

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีและระดับแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาอัลเบนดาโซลและยาไอเวอร์เมกติน สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดมักจะพบได้ในผู้หญิงมากกว่าผู้ชายอาจเกิดเนื่องจากพฤติกรรมการบริโภคและกิจกรรมที่ทำในแต่ละวัน เช่น ทำกับข้าว แล้วมือสัมผัสกับสัตว์ที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางอาจทำให้พยาธิไชเข้าไปในร่างกายได้ เป็นต้น
2. อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยที่เป็นโรคพยาธิตัวจิ๊ดในการวิจัยครั้งนี้ คือ ประมาณ $30 - 35 \pm 9.8$ ปี (การศึกษาของ Suntharasamai *et al.* (1992) ⁽¹⁶⁾ พบว่าผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดมีอายุเฉลี่ย $32.8 - 33.2 \pm 8.1$ ปี)
3. การแพร่กระจายของโรคพยาธิตัวจิ๊ดพบมากในกรุงเทพฯ รongลงมา คือ ภาคตะวันออก เชียงเหนือ ภาคกลาง ภาคเหนือ และไม่พบในภาคใต้ของประเทศไทย
4. ผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดมักมีประวัติการรับประทานอาหารร่วมกับอาการทางคลินิก สำหรับอาการทางคลินิก ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีอาการบวม เคลื่อนที่ได้ นอกจากนี้อาจยังมีอาการอื่น ๆ ร่วมด้วย คือ อาการปวด ผิวนั่งเป็นสีแดง อาการคัน พบว่าจะเกิดอาการได้มากที่สุดที่ แขน รongลงมา คือ หน้า ศีรษะ และคอ ข้อมือ มือ หรือนิ้ว ขา ต้นขา หรือ หัวเข่า และลำตัวตามลำดับ ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเกิดอาการของโรคเฉลี่ย $6 - 7 \pm 2 - 3$ วัน จำนวนครั้งของการเกิดผื่นก่อนได้รับการรักษาเฉลี่ยคือ $3 - 4 \pm 3.2 - 4.0$ ครั้ง
5. จากการทดสอบน้ำเหลืองโดยวิธี ELISA เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีในน้ำเหลืองก่อนและหลังการรักษาของผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล และยาไอเวอร์เมกติน ให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน

6. ในการทดสอบ Western Blot ระดับแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa ที่พบในกลุ่มผู้ป่วยก่อนและหลังการรักษาด้วยยาอัลเบนดาโซล และ ยาไอเวอร์เมกติน พบว่ามีให้ผลการทดสอบแตกต่างกัน คือ ก่อนการรักษาให้ผลลบทุกรายหลังการรักษามีผู้ป่วยบางรายให้ผลลบ
7. ระยะเวลาในการตรวจพบระดับแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa ในการทดสอบ Western Blot ของผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล และในผู้ป่วยที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน จากการติดตามผลการรักษาถึง 1 ปี พบว่าผู้ป่วยหลายรายยังพบรูปแบบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa ได้ แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่ายาชนิดใดให้ผลลบได้เร็วกว่าเนื่องจาก ผู้ป่วยบางรายไม่มาติดตามผลการรักษาให้ครบ 1 ปี แต่มีแนวโน้มว่ายาไอเวอร์เมกตินมีแนวโน้มที่จะให้ผลลบกับการทดสอบได้เร็วกว่ายาอัลเบนดาโซลแต่จำนวนผู้ป่วยให้ผลลบน้อย
8. การทดสอบน้ำเหลืองโดยวิธี ELISA ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการติดตามผลการรักษาโรคพยาธิตัวจิ๊ดเนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาหลังการรักษาโดยดูจากค่าการดูดกลืนแสง
9. การทดสอบ Western Blot พบว่าโปรตีนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa มีความจำเพาะต่อผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด

อภิปรายผลการวิจัย

จากการวิจัยในครั้งนี้พบว่าโรคพยาธิตัวจิ๊ดมักพบในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย ทั้งนี้มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภค ขอบรับประทานอาหารสุกๆ ดิบ เช่น ปลาต้ม ปลาร้า กิจกรรมที่ทำในแต่ละวัน เช่น ทำกับข้าว แล้วมือสัมผัสกับสัตว์ที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางอาจทำให้พยาธิไชเข้าไปในร่างกายได้ เป็นต้น สวนอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยที่เป็นโรคพยาธิตัวจิ๊ดจากการทำวิจัยในครั้งนี้คือ $30 - 35 \pm 9.8$ ปี พบว่าเป็นช่วงอายุของวัยทำงาน ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Suntharasamai *et al.* (1992)⁽¹⁶⁾ พบว่าผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดมีอายุเฉลี่ย $32.8 - 33.2 \pm 8.1$ ปี พบมากในผู้ป่วยที่มีภูมิลำเนาอยู่ในกรุงเทพ ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้บางคนย้ายถิ่นฐานมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีพฤติกรรมการบริโภคอาหารสุกๆ ดิบๆ อยู่แล้วทำให้พบได้มากกว่าในภาคอื่นๆ รองลงมา คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยให้ผลใกล้เคียงกับ กรุงเทพ รองลงมาคือภาคกลาง

ภาคเหนือ และพบไม่พบในภาคใต้ของประเทศไทย เป็นที่น่าสังเกตว่าไม่พบในภาคใต้เลย อาจเกิดเนื่องจากวัฒนธรรม ศาสนา และพฤติกรรมการบริโภคเพราะประชากรส่วนใหญ่ในภาคใต้มักจะนับถือศาสนาอิสลามโดยจะไม่รับประทานเนื้อหมู ซึ่ง หมูเป็น Transport host ไม่นิยมรับประทานอาหารสุกๆ ดิบๆ เช่น พว๋า ลาบ ก้อย เป็นต้น ส่งผลให้ไม่พบการแพร่กระจายของโรคพยาธิตัวจืดในภาคใต้ของไทยซึ่งยังไม่มีผู้ทำการศึกษามาก่อนหน้านี้

สำหรับอาการทางคลินิกของผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจืดผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีอาการบวมเคลื่อนที่ได้ นอกจากนี้อาจยังมีอาการอื่น ๆ ร่วมด้วย คือ อาการปวด ผิวหนังเป็นสีแดง อาการคัน พบว่าจะเกิดอาการได้มากที่แขน พอกๆกับ หน้า ศีรษะ และคอ (27.59%) รองลงมา คือ ข้อมือ มือ หรือนิ้ว (20.69%) ขา ต้นขา หรือ หัวเข่า (17.24%) และลำตัว (6.90%) จากการศึกษาของ Suntharasamai *et al.* (1992)⁽¹⁶⁾ พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่จะเกิดอาการมากได้ที่ ข้อมือ มือ หรือนิ้ว (43.21%) รองลงมา คือ แขน (19.75%) หน้า ศีรษะ และคอ (17.28%) ขา ต้นขา หรือ หัวเข่า (7.41%) ลำตัว พอกๆกับ ข้อเท้า เท้า และนิ้วเท้า (6.17%) ตามลำดับ และจากการศึกษาของผู้ป่วยในเม็กซิโก โดย Camacho *et al.* (1998)⁽²²⁾ พบว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะเกิดอาการที่ ขา (30%) รองลงมา คือ แขนพอกๆกับที่ลำตัว (27%) และสุดท้าย คือ หน้า ศีรษะ และคอ (16%) จะสังเกตได้ว่าในคนไทยมักจะพบที่อวัยวะส่วนบนของร่างกายมากกว่าส่วนล่าง เช่น แขน หน้า มือ แต่ในเม็กซิโก จะพบมากที่อวัยวะส่วนล่าง เช่น ขา ลำตัว จากนั้นจึงจะพบที่ แขน และ หน้า แสดงถึงตำแหน่งที่เกิดอาการทางคลินิกแต่ละประเทศ อาจพบได้แตกต่างกัน

