

นิพนธ์ต้นฉบับ

# การตรวจวินิจฉัยโรคไทฟอยด์โดยใช้เลือดจากปลายนิ้ว \*

วรรณา พรรณรักษา \*\*  
สมหญิง ฐัมวาสร \*\*

**Punnarugsa V. tumwasorn S. Determination of Salmonella typhi "O" antibody from finger tip blood sample. Chula Med J 1982 Jan ; 26 (1) :**

*The study of Salmonella typhi "O" antibody by collecting finger tip blood samples in nonheparinized capillary tube was conducted. Serum in the capillary tube at the length of 1.2 cm. was mixed well for 3 minutes with one drop of locally perpared Salmonella typhi "O" antigen, If the agglutination occurred, the result was regarded as positive when studied with 243 sera of non-typhoid patients, 242 sera (99.59 %) had negative results, and with 20 sera of typhoid patients, all were positive. The discrimination between non-typhoid and typhoid sera could be made from this new method which is less time consuming and very economical.*

ในการศึกษาระดับไทเทรตของแอนติบอดีต่อ Salmonella typhi "O" เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคไทฟอยด์โดยวิธีสไลด์ตามวิธีการของ Bennett<sup>4</sup> และใช้แอนติเจนที่ผลิตขึ้นเอง<sup>1,2</sup>

พบว่าระดับไทเทรต 1 : 320 หรือสูงกว่าจะบ่งชี้ถึงการเป็นโรคไทฟอยด์ การตรวจวินิจฉัยเพื่อให้ได้ระดับไทเทรตนี้ใช้น้ำเหลืองจำนวน 0.005 มล. ให้ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนจำนวน

\* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
\*\* ได้รับทุนอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากไซน่า เมดิคัลบอร์ดี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาฯ

1 หยดบนแผ่นกระดาษใส ผสมให้เข้ากันดีแล้ว เอียงสไลด์ไปมานานาน 3 นาทีจึงอ่านผล โดยตรวจดูปฏิกิริยาแอกกูตินเนชันที่เกิดขึ้น การใช้ น้ำเหลืองจำนวนน้อยๆ เช่นนี้ น่าจะไม่ต้อง เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ แต่ควรเจาะ เจาะเลือดจากปลายนิ้วและเก็บด้วย capillary tube ซึ่งจะเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกกว่า

ผู้รายงานมีวัตถุประสงค์จะศึกษาการ ตรวจวินิจฉัยแอนติบอดีขึ้น โดยเจาะเลือดจาก ปลายนิ้วและเก็บโดย capillary tube ในผู้ซึ่ง มีและไม่มีอาการของโรคไทฟอยด์ และเปรียบเทียบ การตรวจโดยวิธีการนี้กับวิธีหลอดแก้ว มาตรฐาน

## วัสดุและวิธีการ

### วัสดุ

ผู้ป่วยและน้ำเหลือง แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. ผู้ป่วยที่ไม่มีอาการของโรคไทฟอยด์ เป็นผู้ป่วยเด็กที่มารับการตรวจที่ตึกผู้ป่วยนอก และผู้ป่วยภายในของแผนกเด็กจำนวน 125 ราย และผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่มารับ การตรวจที่แผนกผู้ป่วยนอก จำนวน 118 ราย รวมเป็น 243 ราย

2. น้ำเหลืองของผู้ป่วยทุกอายุที่ส่งมา ภาควิชาจุลชีววิทยาเพื่อตรวจหาแอนติบอดีขึ้น โดยวิธีหลอดแก้วมาตรฐานจำนวน 181 ราย

ซึ่งในการแปรผลนั้น ถ้าได้ไตเตอร์น้อยกว่า 1 : 40 ถือว่าผลลบ และถ้าไตเตอร์เท่ากับหรือ มากกว่า 1 : 16 ถือว่าผลบวก

### แอนติเจน

เป็น Salm. typhi "O" antigen ที่ผลิต ขึ้นเอง ทำจากใช้เชื้อ Salm. typhi (9,12 d), Vi negative เป็น antigen ใช้สำหรับตรวจโดย วิธีสไลด์<sup>8</sup> บรรจุอยู่ในขวดขนาด 5-10 มล. และมีหลอดหยด 1 มล. ของแอนติเจนจะหยด ได้ประมาณ 30 หยด หรือ 1 หยดจะมีปริมาตร 0.033 มล.

