่นๆนั้น อายุ เพศและสีน้ำขึ้นกับภาวะของโรคที่เป็นสาเหตุเช่น ในรายที่เกิดจากโรค SLE เป็นหญิงวัยกลางคนอายุ 36 ปี มีสารน้ำสีเหลืองฟาง ในรายที่เกิดหลังการสวนหัวใจนั้นเป็นชายสูงอายุ มีสารน้ำสีเหลืองฟาง และรายที่เกิดจากระบบน้ำเหลืองผิดปกติเป็นผู้ชายวัยกลางคน อายุ 41 ปี และสารน้ำมีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนม ซึ่งเป็นลักษณะของโรค ไม่ได้นำมาวิเคราะห์ร่วมกับผู้ป่วยมะเร็ง

การวิเคราะห์ปริมาณสารน้ำในโพรงปอด จากภาพรังสีปอด พบว่า ในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดพบปริมาณน้อย ได้บ่อยที่สุด (ปริมาณน้อย 47.2% ปริมาณปานกลาง 36.15 ปริมาณมาก 16.7%) ในกลุ่มที่มีสาเหตุจากมะเร็งพบปริมาณปานกลางบ่อยที่สุด (ปริมาณน้อย 25% ปริมาณปานกลาง 40% ปริมาณมาก 35%) จะเห็นได้ว่ากลุ่มวัณโรคมีปริมาณน้ำค่อนไปทางน้อยคือปริมาณน้อยและปานกลางมีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนกลุ่มที่มีเหตุจากมะเร็งมีปริมาณน้ำปานกลางถึงมาก ซึ่งความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นที่น่าสนใจว่าหากพบปริมาณน้ำมากยังมีโอกาสเกิดจากวัณโรคได้สูงถึง 42.9% ของกลุ่มปริมาณน้ำมากทั้งหมดซึ่งต่างจากในรายงานต่างประเทศที่พบเพียง 4%[57] คงต้องการการรวบรวมตัวอย่างที่มากขึ้นต่อไป และผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีสารน้ำปริมาณมากได้ถึง 16.7% ในการศึกษานี้ ซึ่งเมื่อย้อนดูการศึกษาในประเทศไทยอื่นก่อนหน้านี้ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน [7,75] ซึ่งเป็นจำนวนไม่น้อยและแพทย์ในเวชปฏิบัติทั่วไปอาจคาดไม่ถึง

การวิเคราะห์การเกิดสารน้ำในโพรงปอด ว่าเป็นข้างเดียวหรือสองข้าง ซ้ายหรือขวานั้น พบว่า ทั้งกลุ่มที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดและกลุ่มที่มีสาเหตุจากมะเร็ง มีโอกาสพบสารน้ำทางด้านขวามากกว่าด้านซ้าย (ขวาต่อซ้ายเท่ากับ 52.8 ต่อ 41.7 % และ 56.5 ต่อ 26.1 % ตามลำดับ) เป็นที่น่าสังเกตว่า ในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดก็สามารถพบน้ำ 2 ข้างได้ 5.6% แม้ว่าโอกาสจะน้อยกว่าในกลุ่มที่เกิดจากมะเร็งก็ตาม

สำหรับระยะเวลาตั้งแต่มีอาการจนกระทั่งผู้ป่วยมารับการรักษานั้น พบว่าในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีจำนวนวันเฉลี่ย 18.64 วัน ในจำนวนนี้ผู้ป่วย 24 รายใน 36 รายมาภายใน 2 สัปดาห์ และ 10 รายใน 36 รายหรือ 27.78% มาภายในเวลาไม่เกิน 1 สัปดาห์ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในต่างประเทศที่พบ 31% ของผู้ป่วยมาพบแพทย์ภายใน 2 สัปดาห์ ซึ่งจากการซักประวัติย้อนหลังในผู้ป่วยกลุ่มนี้ พบว่ามีอาการเจ็บหน้าอกแปลบๆเวลาหายใจเข้า (pleuritic chest pain) มาก่อนมากถึง 20 รายใน 24 ราย หรือ 83.33% สำหรับในรายที่มาช้ามักไม่ค่อยมีอาการเจ็บหน้าอกแบบ pleuritic chest pain หรือถ้ามีก็จะไม่รุนแรง พบ 4 รายใน 12 ราย และมักมีอาการเหนื่อยแน่นหน้าอกมากกว่าซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารน้ำที่ค่อนไปทางมาก ผู้ป่วยที่มาช้ากว่า 2 สัปดาห์นั้น 8 รายใน 12 ราย มีปริมาณน้ำปานกลางถึงมาก

สำหรับในกลุ่มที่มีสาเหตุจากมะเร็งมักมาช้า และเกือบทั้งหมดที่มีอาการจะมีอาการเหนื่อยจากน้ำที่มีปริมาณมาก อาการเริ่มแบบค่อยเป็นค่อยไป ไม่มีผู้ป่วยรายใดเลยที่มีอาการเจ็บหน้าอกแบบ pleuritic chest pain และในรายที่มีสารน้ำปริมาณน้อยนั้น มีจำนวน 5 ราย หรือ 25% ซึ่งทุกราย มีประวัติเป็นมะเร็งที่อวัยวะใดอวัยวะหนึ่งอยู่ก่อนแล้ว และเป็นการตรวจพบจากการติดตามผลการรักษาโดยภาพรังสีปอดทั้งสิ้น 4 ใน 5 รายไม่มีอาการใดๆผิดปกติเลย การเปรียบเทียบระยะเวลาก่อนมาโรงพยาบาลของทั้งสองกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การวิเคราะห์ข้อมูลนี้พึงต้องระวังอย่างมากเนื่องจากในรายที่อาการเกิดอย่างค่อยเป็นค่อยไป มักไม่สามารถบอกจุดเริ่มต้นของอาการได้ชัดเจน การตอบคำถามเกี่ยวกับอาการเป็นเพียงการประมาณคร่าวๆ เช่นบอกเป็นเดือน นอกจากนั้นอาการของผู้ป่วยเป็น subjective data ที่อาจต่างกันไปได้ในแต่ละคนโดยหลายปัจจัยเช่น สภาพจิตใจ ความทนปวด การได้รับยามาบางส่วน ความหลงลืม เป็นต้น จึงไม่ได้แสดงข้อมูลในกลุ่มที่เกิดจากมะเร็งเพื่อเปรียบเทียบเพราะอาจมีค่าต่างกันได้มากๆ โดยข้อจำกัดดังกล่าว

โรคที่พบร่วมในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น พบว่ามีการติดเชื้อ HIV ร่วม 10 ราย ใน 36 ราย คิดเป็น 27.78% เบาหวานพบ 3 รายคิดเป็น 8.33% ในการศึกษานี้ผู้ป่วยทุกรายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดยินยอมให้ตรวจหา anti-HIV โดยที่บางรายก็เป็นผู้ป่วยที่ทราบผลอยู่ก่อนแล้ว อย่างไรก็ตามไม่ได้มีการตรวจหาระดับเซลล์ CD4+ ในผู้ป่วยเหล่านี้ และสำหรับโรคเบาหวานไม่ได้ทำการตรวจหาทุกราย ทำในรายที่มีอาการของโรคเบาหวานเท่านั้น