จากการวิจัยพบว่า ระดับแอนติบอดีโดยดูจากค่าการดูดกลืนแสงของผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล และไอเวอร์เมกติน โดยติดตามผลการรักษาเป็นระยะเวลา 1 ปี ให้ผลไม่แตกต่างกันในการทดสอบ ELISA ระหว่างยาทั้งสองชนิด ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของ Nontasut *et al.* (2000)⁽¹⁸⁾ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการรักษาโรคพยาธิตัวจืดระหว่าง ยาอัลเบนดาโซล และยาไอเวอร์เมกติน โดยใช้การทดสอบ ELISA และดูการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาวชนิด Eosinophil ติดตามผลการรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ระดับแอนติบอดี และ ค่า Eosinophil ของผู้ป่วยที่ได้รับยาทั้งสองชนิด จะลดลงหลังการรักษา ไม่แตกต่างกัน แต่ระดับแอนติบอดีของการวิจัยในครั้งนี้พบว่าไม่ลดลงทั้งก่อนและหลังการรักษาซึ่งเป็นจุดที่ต่างจาก รายงานของ Nontasut *et al.* (2000)⁽¹⁸⁾ เพราะระดับแอนติบอดีจะลดลงเรื่อยๆจนกระทั่ง 6 เดือน อาจเกิดเนื่องจากการสร้างแอนติบอดีของผู้ป่วยในการวิจัยในครั้งนี้มีการสร้างค่อนข้างสูงกว่าจึงส่งผลให้การทดสอบยังคงเป็นบวกอยู่จนกระทั่ง 1 ปี

ตรวจพบแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 24 kDa พบในยาทั้งสองชนิด ไม่แตกต่างกัน ในการทดสอบ Western Blot เนื่องจากพบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 24 kDa ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะกับผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด และจากการศึกษาของ Nopparatana *et al.* (1992)⁽³⁶⁾ พบว่าโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa เหมาะสมที่จะนำมาเป็นโปรตีนที่จำเพาะในการตรวจวัดโรคพยาธิตัวจิ๊ดและยังถูกนำมาผลิตเป็น monoclonal antibody ด้วย จากรายงานของ Chaichumpa *et al.* (1991)⁽³⁷⁾ และในปีเดียวกัน Tapchaisri *et al.* (1991)⁽³⁴⁾ ได้รายงานว่ามีโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa จะตรวจพบในผู้ป่วยทั้ง 4 ราย ที่ได้รับการยืนยันว่าเป็นโรคพยาธิตัวจิ๊ด ในการทดสอบ SDS – PAGE และ Western Blot

ระยะเวลาในการพบระดับแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 24 kDa ในการทดสอบ Western Blot ของผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล และในผู้ป่วยที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน จากการติดตามผลการรักษาถึง 1 ปี พบว่าผู้ป่วยหลายรายยังพบแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa ได้ แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่ายาชนิดใดให้ผลลบได้เร็วกว่า เนื่องจากการสูญหายของจำนวนผู้ป่วยขณะทำการวิจัย อาจเกิดจาก ผู้ป่วยไม่มาตามนัด ติดต่อกับผู้ป่วยไม่ได้ มีข้อจำกัดในเรื่องขนาดของประชากร (sample size) ทำให้ไม่สามารถสรุปผลได้แน่ชัด อาจสรุปได้ว่าการรักษาด้วยยาไอเวอร์เมกตินมีแนวโน้มที่จะให้ผลลบกับการทดสอบได้เร็วกว่ายาอัลเบนดาโซลแต่จำนวนผู้ป่วยให้ผลลบน้อย ส่วนการรักษาด้วยยาอัลเบนดาโซลน่าจะให้ผลลบช้ากว่ายาไอเวอร์เมกตินแต่จำนวนผู้ป่วยที่ให้ผลลบจะมีมาก