### Capillary tube

ใช้ชนิด nonheparinized ซึ่งมีเส้นผ่า- ศูนย์กลางภายใน ประมาณ 1.1 มม. ถึง 1.2 มม. ผลิตจำหน่ายโดยบริษัท DADE

ลูกยางขนาดเล็กที่สวมพอดีกับหลอด capillary tube ใช้สำหรับบีบน้ำเหลืองจาก capillary tube

แผ่นกระดาษใส ชนิดธรรมดาหนา 0.3 ซม. ขนาด 10 × 10 ซม. หรือเล็กกว่านั้น

ปากกาเขียนกระดาษ สำหรับใช้เขียน แผ่นกระดาษให้เป็นช่อง ให้มีเนื้อที่ประมาณ 3 ซม. × 3 ซม. เพื่อกำหนดบริเวณของหยด ที่ทดลอง

ใบมีดเล็กๆ ที่ใช้ตัดหลอดยาลึบ  
ไม้จิ้มฟัน

## วิธีการ

1. ใช้ capillary tube เก็บเลือดจากปลายนิ้วผู้ป่วย นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นที่ใช้ตรวจฮีมาโตคริต ซึ่งมีความเร็วประมาณ 11,500 rpm นาน 5 นาที เม็ดเลือดจะตกอยู่ที่ก้น tube และนำเหลืงอยู่ส่วนบน

2. วัตน้ำเหลืงโดยวัดจากระดับบนสุดของหลอดให้มีความยาว 1.2 ซม. ตัดน้ำเหลืงส่วนนี้ออกมาโดยใช้ใบมีดที่ใช้หลอดยาฉีด บีบน้ำเหลืงทั้งหมดในหลอดส่วนนี้ให้ลงมายู่บนแผ่นกระจกใส

3. หยดแอนติเจนลงไป 1 หยด ผสมให้เข้ากันดีโดยใช้ไม้จิ้มฟัน แล้วเอียงแผ่นกระจกไปมานานาน 3 นาที

4. ในการทดสอบทุกครั้งจะมีคอนโทรลแอนติเจน โดยใช้ น้ำเกลือ 0.85 % จำนวน 1 หยด แทนน้ำเหลืง ผสมกับแอนติเจน 1 หยด ทำการทดสอบพร้อมกัน

## การอ่านผล

ในกรณีที่น้ำเหลืงให้ผลบวก จะมีตะกอนกึกขึ้นชัดเจน ตะกอนจะลอยอยู่ในน้ำ

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษาผู้ป่วยที่ไม่มีอาการของโรคไทฟอยด์

ใส ในกรณีที่ให้ผลลบแอนติเจนจะยังคงขุ่นขาวเหมือนน้ำนมดั่งเดิม

การทดสอบน้ำเหลืงในกลุ่ม 2 ซึ่งเป็นน้ำเหลืงที่ส่งมาตรวจหาแอนติบอดีโดยวิธีมาตรฐาน เพื่อป้องกันไม่ให้มีอคติ จะทำการทดสอบโดยวิธีใหม่นี้ และได้ผลก่อนจะทราบผลของการตรวจโดยวิธีมาตรฐานและทดสอบโดยบุคคลากรคนละกลุ่ม การทดสอบให้ใช้ capillary tube เก็บน้ำเหลืงที่ส่งมาตรวจได้เลย

การทดสอบในผู้ป่วย (กลุ่ม 3) จะทำการตรวจโดยวิธีใหม่นี้ทันทีที่ผู้ป่วยเข้ารับการรักษา แล้วจะติดตามรวบรวมผลการตรวจโดยวิธีมาตรฐาน และผลการเพาะเชื้อต่อไป

## ผลของการศึกษา

1. ผู้ป่วยที่ไม่มีอาการของโรคไทฟอยด์เป็นผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่จำนวน 243 คนตรวจได้ผลลบ 242 คน หรือเท่ากับ 99.59 % ผลบวก 1 คน หรือ 0.41 % ดังตารางที่ 1

ผู้ป่วย	จำนวน	ตรวจโดยวิธีสไลด์แบบใหม่	
		ผลลบ	ผลบวก
เด็ก	125	124 (99.2 %)	1 (0.8 %)
ผู้ใหญ่	118	118 (100 %)	0
รวม	243	242 (99.59 %)	1 (0.41 %)

2. น้ำเหลืองของผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ ที่ส่งมาตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคไทฟอยด์ โดยวิธีหลอดแก้วมาตรฐาน จำนวน 181 ราย ผลการตรวจได้แจกแจงตามระดับไทเตอร์ที่ได้ จากวิธีหลอดแก้วมาตรฐานเป็นกลุ่มลบ กลุ่มบวก และกลุ่มคาบเส้น ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** แสดงผลการศึกษาน้ำเหลืองของเด็กและผู้ใหญ่ที่มีอาการของโรค เปรียบเทียบผลของวิธีการใหม่กับวิธีหลอดแก้วมาตรฐาน

กลุ่มน้ำเหลือง	ไทเตอร์โดยวิธีมาตรฐาน	จำนวน	ตรวจโดยวิธีสไลด์แบบใหม่	
			ผลลบ	ผลบวก
กลุ่มลบ	ผลลบหรือต่ำกว่า 1 : 80	140	138* (98.5 %)	2 (1.5 %)
กลุ่มคาบเส้น	1 : 80	21	12 (57.1 %)	9 (42.9 %)
กลุ่มบวก	ไทเตอร์สูงกว่า 1:80 ขึ้นไป	20	0	20 (100 %)*

\*  $\chi^2$  test  $p < 0.05$

น้ำเหลืองในความยาวของ capillary tube 1.2 ซม. ที่ให้ผลบวก บางรายได้ตรวจ โดยวิธีเดิม ได้ผลดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** แสดงผลบวกของการตรวจน้ำเหลืองจาก capillary tube ที่มีความยาว 1.2 ซม. และ 0.6 ซม.

ไทเตอร์โดยวิธีมาตรฐาน	อัตราผลบวกของน้ำเหลืองในหลอดยาว 1.2 ซม.*	อัตราผลบวกของน้ำเหลืองในหลอดยาว 0.6 ซม.*
1 : 80	7/7	2/5
1 : 160	3/3	1/2
1 : 320	6/6	3/3
1 : 1280	5/5	5/5

\* เป็นจำนวนที่ให้ผลบวกต่อจำนวนที่นำมาทดสอบ

## วิจารณ์

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Salmonella typhi* โดยเจาะเลือดจากปลายนิ้ว เก็บเลือดโดย capillary tube ใช้ น้ำเหลืองจำนวนน้อยใน capillary tube ทดสอบเช่นนี้ยังไม่มีผู้ใดเคยทำและรายงานมาก่อน

การตรวจโดยวิธีนี้ให้ผลบวกในน้ำเหลืองกลุ่มบวกทุกราย และให้ผลลบในน้ำเหลืองกลุ่มลบ 98.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) ข้อมูลเหล่านี้ได้ทดสอบทางสถิติโดยใช้  $X^2$  test มีนัยสำคัญทางสถิติคือค่า  $P < 0.05$  และเมื่อทำการศึกษาเบื้องต้นในผู้ป่วยภายในที่มีอาการและตรวจพบว่าเป็นโรคไทฟอยด์ก็สนับสนุนผลการศึกษานี้ ซึ่งจะได้รายงานต่อไป

Sensitivity ของวิธีนี้สูงมากให้ผลบวกทุกราย (20 ราย) ที่เป็นน้ำเหลืองบวกโดยวิธีมาตรฐาน (มีไทเตอร์  $\geq 1 : 160$ ) ส่วน Specificity นั้น วิธีใหม่นี้ให้ผลบวกปลอมร้อยละ 1.5 (2/140 ราย) ในน้ำเหลืองกลุ่มลบโดยวิธีมาตรฐาน (ไทเตอร์  $\leq 1 : 40$ ) และได้ผลบวกปลอมร้อยละ 0.4 (1/243 ราย) ในกลุ่มที่ไม่มีอาการของโรค เฉลี่ยแล้วมีผลบวกปลอมประมาณ 0.8 เปอร์เซ็นต์ (3/383 ราย)

และจากการสังเกตพบว่า ถ้า agglutination เกิดในเวลาอันรวดเร็ว เช่นใน 1 นาที น้ำเหลืองนั้นจะมีระดับ Widal agglutination ไทเตอร์สูง เช่น 1 : 320 หรือสูงกว่านั้น และน้ำเหลืองเหล่านี้ ถ้านำมาตรวจโดยใช้ น้ำเหลือง 0.6 ซม. ของ capillary tube ก็จะต้องให้ผลบวก

จำนวนของน้ำเหลืองใน capillary tube ควรจะเป็นตามที่กำหนดและต้องไล่น้ำเหลืองในหลอด capillary ออกได้มากที่สุด อย่าให้น้ำเหลืองค้างในหลอด ในกรณีที่ไม่มีลูกยางขนาดเล็กเพื่อใช้บีบไล่น้ำเหลือง ก็อาจจะใช้วิธีเจาะ capillary tube ที่มีน้ำเหลืองตามกำหนดบนแผ่นสไลด์ ให้น้ำเหลืองทั้งหมดมาอยู่บนแผ่นสไลด์ แล้วดำเนินการทดลองต่อไป

การตรวจวินิจฉัยโดยวิธีนี้ นับว่าเป็นวิธีการที่ใหม่และเชื่อถือได้ และยังมีข้อดีหลายอย่าง เช่น ไม่ต้องเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ ทำให้ผู้ป่วยไม่ต้องเสียเลือดมากและเจ็บตัวน้อย สามารถทำการตรวจพร้อมกับทำการนับเม็ดเลือด รู้ผลได้ทันที วิธีการง่ายและสะดวก เครื่องมือที่ใช้ก็หาได้ไม่ยาก แอนติเจนอาจจะเตรียมได้เอง หรือหาจากแหล่งภายในประเทศ

## เอกสารอ้างอิง

1. วรรณมา พรรณรักษา, สดใส เวชชาชีวะ, ดิลก เข็นบุตร. การศึกษาเบื้องต้นในการหา Salmonella typhi "O" antibody โดยวิธี Slide agglutination test. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2521 ตุลาคม ; 22 (4) : 261
2. วรรณมา พรรณรักษา, สดใส เวชชาชีวะ, ดิลก เข็นบุตร. การตรวจวินิจฉัยสาลโมเนลลา ทัยฟี่โดยใช้แอนติเจนผลิตเอง สารศิริราช 2522 มีนาคม ; 81 (8) : 871
3. วรรณมา พรรณรักษา, สมหญิง ชัมวารส, การศึกษาระดับไดเตอร์ของสาลโมเนลลา ทัยฟี่ "โอ" แอนติบอดี โดยวิธีสไลด์ สารศิริราช 2524 กุมภาพันธ์ ; 83 (2) : 109-114
4. Bennett WC. Clinical Serology. Springfield, Illinois : Charles C. Thomas, 1974.
5. Cruickshank R. Medical Microbiology. Edinburg : The English Language Book Society, 1968.