ในกลุ่มสารน้ำที่มีสาเหตุมาจากมะเร็งนั้น พบว่า อวัยวะที่เป็นต้นเหตุ ของมะเร็ง (primary site) บ่อยที่สุดคือ มะเร็งปอดพบ 7 รายใน 20 รายคิดเป็น 35% รองลงมาคือมะเร็งเต้านม 3 รายคิดเป็น 15% มะเร็งรังไข่และมะเร็งต่อมน้ำเหลืองอย่างละ 2 รายคิดเป็น 10% มะเร็งตับและมะเร็งที่คอ (pyriform sinus) อย่างละ 1 รายคิดเป็น 5% นอกจากนี้เป็นมะเร็งกระจายมาที่เยื่อหุ้มปอดที่ไม่ทราบอวัยวะต้นเหตุ (unknown primary) 4 ราย หรือเท่ากับ 20% ซึ่งต่างจากรายงานในต่างประเทศ ที่พบมะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุของสารน้ำที่เกิดจากมะเร็งกระจายไปเยื่อหุ้มปอด ในอัตราส่วนที่สูงกว่านี้ และพบกลุ่มมะเร็งไม่ทราบอวัยวะต้นเหตุประมาณ 7% [2]

เมื่อเปรียบเทียบระดับโปรตีนในเลือด โปรตีนในน้ำเจาะปอดในทั้ง 2 กลุ่มพบว่าในกลุ่มที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมีระดับสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าสารน้ำของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมักมีโปรตีนสูง สำหรับระดับโปรตีนในเลือดนั้นน่าจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาของการเจ็บป่วยด้วย ทำให้ผู้ป่วยกลุ่มที่มีสาเหตุจากมะเร็งมีโปรตีนในเลือดต่ำกว่า (ค่าเฉลี่ย 3.96 กรัม/ดล. เทียบกับ 8.11 กรัม/ดล. ในกลุ่มวัณโรค) เนื่องจากกินอาหารไม่ได้เป็นเวลานาน หรือ จากภาวะ hypercatabolism ในโรคมะเร็งหรือเกิดจากโรคดั้งเดิมที่พบร่วมในผู้ป่วยสูงอายุ ส่วนระดับ LDH ในเลือดและในน้ำเจาะปอดนั้นในกลุ่มที่มีสาเหตุจากมะเร็งจะมีค่าสูงกว่าแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีมาตรฐาน

การย้อมสีทนกรดด้วยวิธี Ziehl-Neelsen ของน้ำเจาะปอด ไม่มีตัวอย่างใดให้ผลบวกเลยซึ่งตรงกับข้อมูลเดิมและในต่างประเทศ [1,2,52] ในทางปฏิบัติไม่ได้ทำการตรวจโดยย้อมสีทนกรดในผู้ป่วยที่สงสัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดอยู่แล้ว สำหรับในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ร่วมด้วยนั้นในการศึกษานี้มีผู้ป่วย 10 รายไม่มีรายใดพบเชื้อโดยวิธีนี้เช่นกันแต่เนื่องจากข้อมูลมีจำนวนน้อย จึงไม่อาจสรุปได้ว่าไม่มีประโยชน์ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ซึ่งเป็นที่ทราบดีว่ามีเชื้อจำนวนมากกว่า

การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดให้ผลบวกเพียง 4 รายใน 36 รายคิดเป็น 11.1% ซึ่งมีค่าต่ำกว่าในการศึกษาอื่น การเพาะเชื้อจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวก 15 รายใน 36 รายคิดเป็น 41.7% ซึ่งอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับบางรายงานที่เคยมีรายงานไว้ การเพาะเชื้อจากชิ้นเนื้อ เยื่อหุ้ม

ปอดมีความไวมากกว่าการเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Bueno และคณะที่ได้ความไวเท่ากับ 39 % และ 13 % ตามลำดับ [31]

ผู้ป่วยจำนวน 16 รายมีผลการเพาะเชื้อวัณโรค จากน้ำเจาะปอด หรือ ชิ้นเนื้อ เยื่อหุ้มปอดอย่างใดอย่างหนึ่งคิดเป็น 44.4% แบ่งเป็นผู้ป่วยที่ได้ผลบวกจากน้ำเจาะปอดเท่านั้น 1 รายใน 16 รายคิดเป็น 6.25% ผลบวกจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดอย่างเดียว 12 รายใน 16 รายคิดเป็น 75% และผลบวกในตัวอย่างทั้งสอง 3 รายใน 16 รายคิดเป็น 18.75%

ในการศึกษานี้การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดพบผลบวกค่อนข้างน้อย รวมทั้งจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดด้วยเมื่อเทียบกับบางรายงาน สาเหตุอาจเนื่องมาจากประชากรที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้มีจำนวนเชื้อน้อยกว่า ซึ่งหากเป็นเช่นนั้นจริงอาจมีผลต่อโอกาสพบเชื้อโดยวิธีอื่นๆด้วย โดยเฉพาะวิธีที่จะศึกษา อย่างไรก็ตามหากวิธี PCR ได้ผลดีย่อมจะเป็นประโยชน์มาก เพราะจะแสดงถึงความสามารถในการวินิจฉัยโรค แม้มีเชื้อจำนวนน้อยมาก และ ผู้ป่วยที่จะได้ประโยชน์จากการศึกษา ย่อมเป็นผู้ป่วยลักษณะนี้ที่ไม่ได้การวินิจฉัยจากวิธีอื่น

การตรวจทางพยาธิวิทยา พบลักษณะเฉพาะจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวก 26 รายใน 36 รายคิดเป็น 72.22% โดยมีผู้ป่วย 1 รายในกลุ่มนี้ที่ได้รับการวินิจฉัยในการเจาะปอดครั้งที่ 2 คิดผลบวกจากการตรวจนี้ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดในครั้งแรกเท่ากับ 69.44% ซึ่งใกล้เคียงกับที่มี รายงานมาก่อนคือ 63% และ 71.4% เมื่อรวมเข้ากับผลการเพาะเชื้อพบว่าได้ผลรวมเป็น 29 รายใน 36 ราย คิดเป็น 80.55% ในการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าได้ผลจากการตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจครั้งแรกประมาณ 60% ถ้าทำซ้ำ 3 ครั้งจะเพิ่มเป็น 80% เมื่อร่วมกับผลเพาะเชื้อจะเพิ่มเป็นประมาณ 90% [2,8,9]

ในจำนวนตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดที่ตรวจพบ granuloma 26 รายนั้นแบ่งเป็น caseous granuloma 5 ราย และ non-caseous granuloma 21 ราย ผู้ป่วยทุกรายตอบสนองต่อการรักษาดีตามเกณฑ์ที่ได้กำหนดไว้

การย้อมสีทนกรดของชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวก 8 ราย คิดเป็น 22.22% ของ ผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดทั้งหมดและเป็น 30.77% ของผู้ป่วยที่พบ granuloma (ในการศึกษานี้ พบว่าผู้ป่วยที่ย้อมสีทนกรดให้ผลบวกจะพบมี granuloma ร่วมด้วยทุกราย)

ผู้ป่วย caseous granuloma 2 รายใน 5 รายผลเพาะเชื้อชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวกและผู้ป่วย 4 รายใน 5 รายย้อมสีทนกรดให้ผลบวก ดังนั้น รวมผู้ป่วยที่ได้การวินิจฉัยชี้ชัด (definite diagnosis) ในการศึกษานี้เท่ากับ 19 รายใน 36 รายคิดเป็น 52.77%

การตรวจพบลักษณะทางพยาธิวิทยาแบบ granuloma นั้น แม้ว่าอาจพบได้ในความผิดปกติอื่นด้วยเช่น การติดเชื้อราของเยื่อหุ้มปอด โรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบรูมาตอยด์ โรค Tularemia โรค Sarcoidosis เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่า 95% ของ granuloma มีสาเหตุจาก