รายงานของ Dhramkrong-AT *et al.* (1986)⁽¹⁰⁾ ได้ศึกษาโดยใช้แอนติเจนจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ได้มาจากตับปลาไหล มาตรวจวัด IgG antibody ที่จำเพาะในน้ำเหลืองของผู้ป่วย intermittent cutaneous migratory swelling จำนวน 46 ราย ตรวจโดย ELISA พบว่า ได้รับผลบวก 100 % แต่ยังมีปฏิกิริยาตอบสนองเกี่ยวกับน้ำเหลืองของผู้ป่วย angiostrongyliasis และโรคพยาธิตัวกลมในลำไส้บางชนิด ในขณะที่ Suntharasamai *et al.* (1985)⁽⁹⁾ รายงานความไวในการทดสอบ ELISA เพียง 59 % แสดงถึง การทดสอบ ELISA ไม่เหมาะจะนำมาใช้ในการตรวจความจำเพาะของโรคพยาธิตัวจิ๊ด และจากรายงานของ Sugaroon *et al.* (2003)⁽³⁸⁾ พบว่าไม่แนะนำให้ใช้ crude somatic antigen ในการทำ ELISA ในงานประจำวันเนื่องจากจะเกิดปฏิกิริยาตอบสนองเกี่ยวกับพยาธิชนิดอื่นได้ ควรนำ antigen มาทำให้บริสุทธิ์ก่อนที่จะนำมาใช้ในงาน ELISA

Crude somatic antigen สามารถใช้ได้ดีในเทคนิค Western Blot แต่ถ้าต้องการให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นก็ควรนำไปทำการกรองหรือทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี gel filtration chromatofocussing หรือ anion exchang column ต่อไปจะทำให้ผลการทดสอบออกมาเป็นที่น่าพอใจมาก ในการทำวิจัยครั้งนี้ใช้ Crude somatic antigen ก็เพียงพอเพราะการเตรียมแอนติเจนง่าย สะดวก อุปกรณ์ไม่ยุ่งยาก ประหยัดเวลา และผลการทดสอบออกมาเป็นที่น่าพอใจในระดับหนึ่ง ผลอ่านง่าย ชัดเจน สามารถติดตามผลการรักษาได้ถึง 1 ปีและจากรายงานของ Saksirisampant *et al.* (2001)⁽³⁹⁾ เปรียบเทียบ somatic antigen กับ excretory – secretory antigen ในการตรวจหา IgE antibody ของผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจืด พบว่า แอนติเจนทั้งสองชนิดให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ระหว่างการติดตามผลการรักษามีผู้ป่วย 1 ราย เพศชาย อายุ 23 ปีมีอาการบวมที่เท้าขวา ได้รับการรักษาด้วยยาอัลเบนดาโซล พบตัวพยาธิและได้นำตัวพยาธิออกมาแต่ผลการทดสอบ ELISA และ Western Blot หลังจากนำตัวพยาธิออกมายังคงให้ผลบวกกับการทดสอบอยู่จนกระทั่ง 1 ปี ซึ่งให้ผลแตกต่างจากรายงาน Case Report ของ Morakote *et al.* (1991)⁽⁴⁰⁾ พบว่า ผู้ป่วยเป็นเด็กชายอายุ 8 ปี มีอาการบวมที่เท้าขวา ทำการเจาะเลือดตรวจหลังมีอาการ 5 วัน หลังได้รับการรักษาพบพยาธิไซธออกมาที่ผิวหนัง ทำการเจาะเลือดอีกครั้งประมาณ 1 ปีหลังจากนำพยาธิออกมา จากนั้นนำมาทำการทดสอบโดย ELISA พบว่าก่อนการรักษา ELISA ให้ผลบวกแต่หลังจากนำพยาธิออกมาจากร่างกาย ELISA ให้ผลการทดสอบเป็นลบ พบว่าผู้ป่วยทั้งสองรายเกิดอาการที่ตำแหน่งเดียวกัน เป็นเพศชายเหมือนกัน สิ่งที่แตกต่างกันคือ อายุ ระยะเวลาในการทดสอบ และการทดสอบความจำเพาะของพยาธิตัวจืดที่ 24 kDa (Western Blot) แสดงถึงปริมาณและความเข้มข้นของแอนติบอดีของผู้ใหญ่จะสร้างได้มากกว่าเด็กและอยู่ในกระแสเลือดได้นานกว่า โดยมีความน่าเชื่อถือจากการทดสอบความจำเพาะของพยาธิตัวจืดที่ 24 kDa (Western Blot) ก็ยังคงให้ผลบวกจนกระทั่ง 1 ปี

ในระหว่างการรักษาผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน 1 รายให้ผลการทดสอบ Western Blot เป็นลบก่อนทำการรักษา แล้วหลังการรักษามีการตรวจ Western Blot ปรากฏว่าตัวอย่างน้ำเหลืองของผู้ป่วยเริ่มให้ผลบวก 14 วันจนถึง 60 วันหลังการรักษา แม้ว่าจะให้ผลการทดสอบเป็นลบในครั้งแรก ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากแอนติบอดีของตัวผู้ป่วยอาจจะสร้างน้อย จึงไม่สามารถตรวจพบ แต่หลังการรักษาสามารถตรวจพบได้ แสดงให้เห็นถึง การทดสอบ Western Blot

น่าจะนำมาใช้ในการติดตามผลการรักษาเพื่อช่วยประกอบกับประวัติและอาการทางคลินิกในการวินิจฉัยโรคพยาธิตัวจิ๊ด

การวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีโดยวิธี ELISA และทำการหาสถานะของความเข้มข้นของ protein antigen น้ำเหลือง และ conjugate ที่เหมาะสมในการทดสอบ (Checkerboard titration) ซึ่งจะให้ผลดีคือ สามารถแยกปฏิกิริยาผลบวก ออกจากผลลบชัดเจน และศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa โดยวิธี Western Blot ในผู้ป่วยก่อนและหลังการรักษาโรคพยาธิตัวจิ๊ดในผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซลและไอเวอร์เมกติน โดยติดตามผลการรักษาผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่า ยังไม่มีผู้ทำการศึกษานี้ เนื่องจากจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการช่วยการวินิจฉัยโรคและติดตามผลการรักษาได้ เพราะอาการของผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดจะมีอาการเป็นๆ หายๆ จึงต้องอาศัยการตรวจวินิจฉัยควบคู่ไปด้วย

ข้อเสนอแนะ

มีรายงานเกี่ยวกับการทดสอบ ELISA และ Western Blot มากมาย เราควรเลือกใช้การทดสอบที่เหมาะสมกับการใช้งาน และการเลือก antigen ที่เหมาะสมในการทำการทดสอบ ในการทำวิจัยในครั้งนี้เลือกใช้ Crude somatic antigen อาจได้ผลดีในการทดสอบ Western Blot แต่อาจจะไม่เหมาะสมในการทดสอบ ELISA เนื่องจากขาดความจำเพาะในการทดสอบ ทั้งนี้ในการเลือกใช้ antigen ขึ้นอยู่กับลักษณะของงานเป็นหลัก

สำหรับยาที่เลือกใช้ในการรักษาโรคพยาธิตัวจิ๊ด สามารถใช้ยาได้ทั้งสองชนิด เพราะผลที่ได้จากการทดสอบข้างต้น ไม่แตกต่างกันมากนัก ผลข้างเคียงก็เช่นกัน ใกล้เคียงและคล้ายคลึงกัน ยาแต่ละชนิดก็มีข้อดี ข้อเสียแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน