Chulalongkorn Medical Journal

Volume 30
Issue 10 *October 1986*

Article 9

10-1-1986

Technique for laboratory diagnosis of infectious disease (Recent progress)

N. Dhamabutra

P. Suwanakul

A. Chongthaleong

S. La-or-patanakul

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal

Part of the Medicine and Health Sciences Commons

Recommended Citation

Dhamabutra, N.; Suwanakul, P.; Chongthaleong, A.; and La-or-patanakul, S. (1986) "Technique for laboratory diagnosis of infectious disease (Recent progress)," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 30: Iss. 10, Article 9.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol30/iss10/9

This Review Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

บทฟื้นฟูวิชาการ

เทคนิคการวินิจฉัยโรคติดเชื้อทางห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน

นราทร ธรรมบุตร* พรรณพิศ สุวรรณกูล**
อนันต์ จงเถลิง* สมพร ละออพัฒนกุล**

Dhamabutra N, Suwankul P, Chongthaleong A, La-or-patanakul S. Technique for laboratory diagnosis of infectious disease (Recent progress). Chula Med J 1986 Oct; 30 (10) : 1023-1036

Due to recent advances the laboratory diagnoses of infectious diseases from specific clinical samples has become more significant. Some organisms can be cultured from the blood and other clinical specimens while others may be identified microscopically. The ability to detect microbial products by the physicochemical, bioactivity, and antigenic techniques, and specific immunoglobulin M responses to infection have improved our diagnosis but also presented new problems.

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

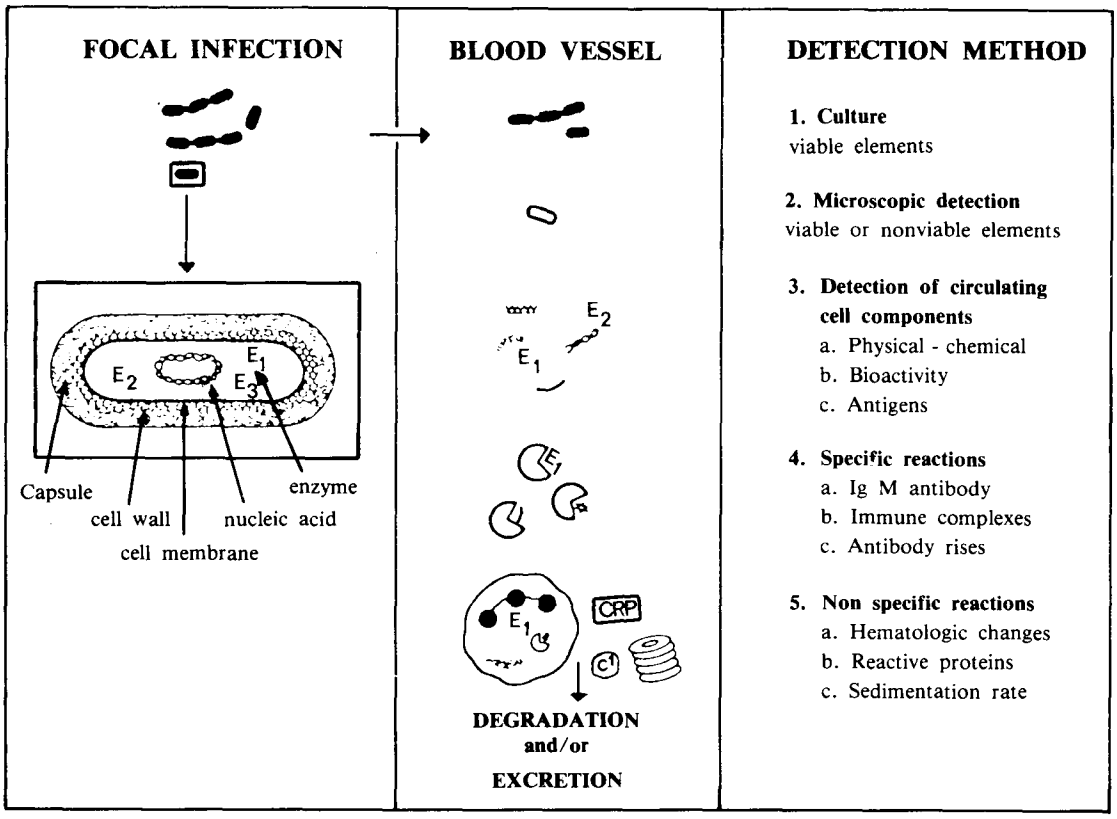
** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในสมัย Hippocrate นั้น การวินิจฉัยโรคติดเชื้อใช้เลือดจากผู้ป่วย (hematodiagnosis) เป็นเกณฑ์ 4 ประการคือ ตรวจ;

- Blood (red blood cells).
- Phlegm (the buffy coat).
- Yellow bile (bilirubin).
- Black bile (hemolyzed red blood cells).

ในปัจจุบัน แพทย์ทราบถึงกลวิธานของ Germ theory และกลไกที่ร่างกายป้องกันบัคเตรีก่อโรคติดเชื้อโดยละเอียด ประกอบกับเห็นความสำคัญในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อให้แม่นยำและถูกต้อง มิได้ใช้เพียง clinical features เป็นหลักสำคัญ การใช้ clinical specimens จากผู้ป่วยที่เก็บมาอย่างถูกวิธีการ ช่วยส่งเสริม (confirmed) การวินิจฉัยโรคในตอนแรกให้ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น Clinical specimens ที่ดี จึงถือว่าเป็น "indicator" ชี้บ่ง present inflammatory process ได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ดี ใน post inflammatory process หรือ post therapeutic process นั้น การแยกวิเคราะห์หาตัวปาโธเจนส์ มักได้ผลน้อย ยิ่งในประเทศกำลังพัฒนาการอย่างประเทศไทย ที่ประชากรสามารถซื้อและเลือกยาต้านจุลินทรีย์ได้โดยอิสระ ตามคำแนะนำของผู้ขายที่มีความรู้ในเรื่องปฏิชีวนะน้อยมาก ฉะนั้น ในกรณี post inflammatory process นั้น clinical specimens จึงใช้วิธีการทาง immunological means ต่าง ๆ ที่ทันสมัยเข้าช่วยเพื่อเป็น laboratory diagnosis ที่สมบูรณ์แบบต่อไป ในบรรดา clinical specimens ทั้งหลายที่แพทย์ส่งมาเพื่อตรวจหาปาโธเจนส์ ก่อโรคติดต่อเชื้อนั้น เลือดของผู้ป่วยนับว่าเหมาะสมอย่างยิ่งในการตรวจค้นหาต้นเหตุของโรคติดเชื้อ (blood as a diagnosis source)

Figure 1 Showing the strategies of Laboratory diagnosis for infectious diaeases from the blood specimens[66]



จากภาพที่ 1 แสดงให้เห็นโอกาสที่วิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการต่าง ๆ ซึ่งใช้เลือดผู้ป่วยเป็นดรรชนี "ชี้บ่ง จำเพาะทางอ้อม หรือชี้บ่ง microbial activity เพื่อประโยชน์ทาง laboratory, diagnosis

(1) Culture (Definite Lab. diagnosis techniques) การแยกเพาะเลี้ยง วิเคราะห์จาก blood specimens ถ้าได้ตัวปาโธเจนส์ที่แท้จริงนั้น นับได้ว่า การทำ bacterial culture นี้ เป็นการวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการที่เชื่อถือได้มาก

(2) Definite direct detection by microscopy ในบางกรณี บัคเตรีก่อโรคหลายสายพันธุ์เพาะเลี้ยงให้ขึ้นได้ยาก บางชนิด grow ช้าไม่สามารถตอบสนองแพทย์ผู้รับผิดชอบในการรักษาได้เร็ว และปาโธเจนส์บางชนิดไม่เข้าหลอดเลือด หรือเข้าหลอดเลือด ก็เป็นแบบ non viable form อย่างเช่นในกรณีที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลินทรีย์มาบ้าง

การใช้กล้องจุลทรรศน์ จึงจะมีประโยชน์ เช่น โรคไข้มาลาเรีย เป็นต้น การพบเห็น *Plasmodium* species จาก stained blood smears ถือว่าเป็น definite laboratory diagnosis เช่นกัน แม้ว่าจะไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อ malaria ได้ก็ตาม ส่วนในกรณีที่ต้องการทราบว่าเชื้อมาลาเรียที่พบเป็น chloroquine-resistance หรือไม่นั้น ต้องอาศัยประวัติของผู้ป่วยว่ามาจาก endemic area ที่มี *Plasmodium* species ชนิดใดมาก หรือดูจากผลการตอบสนองเมื่อผู้ป่วยรับการรักษา[1] เช่นเดียวกับการใช้ย้อมสี Wright-Giemsa เพื่อตรวจทางจุลทรรศน์ว่ามีสไปโรฮีทส์พันธ์ *Borrelia* หรือไม่?[2] การใช้วิธี spore selection method ช่วยบังคับให้แอนแอโรบิค คล็อสตริเดีย สำคัญที่ก่อโรคสร้างสปอร์อย่างรีบด่วน อาศัยการย้อมสีแกรมและกล้องจุลทรรศน์ทำให้เห็นลักษณะสปอร์ของ *Cl.tetani, Cl.difficle,* โดยไม่ต้องอาศัยเลือดเป็น specific indicator ก็เป็นได้[2 ก, 2 ข]

(3) Detection of circulating cell components (non definite time consuming technique)

ความจริงแล้ว sensitivity ของ bacterial culture technique คือสามารถ detect-viable organisms จากเลือด (hemoculture) ขนาดประมาณ 1 ตัวหรือน้อยกว่า 1 ตัว/มล. ซึ่งอุบัติการณ์นี้ (orders of magnitude) ย่อมเป็นเท็คนิคดีกว่า microscopic technique เพราะการใช้ microscopic technique จะต้องมีบัคเตรีใน clinical specimen มากกว่า 10^5 ตัว/มล. ฉะนั้น การทำ buffy coats preparations และตามด้วย direct stains เพื่อดู pathogens โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์[3] จึงมีประโยชน์และก่อเกิดข้อผิดพลาด คือ

(3.1) False negative patterns ได้ง่ายจากคนไข้ที่อยู่ในสภาวะ bacteremia

(3.2) False positive smear characteristics ทั้ง ๆ ที่ผล hemoculture negative[4] (เจาะเลือดก่อนให้ปฏิชีวนะก็ตาม หรือ มี true bacteremia น้อยกว่าร้อยละ 10) หรือแม้แต่จะใช้วิธีย้อมสีที่ดีที่ sensitive มาก เช่น acridine orange ก็ตาม[5]

ด้วยเหตุผลดังกล่าว การทำ buffy coat preparation จึงมีวงแคบสำหรับผู้ป่วยโรคติดเชื้อที่มีสภาวะเสพติศีเมีย และมี ปาโธเจนส์ในหลอดเลือกมาก* เท่านั้น[6]

การทำ direct buffy coat smear ยังเหมาะสมสำหรับปาโธเจนส์ที่เพาะเลี้ยงยาก เช่น จุลินทรีย์ *Borrelia* หรือ *Heamobartonella* กับเหมาะสำหรับ specific blood parasites บางชนิด[7]

---

* high concentrations of circulating bacteremia.

ในบางครั้งเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่บ่งลักษณะ sepsis ที่ได้รับยาต้านจุลินทรีย์มาบ้างแต่ไม่ทราบว่าเป็นอะไร?

(4) Non accurately predict the cause of infectious-disease.

การย้อม Wright-Giemsa-blood smear ปกติ มีจุดมุ่งหมายเพื่อดูการกระจายของเม็ดเลือดขาวโดยกล้องจุลทรรศน์ และเป็นดรรชนี ให้ทราบถึง types ของ inflammation การดูเห็นปาโธเจนส์จาก blood film ดังกล่าวเป็น accidental-ไม่สามารถบอกถึง specific etiology ของโรคติดเชื้อได้แน่นอน[8,11]

(5) Successful-technique ในการแยก bacterial disease จาก non bacterial disease[12,13]

ตั้งแต่ต้นปี ค.ศ. 1970 มา Clinical laboratory หลายแห่งพยายามนำ nitroblue tetrazolium test มาใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยถือหลักที่ว่า stimulated phagocytis สามารถดูดซึมและเปลี่ยน (convert) สี nitroblue tetrazolium เป็นสี blue-black cytoplasmic precipitate อย่างไรก็ดี มีผู้ทดสอบและชี้ให้เห็นว่าเท็สนี้มี false positive และ false negative มาก[14,15]

ในปัจจุบัน tests นี้เสื่อมความนิยมไป

(6) Non specific reactive indicators

การทำ serum tests เพื่อหาปริมาณ endogenous human protein เป็นวิธีการที่เก็บข้อมูลหลายอย่างของ serum protein เพื่อพิจารณาช่วยหาปฐมเหตุของโรคติดเชื้อนั้น serum tests นี้ คือ

(6.1) Sedimentation rate ซึ่งมีจุดมุ่งหมายในการดู blood letting และเป็นทฤษฎี body human theories ซึ่ง sedimentation rate นี้มีผลไม่แน่นอนเป็น multiple alterations ในเม็ดเลือดแดง และขึ้นอยู่กับ endogenous serum protein concentration[16] (ตารางที่ 1)

Table 1 Comparison between screening test and nonspecific test*

	Normal range	**Indications**	**Interpretation**	**Physiology**
Erythrocytes sedimentation rate (E S R). Screening test.	*Child* 0-20 mm/hr. *Adult* male 0-10 mm/hr. female 0.20 mm/hr. *Elderly* 0-30 mm/hr.	Hidden infection. Neoplasm.	Very *high value* Collagen disease (myeloma, polymyositis) *High value* Pregnancy, TB, Hodgkin's disease.	*Wintrobe* fall of level of cells against plasma vertically for 1 hr.
C-reactive protein (serum). Non specific test.	Absent	Inflammation	*Present*-Inflammation, tissue injury, rheumatoid arthritis infections, infarction, malignancy.	tissue inflammation, damage, necrosis, tissue under stress.

* Warwick J.C. Pathaid. Bangkok : An I M S-Publication, 1982, p. 9.

(6.2) C-reactive protein[17] เป็นการวัดเฉพาะ specific serum protein reactions ซึ่งมักจะมี combination กับ proteins อื่น ๆ และเปลี่ยนแปลงตาม infections[18]

วิธีนี้มีผู้ทดสอบและพบว่ามี false positive และ false negative มาก หาค่าที่แท้จริงไม่ได้[19]

การที่ร่างกาย respone ต่อ infection เป็นแบบอย่างที่จำเพาะส่วนหนึ่ง และไม่จำเพาะอีกส่วนหนึ่ง การทดสอบจาก serum tests เป็นวิธีการเพียงเพื่อช่วยหา specific diagnostic strategies มิใช่เป็น specific tests หาเหตุของโรคแท้จริง (ตารางที่ 1)

(7) Physicochemical, biologic หรือ immunologic means

ได้เรียบเรียงมาตั้งแต่ต้นแล้วว่า วิธีการที่จะวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการให้ถูกต้องก็โดยการหา specific pathogens ให้ได้จาก clinical specimens (ภาพที่ 1a) ในกรณีที่แยกวิเคราะห์หาปาโธเจนส์ไม่พบ จำเป็นที่จะต้องหาวิธีการอื่น ๆ เพื่อ detect หา specific microbial components ที่บ่งชี้จำเพาะถึงสมุฏฐานของโรคติดเชื้อให้ได้ วิธีการเหล่านี้ คือ

(7.1) วิธีการ physicochemical detection method **คือใช้เครื่องมือ Gas-liquid-chromatography หรือ mass spectroscopy**[20-24]

เมื่อเกิดสภาวะ bacteremia และเสฟติศีเมีย ปาโธเจนส์ในหลอดเลือดจะผลิต bacterial unique metabolites ซึ่งสารเหล่านี้ไม่เป็น antigens การใช้เครื่องมือดังกล่าวจะช่วยหา specific substance (metabolites) จากตัวปาโธเจนส์ได้ เป็นต้นว่าการหา คาร์โบไฮเดรต mannose[20,21] หรือ arabinitol[24] ที่เป็น metabolites ของ Candida infections หรือการหาปริมาณก๊าซ หรือกรดหลาย ๆ ชนิดที่มีในหนองเป็น chromatographic patterns ซึ่งนำไปเทียบกับ stardard curve และอาศัย computerized interpretation **ช่วยหา specific cause** ของอินเฟ็กชั่นส์ก็ได้เช่นกัน แม้ว่าจะเป็นการสิ้นเปลืองแต่ก็ได้ผลเร็วขึ้น[22,23]

(7.2) Biological detection method

ในกรณีที่มีสภาวะ sepsis ในหลอดเลือดผู้ป่วยจะมี enzymes ที่ปาโธเจนส์ขับออกมาอยู่ระยะหนึ่งของโรคติดเชื้อนั้น ถ้าสามารถ detect เอ็นซัยม์ดังกล่าวได้ โดยใช้เครื่องมือและค่าใช้จ่ายไม่แพงนัก* หรือถ้าไม่สามารถหาเอ็นซัยม์นั้นได้โดยตรง แต่ทราบ "substrate" ที่เอ็นซัยม์จำเพาะนั้น "attack" วิทยาศาสตร์แพทย์ปัจจุบันสามารถหาค่า remainder substrate ที่ถูก "ย่อย" โดย "specific enzyme" นั้น ตัวอย่างเช่น เอ็นซัยม์ beta lactamase ทำลายเพ็นนิคิลลิน (substrate) ใน clinical specimens ทำให้สามารถวินิจฉัยโรคติดเชื้อบางกลุ่มทางห้องปฏิบัติการได้ วิธีการนี้น่าจะเป็นไปได้ทางหนึ่งในอนาคต[25-27] แม้ว่า จะมีอุปสรรคหลาย ๆ อย่าง หรือ การวัด circulating endotoxin ในหลอดเลือดโดยวิธี Limulus lysate method พบว่าสามารถ detect endotoxin ได้สูงในหลอดเลือดผู้ป่วยโรคติดเชื้อที่เจ็บหนัก แต่ endotoxin นั้นไม่สามารถบอกได้จำเพาะว่ามาจากปาโธเจนส์สายพันธุ์**ใด[28,29]

(7.3) Pathogens' recombinant nucleic acid detection method.

เมื่อมีโรคติดเชื้อเกิดขึ้น (sepsis) ปาโธเจนส์ที่ก่อโรคนั้นย่อมจะ "excreted" nucleic acid **ซึ่งมี specific gene sequences จาก infected foci เข้าหลอดเลือด Nucleic acid นี้แม้ว่าร่างกายใช้วิธี enzymatic degradation system กำจัด nucleic ดังกล่าว แต่ก็ทำได้เพียงตัดทอนให้ nucleic acid segments นั้นมี half-life สิ้นลงเล็กน้อย**

---

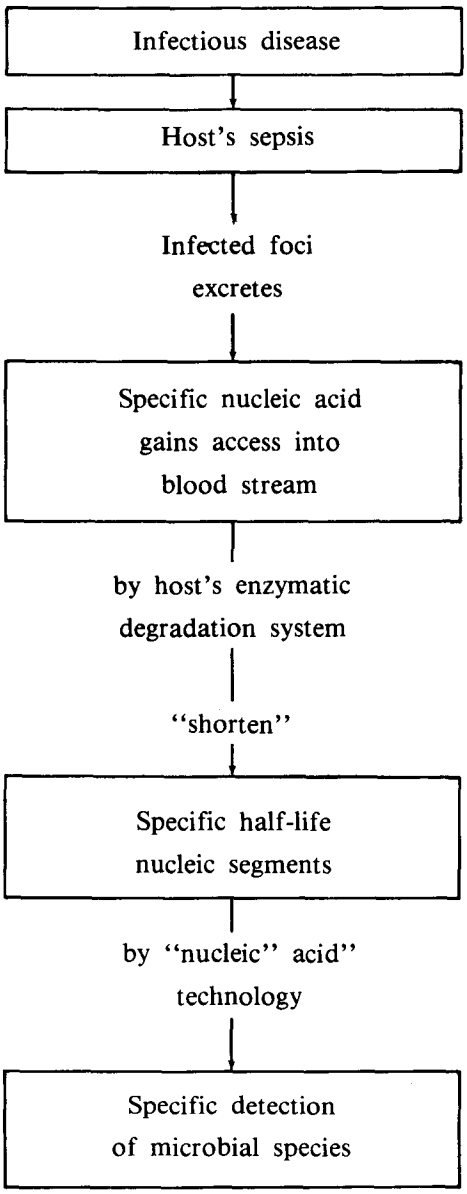
* less expensive and sophisticated equipment.

** lack of species specificity.

อย่างไรก็ดี gene-segments นั้น ยังมีความจำเพาะอยู่ การ detect หา specific gene segments ในหลอดเลือดได้ หมายถึงการวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการที่ทราบถึง causative agents ที่เป็น specific species ได้เป็นอย่างดี

วิธีการที่เรียบเรียงมานี้ มีรายงานเบื้องต้นชี้ **ให้เห็นว่า น่าจะมีประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อ** ได้เป็นอย่างดีในอนาคต[30,31]

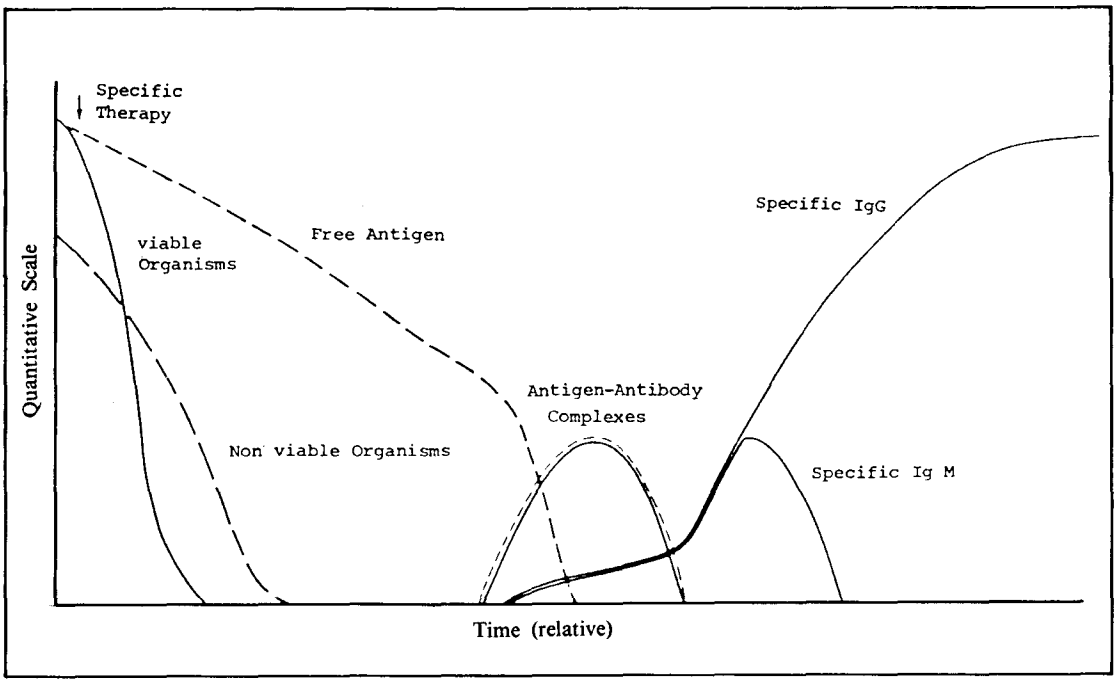
Figure 1 a Schematic detection of Nucleic acid method*



* แผนภูมิโดยผู้เรียบเรียง.

ความสำคัญของ microbial markers และ relative time sequence เมื่อเกิดสภาวะเสฟติซีเมีย จากภาพที่ 2 เมื่อมี *failure* ในการแยกวิเคราะห์หา pathogens จากหลอดเลือดนั้น ในปัจจุบันมีวิธีการหลาย ๆ อย่างเพื่อเป็น laboratory diagnosis ในการ detect หา microbial products ในหลอดเลือด Microbial products ที่วงเวียนอยู่ในหลอดเลือดในตอนแรกน่าจะเป็น (ภาพที่ 2)

Figure 2 Showing the relative time sequence in clearance of microbial markers in blood[66]



(7.4) Free antigens detection ในปัจจุบันใช้วิธี Counter current immunoelectrophoresis เพื่อ detect หา free antigen อาจเป็น Polysaccharide จาก encapsulated bacteria เช่น *Hemophilus influenzae* หรือ *Neisseria meningitidis* หรือ *Streptococcus pneumoniae* อย่างไรก็ดีร่างกายกำจัด (degradation) free antigens และขับออกทางปัสสาวะซึ่งมีการศึกษาให้เห็นว่า free antigen นั้น detect ได้ดีในปัสสาวะมากกว่าในเลือด[32-34]

แม้ว่าการหา free antigen เป็นที่ยอมรับว่าเป็น laboratory diagnosis ของโรคติดเชื้อที่ดี และมีการใช้วิธีการใหม่ ๆ ที่ไวเพิ่มขึ้นเช่น การทำ Latex agglutinotion การทำ Nephelometry และการทำ ELISA*[35-38] วิธีการ เหล่านี้ยังมีจุดอ่อนที่สำคัญคือปัญหาเรื่อง nonspecific serum interference และอุปสรรคในเรื่องยังมี specific antigen-antibody complex อยู่ สิ่งเหล่านี้ทำให้วิธีการ serum assays ดังกล่าวไม่สมบูรณ์เต็มที่ ซึ่งมีผู้พยายามแก้ไขอุปสรรคเหล่านี้โดยการทำ anti-

* Enzyme-linked immunoabsorbent assay.

gen-concentrating techniques[39-41] หรือโดยการทำ heating antigen-antibody complex เพื่อให้มี free thermostable antigens ที่ชัดเจนและ detect ได้ง่าย[39,42] สำหรับ free thermolabile antigens ก็มีวิธีการที่พิเศษสกัดออกมา detect อีกชุดหนึ่งโดยวิธี immune complex isolation ต่อไป[43]

ในปัจจุบันนี้มีผู้พบกลวิธานการเกิด monoclonal antibody ซึ่งสามารถนำมาเป็นหลักการทำให้การหา serum microbial antigens ได้ "ไวและเชื่อถือได้" มากขึ้นไปอีก[44] อย่างไรก็ตาม การ detect free antigen ใน serum นั้นไม่ว่าจะใช้วิธีการใดที่ sensitive เพียงใดก็ตาม ก็ยังมี "ขอบเขต" ที่ detect หา free antigen ในตอนแรก ๆ ของโรคติดเชื้อไม่ได้ และในช่วงแรก ๆ นั้น การเพาะเลี้ยงหาตัวปาโธเจนส์ก่อโรคมีความได้เปรียบอยู่[45]

อนึ่ง "interval" ที่จะ detect หา free antigens ใน serum มีเพียงชั่วระยะเวลาหนึ่ง (ภาพที่ 2) ต่อเมื่อมี host's response จนก่อ specific endogenous antibody และเกิด antigen-antibody complex ขึ้นแล้ว free antigens ก็จะค่อย ๆ หมดไปตาม process ของโรคติดเชื้อ ซึ่งระยะนี้การ detect free antigen ใน serum จะไร้ค่าไม่ได้ประโยชน์[46]

(7.5) Comparative titers ของ antibody detection

เมื่อ host respone ต่อ free antigens การเกิด antigen-antibody complex เป็น process สั้น ๆ ในการดำเนินโรคติดเชื้อ อย่างไรก็ดีในช่วงนี้มี laboratory diagnosis ที่น่าสนใจเช่นกัน แต่การ detect นั้น ต้องอาศัย specificity ของ antibody ผู้ป่วยในระยะนี้เป็นช่วงที่กำลังได้รับการรักษา และผู้ป่วยเริ่มจะเข้าสู่ระยะ convalescent ระดับ serum antibody สูงขึ้นทีละเล็กละน้อย การเจาะ pair sera ในตอน acute period เปรียบเทียบกับ convalescent serum เพื่อดู "four fold" rising antibody titers ใน sera จึงจะมีความสำคัญทาง laboratory diagnosis ที่บ่งถึงโรงติดเชื้ออยู่ในระหว่าง acute ถึง convalescent period อย่างไรก็ดี ระยะที่ก่อเกิด antigen antibody complex นี้เป็นช่วงเวลาสั้น ๆ (ดูภาพ 2) การแสดง "four fold" rising มักไม่ได้ผลดี

ตามที่ได้เรียบเรียงมาแล้ว การดำเนินของโรคติดเชื้อผ่านมานานพอสมควร และผู้ป่วยกำลังได้รับการรักษาอยู่ซึ่งแฟคเตอร์เหล่านี้ ย่อมมีผลกระทบต่อการก่อ specific antibody

(7.6) Ig M-specific antibody assay systems

ระยะ antigen-antibody complex ของโรคติดเชื้อดูเป็นช่องว่าง ที่การวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการดูจะมีความ "ไว" น้อย อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาภูมิต้านทาน Immunoglobulin Ig M.* ซึ่งนับว่าเป็นการหา single specific antibody ซึ่งแสดง acute specific host response ในปัจจุบันจึงมีวิธีการแยก Ig M ออกจาก Ig G.** และหาค่า free immunoglobulin Ig M ที่จำเพาะขึ้น[47-51] การหาค่าภูมิคุ้มกัน Ig M มีประโยชน์อย่างยิ่งในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อหลายโรค เช่น ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทย์ศาสตร์จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ในปัจจุบันสามารถ detect

---

* Ig M. = many antibodies to infectious agent especially early in Ab response; M W 900,000. Antipolysaccharide Ab; cold agglutinins Sed. const. 195, Half life in serum 5 days.

** Ig G. = many antibodies to toxins, bacteria, viruses; especially late in Ab response. M W 150,000. Sed const. 75, Half life in serum 23 days.

หาค่า specific Ig M ต่อโรค Mycoplasma infection ได้อย่างแม่นยำ วิธีการหา specific Ig M นี้เหมาะกับกลุ่มปาโธเจนส์ที่เพาะเลี้ยงยากและใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน เช่น Hapatitis A agent, cytomegalovirus, *Toxoplasma gondii,* Coxsackie B virus, Rubella virus, Yersinia, Chlamydia และแม้แต่ diverse bacterial infections ในผู้ป่วยโรค immunocompromised hosts[50-62] ฉะนั้น จะเห็นได้ว่าถ้าได้ปรับปรุงวิธีการหาค่า Ig M ใน serum ของผู้ป่วยให้ทำได้ง่ายขึ้น ราคาค่าใช้จ่ายน้อยลง และมีความ "ไว" สูง เชื่อถือได้มาก วิธีนี้น่าจะมีประโยชน์ในทางวินิจฉัยโรคติดเชื้อทางห้องปฏิบัติการมาก

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อทางห้องปฏิบัติการนั้นมีวิธีการหลาย ๆ อย่าง (ตามตารางที่ 2)

Table 2 Specificity of the various methods for Laboratory-Diagnosis[6]

	Discrimination (Specificity)				
	Group	**Genus**	**Species**	**Antimicrobial Susceptibility**	**Sensitiyity**
Culture					
Microscopic examination	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
Parasities	+ +	+ +	+ +	—	—
Borrelia	+ +	+ +	+ +	—	+
Bacteria	+	—	—	—	(+)
Detection of unique microbial products					
Physicochemical	+	(+)	—	—	+
Bioactivity	+	(+)	—	(—)	+?
Antigen	+ +	+ +	+	—	+ +
Detection of specific response					
IgM	+ +	+ +	+	—	+ +
Antigen-antibody complex	+	+	+	—	(+)
Antibody rise	+ +	+ +	+	—	+ +
Detection of nonspecific response					
Hematologic	(+)	—	—	—	+
Reactive proteins	(+)	—	—	—	+
Sedimentation rate	(+)	—	—	—	+

+ + = excellent; + = good; (+) = occasionally; — = not applicable.

(7.7) DNA hybridization technic for identification of enteric pathogens*

การใช้ Biotechnology สมัยใหม่โดยอาศัยวิธี combination gene-cloning กับ nucleic acid hybridization ทำให้สามารถแยกวิเคราะห์ enteric pathogens ได้อย่างแม่นยำ วิธีการสมัยใหม่นี้มีประโยชน์อย่างยิ่งในทางระบาดวิทยา

* Peter E. New Technology in the Etiologic Identification of Enteric pathogens. Proceedings of the 3rd. Asian Conference on Diarrhoeal Diseases. Bangkok : Medical Media Publication, 1985, p.115-138

อย่างไรก็ดี **การใช้วิธีการต่าง ๆ ตามที่กล่าวมามีข้อเสีย** คือ

1. ทราบแต่สมุฏฐานของโรคติดเชื้อเพียงอย่างเดียว ในเรื่องของการรักษาจึงต้องอาศัยประสบการณ์เป็นส่วนใหญ่ ตรงกันข้ามกับการแยกวิเคราะห์หา causative agents ได้ ย่อมได้เปรียบเพราะสามารถทดสอบความ "ไว" ของปาโธเจนส์ที่ได้กับยาต้านจุลินทรีย์ได้แทบทุกชนิด การรักษาจึงเป็นแบบฉบับที่ดีกว่า โอกาสที่ปาโธเจนส์ก่อโรคจะดื้อยา หรือมี "relapse" เป็นได้แยก

2. วิธีการที่คิดค้นกันขึ้นมา บอกโรคติดเชื้อได้ และวิธีการส่วนน้อยที่บอกได้ละเอียดถึง genus และ species ของปาโธเจนส์

อย่างไรก็ตาม วิธีการต่าง ๆ (ไม่นับการเพาะเชื้อ) ที่เรียบเรียงมากำลังปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ซึ่งย่อมจะมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคติดเชื้อและทำความสบายใจต่อแพทย์ผู้รักษาในการวินิจฉัยโรคได้แม่นยำขึ้น

อ้างอิง

1. Miller LH. Malaria. In : Hoeprich PD, ed. Infectious Diseases, a Modern Treatise of Infectious Processes. 2 ed. Maryland : Harper and Row, 1977. 1075-1087
2. Boyer KM, Munford RS, Maupin GO. Tick-borne relapsing fever : an interstate outbreak originating at grand Canyon National Park. Am J Epidemiol 1977 May; 105(5) : 469-479

2 ก. Koransky JR, Allen SD, Dowell VR, Jr. Use of ethanol for selective isolation of sporeforming microorganisms. Appl Environ Microbiol 1978 Apr; 35(4) : 762-765

2 ข. Narathorn D. Anaerobe of Medical Importance. 2 rev. ed. Bangkok : Unity Progress, 1986.

3. Faden HS. Early diagnosis of neonatal bacteremia by buffy-coat examination. J Pediatr 1976 Jun; 88(6) : 1032-1034
4. McCabe WR, LaPorte JJ. Intracellular bacteria in the peripheral blood in staphylococcal bacteraemia. Ann Med 1962 Jul; 57(1) : 141-143
5. Coppen MJ, Noble CJ, Aubrey C. Evaluation of buffy-coat microscopy for the early diagnosis of bacteraemia. J Clin Pathol 1981 Dec; 34(12) : 1375-1377
6. Laue BA, Reller LB, Mirrett S. Comparison of acridine orange and Gram stains for detection of microorganisms in cerebrospinal fluid and other clinical specimens. J Clin Microbiol 1981 Aug; 14(2) : 201-205
7. Archer GL, Coleman PH, Cole RM, Duma RJ, Johnston CL, Jr. Human infection from an unidentified erythrocyte-associated bacterium. N Engl J Med 1979 Oct 25; 301 (17) : 897-900
8. Schilling V. The Blood Picture and Its Clinical Significance. St Louis : CV Mosby, 1929. 138
9. Naiman JL, Bergman GE. Hematologic clues to systemic disease in childhood. Semin Hematol 1975 Jul; 12(3) : 287-303
10. Todd JK. Childhood infections. Diagnostic value of peripheral white blood cell and differential cell counts. Am J Dis Child 1974 Jun; 127(6) : 810-816
11. Squire E, Favara B. Todd J. Diagnosis of neonatal bacterial infections; hematologic and pathologic findings in fatal and non-fatal cases. Pediatrics 1979 Jul; 64(1) : 60-64
12. Park BH, Fikrig SM, Smithwick LM. Infection and nitroblue tetrazolium

reduction by neutrophils; a diagnostic aid. Lancet 1968 Sep 7; 2(7567) : 532-534

13. Feigin RD, Shackelford PG, Choi SC. Prospective use of the nitroblue tetrazolium dye test in febrile disorders. J Pediatr 1971 Dec; 79(6) : 943-947
14. Steigbigel RT, Johnson PK, Remington JS. The nitroblue tetrazolium reduction test versus conventional hematology in the diagnosis of bacterial infection. N Engl J Med 1974 Jan 31; 290 : 235-238
15. Segal AW. Nitroblue-tetrazolium tests. Lancet 1974 Nov 23; 2(7891) : 1248-1252
16. Holdstock G, Michell JR. A erythrocyte-sedimentation rate before and after in-vitro defibrination; a rapid simple method for increasing its specificity. Lancet 1977 Dec 24-31; 2(8052-8053) : 1314-1316
17. C-reactive protein or ESR?. Lancet 1977; 11 : 1166-1167
18. Zipursky A, Palko J, Milner R. The Hematology of bacterial infections in premature infants. Pediatrics 1976 Jun; 57(6) : 839-853
19. Squire EN, Jr. Reich HM, Merenstein GB, Favara BE, Todd JK. Criteria for the discontinuation of antibiotic therapy during presumptive treatment of suspected neonatal infection. Pediatr Infect Dis 1982 Jan; 1(1) : 85-90
20. Marier RL, Milligan E, Fan YD. Elevated mannose levels detected by gas liquid chromatography in hydrolysates of serum from rats and humans with candidiasis. J Clin Microbiol 1982 Jul; 16(1) : 123-128
21. Monson TP, Wilkinson KP. Mannose in body fluids as an indicator of invasive candidiasis. J Clin Microbiol 1981; 14(5) : 557-562
22. Brooks JB, McDade JE, Alley. Rapid differentiation of rocky mountain spotted fever from chickenpox, measles, and enterovirus infections and bacterial meningitis by frequency-pulsed electron capture gas-liquid chromatographic analysis of sera. J Clin Microbiol 1981 Aug; 14(2) : 165-172
23. Brooks JB. Use of frequency-pulsed electron-capture gas-liquid chromatography to selectively detect certain types of bacteria products produced both in vivo and in vitro. In : Tilton RC, ed. rapid methods and automation in Microbiology. Washington DC : American Society for Microbiology, 1981.
24. Roboz J, Suzuki R, Holland JF. Quantification of arabinitol in serum by selected ion monitoring as a diagnostic technique in invasive candidiasis. J Clin Microbiol 1980 Oct; 12(4) : 594-601
25. Yolken RH. Enzymes analysis for rapid detection of microbiol infection in human body fluids; an overview. Clin Chem 1981 Sep; 27(9) : 1490-1498
26. Yolken RH, Hughes WT. Rapid diagnosis of infections caused by beta-lactamase-producing bacteria by means of an enzyme radioisotopic assay. J Pediatr 1980 Nov; 97(5) : 715-720
27. Boughton WH. Rapid detection in spinal fluid of beta-lactamase produced by ampicillin-resistant **Haemophilus influenzae.** J Clin Microbiol 1982; 15 : 1167-1168
28. Levin J, Poore TE, Zauber NP. Detection of endotoxin in the blood of patients with sepsis due to gram-negative bacteria. N Engl J Med 1970 Dec 10; 283(24) : 1313-1316
29. Elin RJ, Robinson RA, Levine AS, Wolff SM. Lack of clinical usefu-

lness of the limulus test in the diagnosis of endotoxemia. N Engl J Med 1975 Sep 11; 293(11) : 521-524

30. Herring AJ, Inglis NF. Ojeh CK, Snodgrass DR, Menzies JD. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. J Clin Microbiol 1982 Sep; 16(3) : 473-477
31. Jaffe HW, Kraus SJ, Edwards TA, Weinberger SS, Zubrzycki 1. Diagnosis of gonorrhea using a genetic transformation test on mailed clinical specimens. J Infect Dis 1982 Aug; 146(2) : 275-279
32. Rytel MW. Counterimmuno electrophoresis in diagnosis of infectious disease. Hosp Pract 1975 Jan; 75 (1) : 82
33. Myhre EB. Rapid diagnosis of bacterial meningitis; demonstration of bacterial by counterimmunoelectrophoresis. Scand J Infect Dis 1974; 6(3) : 237-239
34. Shackelford PG, Campbell J, Feigen RD. Countercurrent immunoelectrophoresis. J Pediatr 1974 Oct; 85 (4) : 478-481
35. Coonrod JD, Rylko – Bauer. Latex agglutination in the diagnosis of pneumococcal infection. J Clin Microbiol 1976 Aug; 4(2) : 168-174
36. Caceci T, Brook I Daniel A. Quantiative nephalometric determination of **Haemophilus influenzae** antigen in body fluids. J Clin Microbiol 1981 Mar; 13(3) : 540-547
37. Yolken RH. Enzyme immunoassays for the detection of infectious antigens in body fluids : current limitations and future prospects. Rev Infect Dis 1982 Jan; 4(1) : 35-68
38. Meckstroth KL, Reiss E, Keller JW, Kaufman L. Detection of antibodies and antigenemia in leukemic patients with candidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. J Infect Dis 1981 Jul; 144(1) : 24-32
39. Doskeland SO, Berdal BP. Bacterial antigen detection in body fluids : methods for rapid antigen concentration and reduction of non-specific reactions. J Clin Microbiol 1980 Apr; 11(4) : 334-380
40. Granoff DM. Countercurrent immunoelectrophoresis in the diagnosis of **Haemophilus** influenzae type b infection : relationship of detection of capsular antigen to age, antibody response and therapy. Am J Dis Child 1977 Dec; 131(12) : 1357-1362
41. Feigin RD. Wong M, Shackelford PG. Countercurrent immunoelectroporeasis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J Pediatr 1976 Nov; 89(5) : 773-775
42. Lew MA, Siber GR, Donahue DM, Maiorea F. Enhanced detection with an enzyme-linked immunosorbent assay of **Candida mannan** in; antibody-containing serum after heat extraction. J Infect Dis 1982 Jan; 145(1) : 45-56
43. Inman RD, Redecha PB, Knechtle SJ, Schned ES. Van de Rijn I, Christian Cl. Identification of bacterial antigens in circulating immune complexes of infective endocarditis. J Clin Invest 1982 Aug; 70(2) : 271-280
44. Diamond BA, Yelton DE, Scharff MD. Monoclonal antibodies : a new technology for producing serologic reagents. N Engl J Med 1981 May 28; 304(22) : 1344-1349
45. Fung JC, Wicher K. Minimum number of bacteria needed for antigen detection by counterimmunoelectrophoresis in vivo and vitro studies. J Clin Microbiol 1981 Apr; 13(4) : 681-687

46. Wiggins RC, Cochrane CG. Current concepts in immunology : immune-complex-mediated biologic effects. N Eng J Med 1981 Feb 26; 304 (9) : 518-520

47. Salonen EM, Vaheri A, Suni J, Wager O. Rheumatoid factor in acute viral infections : interference with determination of IgM, IgG, and IgA antibodies; in an enzyme immunoassay. J Infect Dis 1980 Aug; 142(2) : 250-252

48. Johnson RB, Jr., Libby R. Separation of immunoglobulin M (IgM) essentially free of IgG from serum for use in systems requiring assay of IgM-type antibodies without interference from the rheumatoid factor. J Clin Microbiol 1980 Sep; 12(3) : 451-454

49. Naot Y, Barnett EV, Remington JS. Method for avoiding false-positive results occurring in immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays due to presence of both rheumatoid factor and antinuclear antibodies. J Clin Microbiol 1981 Jul; 14(1) : 73-78

50. Moller AM, Mathiesen LR. Detection of immunoglobulin M antibodies to hepatitis A virus by enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 1979 Nov; 10(11) : 628-632

51. Griffiths PD, Stangno S, Pass RF, Smith RJ, Alford CA, Jr. Infection with cytomegalovirus during pregnancy : specific IgM antibodies as a market of recent primary infection. J Infect Dis 1982 May; 145(5) : 647-653

52. Van Loon AM, Heessen FWA, van der Lost JTHM, van der Veen J. Direct enzyme-linked immunosorbent assay that uses peroxidase-labeled antigen for determination of immunoglobulin M antibody to cytomegalovirus. J Clin Mi robiol 1981 Mar; 13(3) : 416-422

53. Yolken RH, Leister RJ. Enzyme immunoassays for measurement of cytomegalovirus immunoglobulin M antibody. J Clin Microbiol 1981 Oct; 14(4) : 427-432

54. Filice GA, Yeager AS, Remington JS. Diagnostic significance of immunoglobulin M antibodies to **Toxoplasma gondii** detected after separation of immunoglobulin M from immunoglobulin antibodies. J Clin Microbiol 1980 Sep; 12(3) : 336-342

55. Naot Y, Remington JS. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to **Toxoplasma gondii** : use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. J Infect Dis 1980 Nov; 142(5) : 757-766

56. Desmonts G, Naot Y, Remington JS. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases : diagnosis of acute congenital and acquired **toxoplasma** infections. J Clin Microbiol 1981; 14 : 486-491

57. Minor TE, Helstrom PB, Nelson DB, D'Allessio DJ. Counterelectrophoresis test for immunoglobulin M. antibodies to group B Coxsackie virus. J Clin Microbiol 1979 Apr; 9(4) : 503-506

58. EL-Hagrassy MM, Banatvala JE, Coltan DJ. Coxsackie B virus specfic IgM response in patients with cardiac and other diseases. Lancet 1980 Nov 29; 2(825) : 1160-1162

59. O Beirne A, Berzofsky R, Fuccillo D. Enzyme immunoassays for detecting viral infections. In : Tilton RC, ed. Rapid Methods and Automation in Microbiology. Washington DC : Americal Sociely for Microbiology. 1981.

60. Granfors K. Measurement of immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgA antibodies against **Yersinia enterocolitica** by enzyme-linked immunosorbent assay; persistence of serum antibodies during disease. J Clin Microbiol 1979 Mar; 9(3) : 336-341

61. Schachter J, Grossman M, Azimi RH. Serology of **Chlamydia trachomatis** in infants. J Infect Dis 1982 Oct; 146(4) : 530-535

62. Gannon PJ, Surgalla MJ, Fitzpatrick JE, Neter E. Immunoglobulin G and immunoglobulin M antibody responses of patients with malingnancies to the O antigens of bacteria causing bacteremia. J Clin Microbiol 1980 Jul; 12(1) : 60-62

63. Galen Rs, Gambino SR. Beyond Normality the Predictive Value and Efficiency of Medical Diagnosis. New York : John Wiley, 1975.

64. Freiman JA, Chalmers TC, Smith H, Jr. Kuebler RR. The importance of beta, the type II error and sample size in the design and interpretation of the randomized control trial : survey of 71 "negative" trials. N Engl J Med 1978 sep 28; 299(13) : 690-694

65. The value of diagnostic tests. Lancet 1979; I : 809-810

66. James KT. Nonculture technique using blood specimens for the diagnosis of infectious disease. Am J Med 1983 Jun : 37-43. (proceedings of symposium)

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 19 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2527