วัณโรคซึ่งเมื่อร่วมกับลักษณะทางคลินิก การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค และการที่โรคบางอย่างที่ให้พยาธิสภาพแบบนี้พบได้น้อยมากในประเทศไทย จึงน่าเชื่อได้ว่าผู้ป่วยทุกรายที่ตรวจพบ granuloma ในการศึกษานี้มีสาเหตุจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอดจริง และเมื่อร่วมกับผลเพาะเชื้อที่ให้ผลบวก 3 รายใน 10 รายที่ไม่พบลักษณะ granuloma นั้นทำให้เชื่อได้ว่าผู้ป่วยมากกว่า 80% เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ส่วนกลุ่มที่เหลือที่ไม่พบลักษณะทางพยาธิวิทยาเฉพาะและผลการเพาะเชื้อให้ผลลบอีกจำนวน 7 รายนั้นมีลักษณะทางคลินิก และการตอบสนองต่อยาต้านวัณโรค เข้าได้กับวัณโรคเยื่อหุ้มปอด และไม่มีสาเหตุอื่นๆที่จะอธิบายสาเหตุของสารน้ำในโพรงปอด ได้ให้การวินิจฉัยว่า “น่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด (probable diagnosis)” ซึ่งในการวิเคราะห์ผลของการตรวจ PCR จะได้แยกวิเคราะห์เป็นกลุ่มย่อยด้วย

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยหนึ่งรายที่ให้ลักษณะทางพยาธิวิทยาแบบ granuloma แต่ไม่ได้เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด คิดเป็นผลบวกลวงเท่ากับ 3.70% ดังได้กล่าวรายละเอียดแล้วในผลการศึกษา

ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HIV ร่วมด้วยนั้น ในการศึกษานี้พบผู้ป่วยดังกล่าว 10 ราย ผลการย้อมสีทนกรดให้ผลบวกใน 4 ราย ผลเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดให้ผลบวก 3 ราย และผลเพาะเชื้อจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวก 6 ราย ซึ่งโอกาสพบเชื้อวัณโรคในผู้ป่วยวัณโรค เยื่อหุ้มปอดที่ติดเชื้อ HIV ร่วมด้วยนั้น มีมากกว่าในรายที่ไม่มีการติดเชื้อHIVร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตรงกับความรู้ที่มีอยู่เดิม สำหรับการเกิด granuloma ในผู้ป่วย HIV พบได้มากถึง 9 รายใน 10 ราย แต่มีลักษณะ caseous necrosis เพียงรายเดียว

การวินิจฉัยภาวะสารน้ำที่มีสาเหตุจากมะเร็ง

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยที่มีสารน้ำจากมะเร็งรวม 20 ราย ผู้ป่วยที่สามารถตรวจพบเซลล์มะเร็งในน้ำเจาะปอดหรือชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด จะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น “มะเร็งแพร่กระจายมาที่เยื่อหุ้มปอด” ซึ่งมีจำนวน 18 รายคิดเป็น 90% โดยทั้งนี้เป็นการเจาะในครั้งแรก 14 รายคิดเป็น 70% การเจาะสารน้ำตรวจให้ผลบวกในการเจาะครั้งแรก 12 รายคิดเป็น 60% และเมื่อเจาะซ้ำเพิ่มเป็น 16 รายหรือ 80% การตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดตรวจให้ผลบวก 7 รายคิดเป็น 35% และเพิ่มการวินิจฉัยเมื่อทำร่วมกับการตรวจสารน้ำเพียง 2 รายหรือ 10% เท่านั้น ซึ่งการตรวจสารน้ำทางเซลล์วิทยาให้ค่าความไวใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานไว้ การตรวจพบเซลล์มะเร็งจากสารน้ำให้ผลดีกว่าการตรวจจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด เนื่องจากการกระจายของเซลล์มะเร็งบนเยื่อหุ้มปอดเป็นลักษณะไม่ทั่วถึง ซึ่งตรงกับความรู้ที่ทราบมาอยู่เดิม สำหรับผู้ป่วยอีก 2 รายที่เหลือเนื่องจากไม่มีสาเหตุอื่นที่อธิบายการเกิดของสารน้ำได้และตรวจพบมะเร็งจริงในระบบอวัยวะอื่น จึงได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น “สารน้ำที่เกี่ยวเนื่องกับมะเร็ง” (paramalignant effusion)

การตรวจโดยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction)

การใช้เทคนิค PCR ตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดนั้น พบว่าได้ผลบวก 27 รายใน 36 รายของผู้ป่วยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด คิดเป็นค่าความไวเท่ากับ 75% และไม่มีผู้ป่วยรายใดเลยในกลุ่มที่สารน้ำไม่ได้มีสาเหตุจากวัณโรคที่ได้ผลบวก ดังนั้นค่าความจำเพาะเท่ากับ 100% เมื่อศึกษาต่อไปในรายละเอียด พบว่าให้ผลบวกในการตรวจครั้งแรกเท่ากับ 17 รายใน 27 ราย คิดเป็น 62.96% และให้ผลบวกในการตรวจครั้งที่ 2 เพิ่มจำนวน 10 รายใน 27 ราย คิดเป็น 37.04% ไม่มีสิ่งส่งตรวจใดในการศึกษานี้ ที่ในการตรวจครั้งแรกให้ผลบวกแล้วจะให้ผลลบในการตรวจซ้ำเลย

ในกลุ่มที่ผลการเพาะเชื้อให้ผลบวกจากน้ำเจาะปอด หรือชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดอย่างใดอย่างหนึ่งนั้นมีจำนวนทั้งสิ้น 16 ราย การเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดด้วยเพิ่มผลบวกเพียง 1 รายเท่านั้น ใน 16 รายนี้ให้ผลบวกด้วยวิธี PCR เยื่อหุ้มปอด 15 รายคิดเป็น 93.75% เป็นการตรวจในครั้งแรก 10 ราย หรือเท่ากับ 66.67% และการตรวจในครั้งที่ 2 จำนวน 5 รายคิดเป็น 33.33% เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด การตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดโดยวิธี PCR มีความสัมพันธ์โดยตรงกับผลการเพาะเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ในผู้ป่วยที่ผลบวกจากวิธี PCR เยื่อหุ้มปอดที่เหลืออีก 12 ราย มีลักษณะพยาธิสภาพแบบ caseous granuloma 3 ราย อีก 9 รายเป็นพยาธิสภาพแบบ granuloma 4 ราย พยาธิสภาพแบบการอักเสบเรื้อรังไม่จำเพาะอีก 5 ราย

เมื่อคิดเฉพาะกลุ่มที่การวินิจฉัยชี้ชัดว่าเป็นวัณโรคโดยอาศัย ผลการเพาะเชื้อและการตรวจทางพยาธิวิทยาพบลักษณะ caseous granuloma รวม 19 รายนั้น สามารถให้ผลบวกโดยวิธี PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอดจำนวน 18 ราย คิดเป็น 94.73% และเมื่อคิดในกลุ่มที่เป็นวัณโรคตามข้อตกลงที่ได้ให้ไว้ในการวิจัยนี้พบว่าให้ผลบวก 22 ใน 29 รายคิดเป็น 75.86%

พยาธิสภาพที่พบเป็นการอักเสบเรื้อรังแบบไม่จำเพาะนั้นพบทั้งหมด 10 ราย มีผลการเพาะเชื้อให้ผลบวก 3 ราย คงเหลือ 7 รายในกลุ่ม “น่าจะเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอด” ดังได้กล่าวแล้วเมื่อเทียบกับการตรวจด้วยวิธี PCR จะให้ผลบวกในทั้ง 3 รายที่เพาะเชื้อวัณโรคได้ และให้ผลบวก 5 ใน 7 รายที่เหลือคิดเป็น 71.42%

ผู้ป่วย 1 รายในกลุ่มที่ไม่ได้เกิดจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอดที่ได้รับการวินิจฉัยโรคเป็น Postcardiac injury syndrome นั้นมีลักษณะทางพยาธิวิทยาแบบ granuloma ซึ่งคล้ายกับที่พบในวัณโรคเยื่อหุ้มปอด การตรวจ PCR ในผู้ป่วยรายนี้ทั้งจากน้ำเจาะปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลเป็นลบ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความจำเพาะต่อโรคของการทดสอบนี้

อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการเกิด granuloma ในกลุ่มวัณโรคเยื่อหุ้มปอด กับผลการตรวจทาง PCR ที่ได้ พบว่าไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าในการเกิดพยาธิสภาพแบบใดนั้นย่อมขึ้นกับปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นเป็นหลัก ส่วนการตรวจด้วยวิธี PCR

นั้นเป็นการตรวจหาเชื้อวัณโรค แม้ว่าโดยทั่วไปปริมาณเชื้อที่มากน่าจะก่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่มากตามกันไปด้วย แต่อาจมีปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น สภาพภูมิคุ้มกันของ ผู้ป่วยแต่ละรายซึ่งทำให้ การเกิด granuloma กับการมีเชื้อจำนวนมากไม่สัมพันธ์กันโดยตรง

สำหรับการใช้เทคนิค PCR ตรวจน้ำเจาะปอด ในการศึกษานี้พบว่า ได้ผลบวกในผู้ป่วย 7 รายคิดเป็น ค่าความไวเท่ากับ 19.44% โดยทุกรายเป็นการให้ผลบวกในการตรวจซ้ำ (nested) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการเพาะเชื้อพบว่า ในผู้ป่วยที่ผลการเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดหรือเยื่อหุ้มปอดอย่างใดอย่างหนึ่งให้ผลบวก 16 ราย จะพบผลบวกจากการตรวจด้วยเทคนิค PCR น้ำเจาะปอด 6 รายซึ่งเท่ากับ 37.50% เป็นการบอกประสิทธิภาพของการตรวจที่ไม่ดีนัก

เมื่อเปรียบเทียบการตรวจด้วยวิธี PCR จากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด กับจากน้ำเจาะปอด พบว่า การตรวจ PCR จากเยื่อหุ้มปอดให้ผลดีกว่า การตรวจจากน้ำเจาะปอด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตรงกับการเปรียบเทียบระหว่างผลการเพาะเชื้อจากชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดกับจากน้ำเจาะปอดในการทดลองเดียวกัน และตรงกับการเปรียบเทียบระหว่าง การย้อมสีทนกรดในสิ่งส่งตรวจทั้งสองด้วย ซึ่งสามารถอธิบายจากการที่มีจำนวนเชื้อวัณโรคในเยื่อหุ้มปอด มากกว่าในน้ำเจาะปอดนั่นเอง เมื่อย้อนกลับไปศึกษาถึงพยาธิกำเนิดของโรคจะยิ่งเข้าใจได้ง่ายขึ้นว่า เนื่องจากเมื่อปริมาณเชื้อเข้าสู่โพรงปอดแล้วย่อมถูกเจือจางโดยปริมาณน้ำที่มาก จนอาจทำให้ตรวจหาเชื้อได้ยาก ส่วนการตรวจสารน้ำให้ได้ผลดีต้องตรวจหา marker ของการอักเสบแทน เนื่องจากมีเซลล์อักเสบมากและสร้างสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) มากมาย แต่เป็นการตรวจทางอ้อมไม่จำเพาะต่อโรค

ในการตรวจ PCR เยื่อหุ้มปอดในการศึกษานี้ พบว่ามีความจำเพาะสูงมากคือ 100% แม้ว่าในทางทฤษฎีการตรวจหา IS6110 นั้นสามารถพบได้ในเชื้อตัวอื่นด้วยเช่น *M. bovis* เป็นต้น แต่โอกาสที่จะทำให้เกิดโรคในมนุษย์และโรคของเยื่อหุ้มปอดมีน้อยมาก

ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HIV ร่วมด้วยนั้น ในการศึกษานี้ การตรวจโดยวิธี PCR สำหรับชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวก 9 รายใน 10 ราย และสำหรับน้ำเจาะปอดให้ผลบวก 3 รายใน 10 รายซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของการย้อมสีทนกรด และ การเพาะเชื้อในผู้ป่วยกลุ่มนี้

สำหรับความไวของการตรวจ PCR เยื่อหุ้มปอดในการศึกษานี้คิดเป็น 75% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ใช้ได้ ความไวย่อมมีค่าต่างกันไปในแต่ละการศึกษา ขึ้นกับว่าเกณฑ์ในการคัดเลือก ผู้ป่วยเข้าการศึกษาเป็นเช่นไร หากเลือกเฉพาะรายที่วินิจฉัยชี้ชัดว่าเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดเช่น ผลการเพาะเชื้อให้ผลบวก ความไวของการตรวจย่อมมีค่าสูง เช่นในการศึกษาของ Querol และคณะ ซึ่งผลการเพาะเชื้อจากน้ำเจาะปอดได้ผลบวกสูงถึง 52% พบ caseous granuloma มากถึง 72% การตรวจ PCR น้ำเจาะปอดในการศึกษานั้นจึงมีความไวสูงถึง 81% ซึ่งในการศึกษาอื่นก็ได้ผล

ต่างกันไป (จะเห็นได้ว่า หากพิจารณาเฉพาะรายที่วินิจฉัยชี้ชัดว่าเป็น วัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในงานวิจัยนี้ การตรวจ PCR ของชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดจะมีความไวสูงมากถึง 94.7%)

ปัญหาอย่างหนึ่งของการตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด ไม่ว่าโดยการตรวจทางพยาธิวิทยา หรือ การเพาะเชื้อ หรือการตรวจทาง PCRก็ตาม ผลที่ได้ส่วนหนึ่งย่อมขึ้นกับว่าสามารถตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดได้จริง ซึ่งอาจช่วยอธิบายการที่มีผู้ป่วย 1 ราย ที่ผลการเพาะเชื้อเยื่อหุ้มปอดให้ผลบวกแต่การตรวจ PCR ได้ผลลบได้ การตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจยังเป็นการตรวจที่จำเป็นต้องอาศัยผู้มีประสบการณ์ ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความไวของการตรวจด้วย

การตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดตรวจนั้นเป็นวิธีการที่มีความเสี่ยงค่อนข้างต่ำ ในการศึกษานี้แม้ว่าจะต้องตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดอย่างน้อย 4 ชิ้น แต่ไม่มีผู้ป่วยรายใดเกิดอันตรายรุนแรงจากวิธีการตรวจดังกล่าว มีผู้ป่วย 2 รายที่เกิดอาการบวมบริเวณที่ทำการเจาะปอดซึ่งเกิดจากการที่มีสารน้ำรั่วเข้าชั้นใต้ผิวหนัง ซึ่งหายดีภายใน 3 วัน

สำหรับระยะเวลาในการตรวจนั้น การตรวจ PCR มีข้อได้เปรียบที่สามารถทำครั้งละตัวอย่างได้ ซึ่งในการศึกษานี้ใช้เวลาประมาณ 2 วัน เมื่อเทียบกับการตรวจหา IFN-□ ที่ต้องใช้วิธี ELISA ร่วมด้วยนั้น จะต้องรอปริมาณตัวอย่างสิ่งส่งตรวจให้ครบจำนวนก่อนเริ่มทำ ทำให้เสียเวลามากกว่า

การนำไปใช้ในทางปฏิบัติ

เมื่อพิจารณาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยวิธีต่างๆจากการศึกษานี้ ดังแสดงในตารางที่ 5 จะพบว่า การตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดด้วยเทคนิค PCR นั้นเป็นการตรวจที่ดีและมีประสิทธิภาพ กล่าวคือ มีค่าความไวเท่ากับ 75% เทียบกับ การตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดทางพยาธิวิทยาและการเพาะเชื้อรวมกัน ที่วินิจฉัยโรคได้ 77% แต่การตรวจโดยการเพาะเชื้อนั้นได้ผลช้ามาก จึงทำให้ไม่มีความสำคัญในการตัดสินใจรักษา ในขณะที่การตรวจโดยวิธี PCR ใช้เวลาเพียง 1-2 วันเท่านั้นและมีความจำเพาะมากกว่าคือเท่ากับ 100% สำหรับปัญหาทาง ด้านราคา การตรวจ PCR ที่ให้บริการอยู่ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์นั้น เสียค่าใช้จ่าย 1000 บาท ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้วิธีอื่นรวมกันเสียค่าใช้จ่ายเท่ากับ การตรวจทางพยาธิวิทยาชิ้นเนื้อ และย้อมสีทนกรดชิ้นเนื้อ 350 บาท การเพาะเชื้อน้ำเจาะปอดและชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด 100 บาท รวมเป็น 450 บาท สำหรับการตรวจโดยการเพาะเชื้อน้ำเจาะปอดนั้น ให้ผลเพิ่มจากการเพาะเชื้อเยื่อหุ้มปอดน้อยมาก คือ 6.25% เท่านั้นจึงไม่ควรทำ นอกจากในรายที่ไม่แน่ใจว่าตัดได้ชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดจริง

การพิจารณาเลือกผู้ป่วยตรวจ ควรทำในรายที่ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้โดยวิธีตามปกติน่าจะเหมาะสมในเศรษฐกิจของชาติในปัจจุบัน ซึ่งอาจทำการตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดเก็บไว้เพิ่มจากการตรวจทางพยาธิวิทยาอีก 1 ชิ้นโดยเก็บที่ –80 $^{\circ}$ C หากผลการตรวจทางพยาธิวิทยาไม่ได้คำตอบ จึงค่อยส่งตรวจทาง PCR เพิ่มเติม

การที่การตรวจโดยวิธี PCR ยังคงมีราคาแพงในปัจจุบันนั้น ส่วนหนึ่งเนื่องจากการที่ยังไม่ทราบถึงคุณประโยชน์ของการตรวจอย่างชัดแจ้ง หากการศึกษาในอนาคตยืนยันประโยชน์ที่ชัดเจน ก็ย่อมมีการส่งตรวจที่มากขึ้น ทำให้รายจ่ายต่อสิ่งส่งตรวจลดลงได้ อีกส่วนหนึ่งเนื่องจาก primer ที่ใช้ยังต้องสั่งมาจากต่างประเทศ หากประเทศไทยซึ่งเป็นแหล่งที่มีความชุกของวัณโรคสูง เป็นไปได้ว่าเชื้ออาจมีลักษณะต่างจากในต่างประเทศ ในขณะที่การศึกษาทางด้าน ชีวโมเลกุลในประเทศไทยกำลังพัฒนาขึ้นนั้น การหาลักษณะเฉพาะของเชื้อเพื่อผลิต primer ขึ้น ใช้เองภายในประเทศ อาจทำให้ราคาการตรวจถูกลงรวมทั้งมีความไวเพิ่มสูงขึ้นได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 8
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1. การใช้เทคนิค PCR ตรวจชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอด เป็นวิธีที่ดีพอควรในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยที่มาด้วยสารน้ำในโพรงปอดแบบเอกซูเดท ที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น โดยมี

ความไว (sensitivity) เท่ากับ 75% (95% CI = 64.0 – 86.1 %)

ความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 100%

โอกาสที่จะเป็นโรคเมื่อการทดสอบให้ผลบวก (positive predictive value) มีค่าเท่ากับ 100%

โอกาสที่จะไม่เป็นโรคเมื่อการทดสอบให้ผลลบ (negative predictive value) มีค่าเท่ากับ 71.88%

และค่าความถูกต้อง (accuracy) เท่ากับ 84.75%

2. การใช้เทคนิค PCR ตรวจเยื่อหุ้มปอด สามารถวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดได้ดีกว่าการตรวจจากน้ำเจาะปอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ผู้ป่วยที่วิธีการมาตรฐานไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ ส่วนใหญ่ได้ประโยชน์จากการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค PCR

4. การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีมาตรฐานเพื่อวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด ในปัจจุบันในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สามารถทำได้ไม่ต่างจากที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อบกพร่องของงานวิจัยนี้

1. การศึกษานี้บางส่วนได้เก็บสิ่งส่งตรวจไว้ก่อนในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -80°C และทำการตรวจในภายหลัง แม้ว่าการเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวจะสามารถรักษาสภาพต่างๆได้ดี แต่บางข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจด้วยวิธี PCR พบว่าการทำการตรวจในทันทีให้ผลดีกว่า

2. การศึกษานี้แม้ว่าได้ข้อมูลเกี่ยวกับสถานภาพการติดเชื้อ HIV ร่วม ในผู้ป่วย วัณโรคเยื่อหุ้มปอดทุกรายก็ตาม แต่ไม่ได้มีการประเมินความรุนแรงของภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องนั้นเลย

3. ไม่ได้มีการศึกษาการตรวจโดยเทคนิค PCR ในผู้ป่วยที่มีสารน้ำจากสาเหตุอื่นไม่ใช่วัณโรค แต่เคยเป็นวัณโรคเยื่อหุ้มปอดมาก่อนในอดีต เนื่องจากมักมีผู้กล่าวเสมอๆ ว่า การตรวจพบว่า PCR ให้ผลบวก หมายถึงพบเชื้อวัณโรค แต่อาจเป็นเชื้อที่ตายแล้วไม่ได้ก่อโรคในขณะนี้ก็เป็นได้ ซึ่งหากเป็นจริง ในประเทศที่มีความชุกของวัณโรคสูง อาจให้ผลบวกลวงได้มาก

ข้อเสนอแนะ

1. ในผู้ป่วยที่มีสารน้ำแบบเอกซูเดทที่มีเซลล์ลิมโฟซัยท์เด่น และวิธีการตรวจมาตรฐานไม่ได้การวินิจฉัย การตรวจเยื่อหุ้มปอดด้วยวิธี PCR เป็นทางเลือกหนึ่งในการตรวจต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีความเสี่ยงต่อการให้ยาต้านวัณโรค เช่น ผู้ป่วยโรคตับ ผู้ป่วยที่อายุมากกว่า 35 ปี เป็นต้น

2. ความรู้ที่ได้จากการทำวิจัย นี้ ทำให้สามรถดูแลรักษาผู้ป่วยได้ดียิ่งขึ้นในราคาที่ประหยัด เช่น ไม่ส่งตรวจย้อมสีทนกรดในน้ำเจาะปอดเพื่อวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด เพราะมีความไวต่ำมาก และลบล้างความเข้าใจเดิม เช่น การพบสารน้ำปริมาณมากไม่สามารถตัดวัณโรคเยื่อหุ้มปอดทิ้งไปได้จากการวินิจฉัยแยกโรค ทำให้เห็นความสำคัญของข้อมูลทางระบาดวิทยาในประเทศของเราเองมากขึ้น

3. ในการทำวิจัยต่อไป สำหรับในภาวะที่ประเทศไทยเผชิญกับปัญหาเศรษฐกิจตกต่ำอยู่นี้ การกลับมาใช้การทดสอบที่มีราคาถูกและมีความไวพอควร น่าจะสมเหตุผล เช่น การศึกษาถึงการใช้การวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอดโดยลักษณะทางคลินิกเบื้องต้น ว่ามีความถูกต้องเพียงใด หรือศึกษาถึงความคุ้มทุนของการทดสอบแบบใหม่ๆ เช่น การตรวจด้วยวิธีหาสาร ADA ที่นิยมกันอยู่ในปัจจุบันว่าในการวินิจฉัยได้เพิ่มกว่าวิธีตามปกติหนึ่งรายนั้น จะต้องสิ้นเปลืองเพียงใด

4. ส่วนในการทำวิจัยต่อไป เกี่ยวกับวิธีการตรวจที่มีราคาแพงและยังมีหลักฐานไม่เพียงพอนั้น ก็มีประโยชน์ในแง่ของการเกิดความรู้ใหม่ การทราบข้อมูลท้องถิ่น ซึ่งการศึกษาในชั้นลึกลงไปอาจทำให้สามารถพัฒนาเทคโนโลยีขึ้นใช้เอง และประหยัดค่าใช้จ่ายลงได้

5. ในขณะที่วัณโรคเยื่อหุ้มปอดนั้น สามารถหายเองได้ หรือสามารถวินิจฉัยได้ด้วยการรักษาด้วยยาต้านวัณโรค ทำให้ความสำคัญของการตรวจต่างๆลดลง ในทางกลับกันโรคที่มีสารน้ำในโพรงปอดที่แยกได้ยากจากวัณโรคเยื่อหุ้มปอด คือ ภาวะสารน้ำที่เกิดจากมะเร็งนั้น ก็บ่งถึงการพยากรณ์โรคที่แย่อยู่เองอยู่แล้ว โดยมักมีอายุเฉลี่ยหลังวินิจฉัยประมาณ 3-6 เดือน การตรวจวินิจฉัยเร็วขึ้นไม่ได้ช่วยให้ผู้ป่วยส่วนใหญ่ของภาวะนี้มีชีวิตรอดนานขึ้น อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเร็วนั้น จะสามารถลดความเสี่ยงต่อ ผลข้างเคียงของการลองรักษาด้วยยาต้านวัณโรคได้ เนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้มักสูงอายุ รวมทั้งลดการตรวจวินิจฉัยที่ไม่จำเป็นด้วย

6. ศึกษาโดยเทคนิคที่สามารถบ่งความมีชีวิต (viability) ของเชื้อวัณโรค และสามารถบ่งชี้เฉพาะเชื้อได้ด้วย เช่น การพัฒนาเทคนิคการเพาะเชื้อให้มีความไวเพิ่มขึ้น การศึกษา mRNA ของวัณโรคแทนเพราะบ่งว่าเซลล์ยังสามารถสร้างโปรตีนได้ด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Light RW. Pleural effusion. In: Murray JF, Nadel JA, editors, **Textbook of Respiratory Medicine**. 2nd edition. 2164-92. Philadelphia : Saunders, 1994.
2. Light RW. **Pleural disease**. 3rd edition. Baltimore: William & Wilkins, 1995.
3. Raviglion MC, Snide DE Jr., Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of worldwide epidemic. **JAMA** 1995; 273: 220-6.
4. Tuberculosis programme review Thailand 1995 overview. World Health Organization Geneva1995 **Document WHO/TB/**95-192.
5. จุรี ปุณโณฑก. วัณโรคและการติดเชื้อไวรัสเอดส์. วารสารวัณโรคและโรคทรวงอก 2538; 16:47-58.
6. รังสรรค์ ปุษปาคม , นันทา มาระเนตร์. การใช้เข็มตัดเยื่อหุ้มปอดและการทำ Pleuroscopy ด้วย Flexible fiberoptic bronchoscope ในการวินิจฉัย pleural effusion. **วารสารวัณโรคและโรคทรวงอก** 1980; 1: 87-94.
7. อุดมศักดิ์ ศิลาจำรูญ **ระดับของแกมมาอินเตอร์เฟียรอนในน้ำเจาะจากเยื่อหุ้มปอดในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มปอด** ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2541.
8. Scharer L, McClement JH. Isolation of tubercle bacilli from needle biopsy specimens of parietal pleura. **Am Rev Respir Dis** 1968 ; 97: 466-8.
9. Levine H, Metzper W, Lacera D, Kay L. Diagnosis of tuberculous pleurisy by culture of pleural biopsy specimen. **Arch Intern Med** 1970; 126: 269-71.
10. Marrtens G, Bateman E. Tuberculous pleural effusions : increased culture yield with bedside inoculation of pleural fluid and poor diagnostic value of adenosine deaminase. **Thorax** 1991; 46: 96-9.
11. Cheng AF, Li MSK, Chan CY, Chan CHS, Lyon D, Wise R, et al. Evaluation of three culture media and their combinations for isolation of Mycobacterium tuberculosis from pleural aspirates of patients with tuberculous pleurisy. **J Trop Med Hyg** 1994; 97 :249-53.
12. Berger HW, Mejia E. Tuberculous Pleurisy. **Chest** 1973;63: 88-92.
13. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Penela P, Valle JM, Garcia-Pazos JM, et al. Tuberculous Pleurisy. A Study of 254 Patients. **Arch Intern Med** 1998; 158: 2017-21.
14. Morehead RS. Tuberculosis of the Pleura. **Southern Medical Journal** 1998; 91: 630-6.
15. Roth BJ. Searching for Tuberculosis in the Pleural Space. **Chest** 1999; 116: 3-5.
16. Valdes L, San Jose E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomon B, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. **Chest** 1993; 103: 458-65.

17. Goulart De Oliverira H, Rossatto E, Prolla J. Pleural fluid adenosine deaminase and lymphocyte propertion: clinical usefulness in the diagnosis of tuberculosis. **Cytopathology** 1994; 5: 27-32.

18. Villena V, Navaus-Gonzales JA, Garcia-Benayas C, Manzanos JA, Echave J, Lopez-Encuentra A, et al. Rapid automated determination of adenosine deaminase and lysozyme for differentiating tuberculous and nontuberculous effusions. **Clin Chem** 1996; 42: 218-21.

19. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Juanatey JRG, Pose A, Valle JM, et al. Value of adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion in young patients in a region of high prevalence of tuberculosis. **Thorax** 1995; 50: 600-3.

20. Burgess L, Maritz F, Le Roux I, Taljaard JJF. Use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for tuberculous pleurisy. **Thorax** 1995; 50: 672-4.

21. Aoki Y, Katoh O, Nakanishi Y, Kuroki S, Yamada H. IFN-γ ,ADA, and CA125 as the diagnostic parameter in tuberculous pleuritis. **Resp Med** 1994; 88: 139-43.

22. Valdes L, San Jose cE, Alvarez D, Valle JM. Adenosine deaminase isoenzyme analysis in pleural effusions: diagnostic role and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. **Eur Respir J** 1996; 9: 747-51.

23. Ungeus JPJ, Oosthuizen HM, Retief JH, Bissbat SH. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. **Chest** 1994; 106: 33-7.

24. Villena V, Lopez-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martin-Escribano P, Ortuno-de-Solo B, Estenoz-Alfaro J. Interferon -γ in 338 immunocompromised and immunocompetent patients for diagnosing pleural tuberculosis. **Eur Respir J** 1996; 9: 2635-9.

25. Soderblom T, Nyberg P, Teppo AM, Klockars M, Riska H, Pettersson T. Pleural fluid interferon gamma and tumor necrotic factor alpha in tuberculosis and rheumatoid pleurisy. **Eur Respir J**1996; 9: 1652-5.

26. de Wit D, Maartens G, Steyn L. A comparative study of the polymerase chain reaction and conventional procedures for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. **Tuber Lung Dis**1992; 73: 262-7.

27. Querol JM, Minguez J, Garcia-Sanchez E, Farga MA, Gimeno C, Garcia-de-Lomas J. Rapid diagnosis of pleural tuberculosis by polymerase chain raction. **Am J Respir Crit Care Med**1995; 152:1977-81.

28. Lassence A, Lecossier D, Pierre C, Cadranel J, Stern M, Hance AJ. Detection of mycobacterial DNA in pleural fluid from patients with tuberculous pleurisy by means of the polymerase chain reaction. Comparison of the two protocols. **Thorax** 1992; 47: 265-9.

29. Villena V, Rebello MJ, Aguade JM, Galen A, Encuentra AL, Palenque E. Polymerase chain reaction for the diagnosis of pleural tuberculosis in immunocompromised and immunocompetent patients. **Clin Infect Dis** 1998; 26: 212-4.

30. Kolk AHJ, Schuitema ARJ, Kuijper S, Leeuwen JV, Hermans PWM, Embden JDA, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical samples by using polymerase chain reaction and a nonradioactive detection system. **J Clin Microbiol** 1992; 30: 2567-75.

31. Bueno CE, Clemente MG, Castro BC, Martin LM, Ramos SR, Panizo AG, et al. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Cope's needle. **Arch Intern Med** 1990; 150: 1190-4.

32. Richter C, Porenboom R, Swai AB, Kitinya J, Mtoni I, Chande H, et al. Diagnosis of tuberculosis in patients with pleural effusion in an era of HIV infection and limited diagnostic facilities. **Trop Geogr Med** 1994; 46: 293-7.

33. Fenton KN, Richardson JD. Diagnosis and management of malignant pleural effusions. **Am J Surg**1995; 171: 69-74.

34. Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. **Ann Intern Med** 1972; 77: 507-13.

35. Yam LT. Diagnostic significance of lymphocytes in pleural effusions. Ann Intern Med 1967; 66: 972-82.

36. ชัยเวช นุชประยูร เชื้อวัณโรค. ใน บัญญัติ ปริชญานนท์ ชัยเวช นุชประยูร สงคราม ทรัพย์เจริญ บรรณาธิการ. **วัณโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 4 (ฉบับปรับปรุง).150-70: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542.

37. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis. **Am Rev Respir Dis** 19901; 142: 725-35.

38. Baess I. Determination and re-examination of genome sizes and base ratios on deoxyribonucleic acid from mycobacteria. **Acta Path Microbiol Scand** (B) 1984; 92: 209-11.

39. Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. **Tubercle** 1991; 72: 1-6.

40. ภาสกร อัครเสวี ระบาดวิทยา และแนวโน้มของวัณโรคในประเทศไทย. ใน บัญญัติ ปริชญานนท์ ชัยเวช นุชประยูร สงคราม ทรัพย์เจริญ บรรณาธิการ. **วัณโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 4 (ฉบับปรับปรุง): 31-63: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.2542.

41. IUATLD/WHO. Tuberculosis preventive therapy in HIV-infected individuals – A joint statement of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease(IUATLD) and the Global Programme on AIDS and the Tuberculosis Programme of the World Health Organization (WHO) **Tubercle Lung Dis** 1992; 73: 311-21.

42. Styblo K, Meiyer J, Sutherland I. The transmission of tubercle bacilli;its trend in a human population. **Bull Int Union Tuberc** 1969; 42: 100-4.

43. สายันต์ แก้วเกตุ การควบคุมวัณโรคในประเทศไทย ปัญหา อุปสรรค และหนทางที่พอมีอยู่ **วารสารวัณโรคและโรคทรวงอก** 2528; 17: 309-16.

44. WHO : WHO Tuberculosis Programme Framework for effective tuberculosis control, **Document WHO/TB/94.179**.

45. R Fayer, D Wilkinson. Directed Observed Therapy for Tuberculosis : History of an idea. **Lancet** 1995; 345: 1545-8.

46. China Tuberculosis centrol collaboration. Results of DOTS in 112,842 Chinese patients with smear-positive tuberculosis. **Lancet** 1996; 347: 358-62.

47. Stead WW, Eichenholz A, Strauss H-K. Operative and pathologic findings in twenty-four patients with syndrome of idiopathic pleurisy with effusion,presumablt tuberculosis. **Am Rev Respir Dis** 1955; 71: 473-502.

48. Allen JC, Apicella MA. Experimental pleural effusion as a manifestation of delayed hypersensitivity to tuberculin PPD. **J Immunol** 1968; 101: 481-7.

49. Apicella MA, Allen JC. A physiologic differentiation between delayed and immediate hypersensitivity. **J Clin Invest** 1969; 48: 250-9.

50. Leibowitz S, Kennedy L, Lessof MH. The tuberculin reaction in the pleural cavity and its suppression by antilymphocyte serum. **Br J Exp Pathol** 1973; 54: 152-62.

51. Antony VB, Sahn SA, Antony AC, Repine JE. Bacillus Calmette-Guerin-stimulated neutrophils release chemotaxins for monocytes in rabbit pleural space in vitro. **J Clin Invest** 1985; 76: 1514-21.

52. Ferrer J. Pleural tuberculosis. **Eur Respir J** 1997; 10: 942-7.

53. Mehta JB, Dutt A, Harvill L, Mathews KM. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis. **Chest** 1991; 99: 1134-8.

54. Saks AM, Posner R. Tuberculosis in HIV positive patients in South Africa : A comparative radiological study with HIV negative patients. **Clin Radiol** 1992; 46: 387-90.

55. Levine H, Szanto PB, Cugell DW. Tuberculous pleurisy : an acute illness. **Arch Intern Med** 1968; 122: 329-32.

56. Moudgil H, Sridhar G, Leitch AG. Reactivetion disease: the commonest form of tuberculous pleural effusion in Edinburgh, 1980-1991. **Respir Med** 1994; 88: 301-4.

57. Chan CH, Arnold M, Chan CY, Mak TW, Hoheisel GB. Clinical and pathological features of tuberculous pleural effusion and its long-term consequences. **Respiration** 1991; 58: 171-5.

58. Maher GG, Berger HW. Massive pleural effusion : malignant and non-malignant causes in 46 opatients. **Am Rev Respir Dis** 1972; 105: 458-60.

59. Roper WH, Waring JJ. Primary serofibrinous pleural effusion in military personnel. **Am Rev Respir Dis** 1955; 71: 616-34.

60. Ellner JJ. Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. **Ann Intern Med** 1978; 89: 932-3.

61. Rossi GA, Balbi B, Manca F. Tuberculous pleural effusions: Evidence for selective presence of PPD- specific T-lymphocytes at site of inflammation in the early phase of the infection. **Am Rev Respir Dis** 1987; 136: 575-9.

62. Yew WW, Chan CY, Kwan SY, Cheung SW, French GL. Diagnosis of tuberculous pleural effusion by the detection of tuberculostearic acid in pleural aspirates. **Chest** 1991; 100:1261-3.

63. Banchuin N, Pumprueg U, Pimolpan V, et al. Anti PPD IgG responses in tuberculous pleurisy. **J Med Assoc Thai** 1987; 70:321-5.

64. รังสรรค์ ปุษปาคม วัณโรคเยื่อหุ้มปอด. ใน บัญญัติ ปริชญานนท์ ชัยเวช นุชประยูร สงคราม ทรัพย์เจริญ บรรณาธิการ. **วัณโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 4 (ฉบับปรับปรุง). 538-554: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542.

65. Barbas CSV, Cukier A, de Varvalho CRR, Barbas-Fiho JV, Light RW The relationship between pleural fluid findings and the development of pleural thickening in patients with pleural tuberculosis. **Chest** 1991; 100: 1264-7.

66. SaikiRK, Gelfan DH, Stoffel S, et al. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science** 1988; 239: 487-91.

67. Brisson-Noel A, Gicquel B, Lecossier D, Levy-Frebault V, Nassif X, Hance AJ. Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. **Lancet** 1989; 334: 1069-71.

68. อังคณา ฉายประเสริฐ วิธีการใหม่ในการวินิจฉัยวัณโรค. ใน บัญญัติ ปริชญานนท์ ชัยเวช นุชประยูร สงคราม ทรัพย์เจริญ บรรณาธิการ. **วัณโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 4 (ฉบับปรับปรุง).195-221: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542.

69. Tagaki N, Hasegawa Y, Ichiyama S, Shibagaki T, Shimokata K. Polymerase chain reaction of pleural biopsy specimens for rapid diagnosis of tuberculous pleuritis. **Int J Tuberc Lung Dis** 1998; 2: 338-41.

70. Vestal AL. **Procedures for the isolation and identification of mycobacteria.** Atlanta: Center for disease control, 1975.

71. ชัยเวช นุชประยูร. **วัณโรคปฏิบัติการ**. กรุงเทพ ฯ สมาคมปราบวัณโรคแห่งประเทศไทยในพระบรม - ราชูปถัมภ์, 2539.

72. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett D. Users' guides to the medical literature.III. How to use and article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? **JAMA** 1994; 271: 703-7.

73. Stelzner TJ, King Jr TE, Antony VB, Sahn SA. The pleuropulmonary manifestations of the postcardiac injury syndrome. **Chest** 1983; 84: 383-7.

74. Kim S, Sahn SA. Postcardiac injury syndrome an immunologic pleural fluid analysis. **Chest** 1996; 109: 570-2.

75. Wongtim S, Silachamroon U, Ruxrungtham K, Udompanich V, Limthongkul S, et al Interferon gamma for diagnosing tuberculous pleural effusions. **Thorax** 1999; 54:921-4.

76. Limthopngkul S, Chareonlap P, Nuchprayoon C, Na Songkhla Y. Pleural fluid pH, pCO_2 and character in tubercul;ous and malignant effusions: a report of 250 cases. **J Med Assoc Thai** 1983;66:220-6.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบฟอร์มคำอธิบายประกอบหนังสือยินยอม
ใบยินยอมรับการรักษา

หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ วันที่ _____

<u>คำชี้แจง</u>

การเจาะปอดและตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อ นำสารน้ำในโพรงปอดและ เยื่อหุ้มปอดออกตรวจ เพื่อให้ได้การวินิจฉัยและการรักษาโรคที่ถูกต้อง โดยมีขั้นตอนดังนี้ คือ หลังจากจัดผู้ป่วยให้อยู่ในท่านั่งที่สบาย แล้วทายาฆ่าเชื้อแล้ว แพทย์ผู้เชี่ยวชาญจะฉีด ยาชาเข้าไปยังบริเวณที่จะทำการเจาะปอด หลังจากนั้น จะใช้เข็มดูดสารน้ำในโพรงปอดประมาณ 40 มล. เพื่อตรวจ แล้วตัดเยื่อหุ้มปอดโดยใช้เข็มที่ออกแบบโดยเฉพาะ อีกครั้งหนึ่ง

1. การเจาะปอดและตัดชิ้นเนื้อเยื่อหุ้มปอดนั้น เป็นวิธีมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับทั่วไป ว่าสามารถใช้ในการวินิจฉัย ภาวะสารน้ำในโพรงปอดที่ไม่ทราบสาเหตุได้ดี และมีผลข้างเคียง น้อยมาก

2. หลังจากการทำหัตถการดังกล่าว อาจมีอาการปวดบริเวณแผลได้ หรืออาจมีน้ำซึมออก จากแผลที่เจาะ อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยจะได้รับยาแก้ปวดและ คำแนะนำในการดูแลแผล

3. นอกจากนั้น หากมีข้อสงสัยใน โรค การทำหัตถการ หรือผลข้างเคียงใดๆ

สามารถติดต่อ นพ. กมล ได้ที่ หมายเลขโทรศัพท์ 2564252 (ในเวลาราชการ) หรือฝากหมายเลขติดต่อกลับที่ 1188 เรียก 6407670

4. การรักษาเฉพาะตามผลของการเจาะปอดและอาการของผู้ป่วย โดยมีการติดตามการรักษา สม่ำเสมอ โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโรคปอดโดยเฉพาะ

5. ข้อมูลทั้งหลายจะถูกเก็บเป็นความลับ

ขออนุญาตทำการเจาะปอดและตัดเยื่อหุ้มปอดตรวจ โดยมีข้อบ่งชี้คือ มีสารน้ำในโพรงปอดที่ยังไม่ทราบการวินิจฉัย

ชื่อผู้ป่วย _____ HN. _____

ชื่อผู้อนุญาต _____ เกี่ยวข้องเป็น _____

ผู้ได้รับอนุญาต นพ.กมล แก้วกิติณรงค์.

พยาน 1 _____

พยาน 2 _____

แบบฟอร์มการบันทึกข้อมูลผู้ป่วยที่มีสารน้ำในโพรงปอด

Pleural Effusion Form

Number_____Date _____

1. Identification Information

Name _____

Sex _____ Age _____ HN. _____

Address _____

Tel . _____

2. Underlying Disease

a. contact TB _____ for _____

b. past history of TB or treatment _____

c. smoking _____

d. known cancer _____

e. others _____

3 . Presenting symptoms

a. fever _____

b. cough _____

c. dyspnea _____

d. chest pain _____ pleuritic / non-pleuritic

e. weight loss _____ kgs. in _____ month

4 . Physical Examination and Chest Radiographs

a. correlation _____

b. effected side _____ right _____ left _____ bilateral

c. amount of fluid

- minimal - nonmassive - more than 50%

d. pattern

- typical - subpulmonic - loculated

e. pulmonary infiltration _____

f. others : lymphadenopathy _____ digital clubbing _____

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. Presumptive diagnosis _____

by _____

6. Indication for thoracentesis

- diagnostic number _____
- therapeutic number _____ interval _____ days

7. Pleural fluid

a. appearance

- color _____
- foul-smelled _____
- specific gravity _____

b. cell count and differential count _____

8. Specific test

a. gram stain _____

b. culture/ sensitivity _____

c. cytology _____

d. pleural biopsy _____

e. others (specify) _____

9. Conclusion

diagnosis _____

10. Plan of treatment _____

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายกมล แก้วกิติณรงค์ เกิดเมื่อวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2512 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี แพทยศาสตร์บัณฑิต เมื่อปีการศึกษา 2536 จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หลังจากนั้นได้ปฏิบัติงานเป็นแพทย์ประจำในโรงพยาบาลอำเภอที่จังหวัดนครศรีธรรมราช เป็นเวลา 3 ปี ต่อมาได้เข้าศึกษาต่อในระดับแพทย์ประจำบ้าน ที่ฝ่าย อายุรกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างปี พ.ศ. 2539-2542 และสอบได้วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญทางวิชาชีพเวชกรรมสาขาอายุรศาสตร์ทั่วไป เมื่อปี พ.ศ. 2542 ปัจจุบันอยู่ระหว่างการฝึกอบรมแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาวิชาโรคระบบการหายใจและภาวะวิกฤติโรคระบบการหายใจ ฝ่ายอายุรกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย