

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)



การประเมินความไว ความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ มาลาเรีย ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา โดยวิธีการแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต

Evaluation of Sensitivity and Specificity of Malaria Detection by Hematology Analyzer using WBC separation and Non-WBC separation methods

วรรณนา ศรีสังจาร์ภษ์¹

รุจิรา เลิศพร้อม¹

กัลยา คุณจันทร์²

กวิณลดา อาริวงษ์³

เอธยา อติญาณพิพัฒน์³

Wanna Srisatjarak

Rujira Lerdprom

Kallaya Tunjan

Kawinlada Arewong

Athaya Atiyanphiphat

สำนักโรคติดต่อมาโดยแมลง¹ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 จ.พิษณุโลก² และโรงพยาบาลรามารินทร์³

บทคัดย่อ

เมื่อไม่นานมานี้ มีการค้นพบว่าแสงดิฟฟราเรชันเลเซอร์ ในเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาสามารถตรวจการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยตรวจหาเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์ของเชื้อมาลาเรียอยู่ ซึ่งสามารถทราบผลพร้อมไปกับผลทางโลหิตวิทยาที่ทำเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล จึงช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย แต่มีการศึกษาพบว่าปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความไว และความจำเพาะของเครื่องคือ การที่ผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันต้านต่อโรค ซึ่งจะเป็นสื่อเหนี่ยวนำให้เม็ดโลหิตขาวสามารถจับกินเชื้อมาลาเรียได้ดีขึ้น ดังนั้นถ้าผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันต้านต่ำ เม็ดโลหิตขาวที่กินเชื้อมาลาเรียมีปริมาณน้อย เครื่องอาจตรวจไม่พบ จึงทำให้มีความไวต่ำ

งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเฉพาะเม็ดโลหิตขาว และ Leukocyte-rich plasma มาใช้ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องดังกล่าว เปรียบเทียบกับการตรวจหาจากโลหิตปกติ ดูว่าวิธีการใดเหมาะสมและช่วยให้เครื่องสามารถตรวจหาผู้ป่วยมาลาเรียได้ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยเก็บตัวอย่างโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขนผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิก จำนวน 223 ราย นำมาแบ่งอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ดังกล่าว โดยอ่านผลแบบแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิต เปรียบเทียบกับผลตรวจจากฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน

ผลการศึกษา พบว่าการตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิต มีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 90 แต่มีความไวเพียงร้อยละ 57 ซึ่งไม่เพียงพอที่จะนำเครื่อง CBC นี้มาใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในผู้ป่วยที่มีอาการสงสัยเป็นมาลาเรีย แต่อาจจะนำมาใช้ช่วยในการคัดกรองเบื้องต้นระหว่างใช้เครื่องสำหรับตรวจด้านโลหิตวิทยาเป็นงานประจำในผู้ที่ไม่มีอาการของโรคมาลาเรีย เนื่องจากมีความจำเพาะสูง เพื่อ

เป็นการเตือนให้ทราบว่าหากเครื่องตรวจพบเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื่อมมาลาเรียอยู่ ควรจะต้องมีการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้ง

ส่วนการตรวจหาเชื่อมมาลาเรียจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC พบว่า ทั้งสองแบบมีค่าความไวลดลงเมื่อเทียบกับการตรวจจากโลหิต โดยมีความไว ร้อยละ 41 และ 47 ตามลำดับ ซึ่งไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้คือ ถ้าตัวอย่างทดสอบมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวมากขึ้น ความไวของเครื่องก็น่าจะเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้น ถ้านำเครื่องมาใช้จริงในอนาคตอาจต้องมีการปรับปรุง Software ของเครื่องให้เหมาะสมกับการตรวจมาลาเรีย เช่น ให้สามารถนำ WBC เข้าไปในเครื่องเพื่อตรวจวิเคราะห์ ในปริมาณที่สูงกว่าระบบปกติ คือ สูงกว่า 10,000 เซลล์ เพื่อให้มีความไวเพิ่มขึ้นจากงานวิจัยนี้ หรือออกแบบให้สามารถตรวจหาเม็ดโลหิตแดงที่มีเชื่อมมาลาเรียอยู่ ซึ่งจะเป็นการตรวจโดยทางตรงมากกว่าการตรวจหาจากเม็ดโลหิตขาว

คำสำคัญ เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา เม็ดโลหิตขาว ความไว ความจำเพาะ เชื่อมมาลาเรีย การวินิจฉัย

Abstract

Recently, Depolarize-laser light in automated hematology analyzer has been found to be able to diagnose malaria by detecting the malaria pigment-containing White Blood Cell (WBC). This technique could be use for malaria detection during routine complete blood count analysis in the hospital which could save time and cost. However, in some studies found that a factor affecting the sensitivity and specificity of this technique was patient immunity to malaria. The immunity could induce WBC to better phagocytose malaria parasite. If patient had low immunity to malaria, occurring of phagocytosis might be lower. Thus, detection of malaria from pigment-containing WBC by this instrument would not be effective due to low sensitivity.

This research aimed at comparison of malaria detection by 3 fractions of a Hematology analyzer: WBC fraction and Leukocyte-rich plasma fraction compare, whole blood fraction, and a regular method. This study also suggests the appropriate and accuracy improvement of the instrument. Venous blood was collected from 223 patients attending malaria clinic for diagnosis malaria. Detection by hematology analyzer was conducted in the blood samples that WBC was separated or non-separated from whole blood. Thick blood film was used as a gold standard for the comparison.

The result showed that the specificity of the whole blood fraction was high (90%) but the sensitivity was only 57%. This technique was thus not effectiveness for the diagnosis of malaria in malaria suspected case. However, it could be helpful for malaria screening during the routine complete

blood count due to its high specificity. Moreover, it could be a warning sign to laboratory technician, when an abnormal scatter plot (pigment containing WBC) was found. The microscopic examination of malaria was then confirmed.

Malaria parasite detection from the Leukocytes-rich plasma and WBC fraction had less sensitivity (41% and 47% respectively) when compared with whole blood fraction. Our assumption that concentration of WBC in the blood samples would increase the sensitivity of this instrument was rejected. Software modification of this instrument for malaria diagnosis in the future is necessary for example, the increase in the number of WBC injection during WBC counting process of more than 10,000 cells may help increase the sensitivity or the adaptation of the function to detect malaria directly from infected red blood cell.

Keyword Haematology analyzer, White Blood Cell, Sensitivity, Specificity, Malaria Parasite, Diagnosis

ที่มาและความสำคัญของการวิจัย

ในการรักษาไข้มาลาเรีย จะต้องมีการตรวจชั้นสูตรหากการติดเชื้อมาลาเรียในโลหิตผู้ป่วยต้องสงสัยและวินิจฉัยจำแนกชนิดเชื้อเพื่อการรักษาที่เหมาะสม วิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย คือการตรวจจากฟิล์มโลหิตด้วยกล้องจุลทรรศน์⁽¹⁾ ในงานควบคุมไข้มาลาเรียของประเทศไทยก็ยังคงใช้วิธีนี้เป็นงานประจำจนถึงปัจจุบัน เป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายน้อย สามารถบอกได้ทั้งชนิดและปริมาณเชื้อ แต่คุณภาพในการใช้วิธีนี้ขึ้นอยู่กับการใช้กล้องจุลทรรศน์ที่อยู่ในสภาพดี และมีผู้ดูแลที่มีความชำนาญ⁽²⁾ ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นและพัฒนาเทคนิคอื่นในการตรวจหาและวินิจฉัยโรคมาลาเรีย ที่ไม่ขึ้นกับความชำนาญของผู้อ่านผลออกมาอย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันมีหลายเทคนิค⁽³⁾ เช่น ชุดน้ำยาตรวจอย่างรวดเร็ว (Rapid Diagnostic Test; RDT) วิธี PCR เป็นต้น โดย RDT เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายกว่า รวดเร็วกว่า และไม่ต้องอาศัยเครื่องมืออื่นเข้ามาช่วยในขบวนการ แต่มีข้อจำกัด คือ มีความไวต่ำ

ในกรณีที่มีจำนวนเชื้อน้อย และมีราคาค่อนข้างสูง แต่ก็ยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สะดวกสำหรับใช้ในภาคสนาม ในห้องที่ทุรกันดารไม่มีกล้องจุลทรรศน์ใช้ ส่วนวิธี PCR เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูง แต่มีขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก ใช้เวลานาน และเสียค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง

และเมื่อไม่นานมานี้ Mendelow และคณะในปี ค.ศ.1999⁽⁴⁾ มีการค้นพบว่าแสงดีโพลาริซเลเซอร์ในเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาบางรุ่นสามารถตรวจการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยตรวจหาเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์ของเชื้อมาลาเรียอยู่ เป็นอีกหนึ่งเทคโนโลยีใหม่ในการตรวจโรคมาลาเรียที่น่าสนใจมาก ทำให้ช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์โรคมาลาเรีย เนื่องจากสามารถทราบผลพร้อมไปกับผลทางโลหิตวิทยา ซึ่งต้องทำเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลอยู่เสมอ เหมาะกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ไม่ชำนาญการดูเชื้อและพบเชื้อไม่บ่อย เทคโนโลยีนี้จึงน่าจะมีประโยชน์กับงานควบคุม

ใช้มาลาเรียของไทยในอนาคตที่จะต้องถ่ายโอนบทบาทเข้าสู่ระบบบริการสาธารณสุข นั่นคือสำหรับงานตรวจรักษามาลาเรีย จะเป็นหน้าที่ของโรงพยาบาลในการให้บริการ เหมือนดังเช่นในบางจังหวัดของประเทศขณะนี้ ที่งานมาลาเรียได้ถูกผสมผสานไปแล้วเนื่องจากไม่พบการติดเชื่อในพื้นที่และไม่มียุงพาหะ ซึ่งในบางครั้งหากจังหวัดเหล่านี้มีผู้ป่วยมาลาเรีย ที่ส่วนใหญ่จะเป็นการติดเชื่อมาจากที่อื่นจากการเข้าไปในแหล่งแพร่เชื้อและเกิดการป่วยหลังกลับออกมา เมื่อผู้ป่วยมาโรงพยาบาลที่เจ้าหน้าที่งานชันสูตรขาดชำนาญในการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำให้ผลตรวจผิดพลาดได้ เป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและอาจถึงแก่ความตายได้ เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาที่มีคุณสมบัตินี้อาจจะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้ กล่าวคือหากแพทย์สั่งตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเพื่อหาสาเหตุของโรคอื่น แต่สามารถได้ทราบผลการติดเชื่อมาลาเรียด้วย (ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการตรวจทางโลหิต) จึงทำให้ทราบสาเหตุที่แท้จริงของการป่วยได้ นอกจากนี้ยังทำให้สามารถค้นหาผู้ป่วยได้เร็วขึ้นด้วย แต่อย่างไรก็ตามเทคโนโลยีนี้มีข้อจำกัด คือ ยังไม่สามารถแยกชนิดเชื่อมาลาเรียได้

มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของเครื่องนี้ในหลายประเทศ ทั้งประเทศที่เป็นแหล่งแพร่เชื้อและไม่ได้เป็นแหล่งแพร่เชื่อมาลาเรีย^(1, 4, 5, 6, 7, 8) ซึ่งพบว่าเครื่องสามารถตรวจหาการติดเชื่อมาลาเรียได้ โดยมีค่าความจำเพาะสูง แต่ค่าความไวกลับมีความหลากหลาย ตั้งแต่ร้อยละ 60 ถึงสูงกว่าร้อยละ 90 โดยประสิทธิภาพของเครื่องในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียในประชากรต่างเชื้อชาติ ต่างภูมิภาค จะมีค่าไม่เท่ากัน แม้ใช้เครื่องมือรุ่นเดียวกันก็ตาม ซึ่งมีการศึกษาพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อความไว ความ

จำเพาะของเครื่อง คือการที่ผู้ป่วยมีภูมิต้านทานต่อโรคซึ่งจะเป็นสื่อเหนียวนำให้เม็ดโลหิตขาวสามารถจับกินเชื่อมาลาเรียได้ดีขึ้น^(9, 10, 11) และเนื่องจากวิธีนี้จะขึ้นกับการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว (ชนิดที่มีพิกเมนต์ของเชื่อมาลาเรีย) ดังนั้นถ้ามีในปริมาณน้อย เครื่องอาจตรวจไม่พบ จึงทำให้มีความไวต่ำ

ดังนั้นหากต้องการนำเครื่องดังกล่าวมาใช้จริงในประเทศไทย สำหรับงานตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียในผู้ป่วยต้องสงสัยเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผู้ป่วยอาจมีทั้งผู้ที่มีภูมิต้านทานและไม่มีภูมิต้านทานต่อโรคมาลาเรีย จะต้องมีการศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะนำเครื่องดังกล่าวมาใช้ โดยดูว่ามีประสิทธิภาพดีเพียงใด พร้อมหาวิธีการที่เหมาะสม ที่จะช่วยให้เครื่องสามารถตรวจหาผู้ป่วยมาลาเรียได้ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้นโดยเฉพาะในผู้ที่ไม่มีภูมิต้านทาน ซึ่งอาจจะมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื่อมาลาเรียในระดับต่ำกว่าที่เครื่องจะตรวจวัดได้ โดยจะนำเอาโลหิตมาตรวจแบบปกติ กับแยกเอาเฉพาะส่วนที่มีเม็ดโลหิตขาว แล้วจึงนำส่วนนี้มาตรวจด้วยเครื่องดังกล่าว ซึ่งคาดว่าน่าจะช่วยเพิ่มความไวให้เพิ่มขึ้นได้ เป็นขั้นตอนเพิ่มจากปกติและเป็นสิ่งที่การศึกษานี้ต้องการทราบว่าวิธีใดจะมีผลทำให้เครื่องมีความไวในระดับสูงเพียงพอที่จะยอมรับได้ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีตรวจมาตรฐานด้วยฟิล์มโลหิตหนา ตลอดจนหาเกณฑ์ที่เหมาะสมในการใช้งานกับเครื่องมือนี้ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจ นำมาใช้ด้านใดด้านหนึ่งในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความไว ความจำเพาะ ของการตรวจหาการติดเชื่อมาลาเรียด้วยเครื่องตรวจ

วิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 โดยวิธีการแยกและไม่แยกเม็ดโลหิตขาวออกจากโลหิตเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจโดยวิธีมาตรฐานฟิล์มโลหิตหน้าด้วยกล้องจุลทรรศน์

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. พื้นที่ศึกษา

มาลาเรียคลินิกที่อยู่ในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียของจังหวัดตาก และห้องปฏิบัติการหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลรามาริบัติ

2. ประชากรที่จะศึกษา

ผู้ที่มารับการตรวจรักษาในมาลาเรียคลินิก ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง สิงหาคม 2554 ซึ่งยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย จำนวน 223 ราย โดยเป็นผู้มีอาการไข้ สูงตั้งแต่ 38 องศาเซลเซียสจากการวัดอุณหภูมิทางปาก หรือ มีประวัติไข้ใน 72 ชั่วโมงที่ผ่านมา หรือเข้าไปในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรีย มีอายุ 18 ปีขึ้นไป โดยยกเว้นหญิงมีครรภ์ ผู้มีโรคประจำตัว เช่น โลหิตจาง ลักปิดลักเปิด เลือดออกไม่หยุด (Hemophilia) เป็นต้น รวมถึงผู้ป่วยมีอาการแสดงของมาลาเรียชนิดรุนแรง ตามหลักเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก

3. เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

1. กล้องจุลทรรศน์และเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500

2. ฟิล์มโลหิตหน้า-บางของประชากรศึกษาที่ย้อมด้วยสียิมซ่า

3. โลหิตของประชากรศึกษา ที่มารับการตรวจรักษาในมาลาเรียคลินิก

4. วิธีดำเนินการศึกษา

1) การเก็บตัวอย่างโลหิต โดยเจาะโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขน 10 มล. ทำฟิล์มโลหิตทั้งแบบหนาและแบบบาง เพื่อนำมาอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วนโลหิตที่เหลือใส่ในหลอด

ซึ่งมีสารกันโลหิตแข็ง EDTA เคลือบอยู่ จำนวน 2 หลอดๆ ละประมาณ 5 มล. เก็บรักษาในอุณหภูมิตั้ง 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อบริการกลับไปอ่านผลจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาที่โรงพยาบาลรามาริบัติ

2) การตรวจวินิจฉัยหาการติดเชื้อมาลาเรีย

2.1) ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์^(12, 13) ใช้เป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Gold Standard) โดยฟิล์มโลหิตถูกย้อมด้วยสียิมซ่าเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที ทำการตรวจโดยผู้เชี่ยวชาญการดูกล้องในการตัดสินไม่พบเชื้อจะต้องดูฟิล์มจนครบ 200 วงกล้อง ถ้าพบเชื้อต้องดูจนครบ 100 วงกล้อง ก่อนตัดสินชนิดเชือนับจำนวนพาราไซต์ต่อ 200 เม็ดโลหิตขาว คำนวณความหนาแน่นต่อโลหิต 1 ไมโครลิตร

2.2) ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา (Hematology analyzer) นำตัวอย่างโลหิตทั้งสองหลอด มาอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ดังนี้

1. หลอดที่หนึ่ง

- นำไปเข้าเครื่องให้ทำการตรวจวิเคราะห์ Complete Blood Count แบบอัตโนมัติเหมือนการปฏิบัติเป็นปกติในงานประจำของห้องปฏิบัติการ

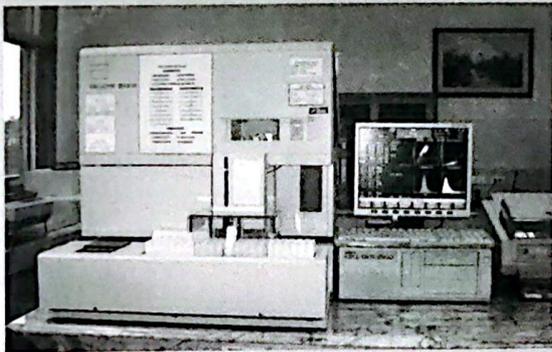
- เมื่ออ่านผลเสร็จ (ซึ่งจะเหลือโลหิต ~ 4 มล.) นำหลอดมาตั้งทิ้งไว้ 30-45 นาที จนโลหิตแยกออกเป็นสองส่วน นำเฉพาะส่วนใสด้านบน คือ Leukocyte-rich plasma ซึ่งมีปริมาณ ~ 2 มล. ไปเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์

2. หลอดที่สอง

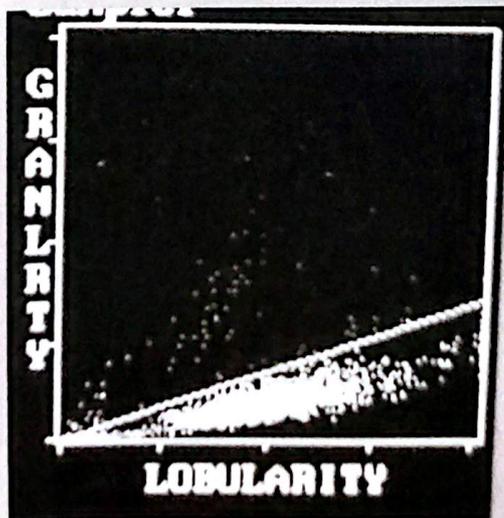
เป็นการแยกเอาเฉพาะเม็ดโลหิตขาว (White Blood Cell; WBC) มาตรวจวิเคราะห์ โดยนำโลหิตมาใส่ลงในสารละลาย Polymorphprep™ (Axis-Shield, Oslo, Norway) ซึ่งใช้สำหรับแยกเม็ดโลหิตขาว ในอัตราส่วน 1 : 1 (14) และนำไปปั่น

เหรียญแยกเก็บเฉพาะชั้นเม็ดโลหิตขาว นำไปอ่านผลด้วยเครื่องเพื่อตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรีย

CELL-DYN® 3500 (Abbott, Santa Clara, Calif.) ดังรูปที่ 1 เป็นเครื่องตรวจนับเม็ดโลหิตแบบหนึ่ง ซึ่งตรวจนับและจำแนกชนิดแบบอัตโนมัติ โดยโลหิตที่เข้าไปจะถูกวิเคราะห์และประมวลผลออกมาบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ ซึ่งแสดงค่าต่างๆ ได้แก่ ชนิดและปริมาณของเม็ดโลหิตขาว ปริมาณเม็ดโลหิตแดง เกล็ดโลหิต เป็นต้น รวมทั้งยังแสดงกราฟ scatter plot ของเม็ดโลหิตขาวชนิดต่างๆ ซึ่งจะดูความแตกต่างได้จากสีที่ปรากฏและตำแหน่งบนกราฟที่แตกต่างกัน



รูปที่ 1 เครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา
CELL-DYN® 3500



รูปที่ 2 Scatter plot แสดงผลการตรวจ
หาเชื้อมาลาเรีย

หลักการในการแยกชนิดของเม็ดโลหิตขาว จะอาศัยความแตกต่างในด้านขนาด โครงสร้าง จำนวนLOB (lobe) และจำนวนแกรนูล (granule) ทำให้แสงเลเซอร์ที่ส่องผ่านเกิดการกระจายแสงออกทั้ง 4 มุม (0° , 10° , 90° และ 90° Depolarize) ไม่เท่ากัน

คุณสมบัติพิเศษของเครื่องนี้ คือ สามารถตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรียได้ โดยตรวจหามาลาเรียพิกเมนต์ (Malaria pigment) หรือ ฮีโมโซอิน (Haemozoin) ที่อยู่ในเม็ดโลหิตขาว ชนิดโมโนไซต์ ซึ่งพิกเมนต์จะทำให้เกิดการกระจายของแสงดีโพลาไรซ์เลเซอร์ เหมือนคุณสมบัติของเม็ดโลหิตขาวชนิดอีโอซิโนฟิล เมื่อมองจากกราฟ scatter plot ระหว่าง แกน x คือ Lobularity วัดการกระจายแสงที่มุม 90° กับ แกน y คือ Granularity วัดการกระจายแสงที่มุม 90° Depolarize จะปรากฏในบริเวณเดียวกับอีโอซิโนฟิล หรือบริเวณที่ค่า 90° depolarize signal มากกว่า 90° polarize signal (4) แต่มีสีม่วงซึ่งต่างจากสีเขียวของอีโอซิโนฟิล จะตัดสินใจว่าเป็นมาลาเรียเมื่อมีจุดสีม่วงนี้ตั้งแต่ 1 จุดขึ้นไป ดังรูปที่ 2

3) การวิเคราะห์ผล

นำผลการตรวจจากเครื่องวิเคราะห์โลหิตวิทยา มาเปรียบเทียบกับผลตรวจมาตรฐานจากกล้องจุลทรรศน์ โดยนำเข้าตาราง 2×2 จะได้ค่าผลการตรวจด้วยเครื่อง เป็นผลบวกจริง ผลลบจริง ผลบวกเท็จ ผลลบเท็จ ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำ (Accuracy) ของการตรวจวินิจฉัย แล้วนำมาคำนวณค่าความไว จากสูตร (จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกจริง) / (จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกจริง + จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบเท็จ) และค่าความจำเพาะ จากสูตร (จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบจริง) / (จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบจริง + จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกเท็จ) ทำให้ทราบประสิทธิภาพผลของเครื่องได้

ตลอดจนวิเคราะห์ผลของชนิดและความหนาแน่นเชื้อที่มีต่อค่าความไว โดยใช้โปรแกรม MS Excel และ SPSS ช่วยในการคำนวณและวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างโลหิตผู้มารับบริการใน มาลาเรียคลินิก 223 ราย (เป็นเพศชาย ร้อยละ 61.0 เพศหญิง ร้อยละ 39.0 มีอายุตั้งแต่ 18-67 ปี เฉลี่ย 32 ปี) เมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อ จำนวน 51 ราย คิดเป็นร้อยละ 22.9 ของตัวอย่างทั้งหมด โดยคิดเป็นสัดส่วนชนิดเชื้อ Pf ร้อยละ 66.7 Pv ร้อยละ 33.3 ของตัวอย่างพบเชื้อ โดยไม่พบเชื้อผสม หรือ *P. malariae* (Pm) หรือ *P. ovale* (Po) (ดังตารางที่ 1)

พบความหนาแน่นเชื้อมาลาเรียในเลือด ตั้งแต่ 39 - 196,522 ตัวต่อเลือดหนึ่งไมโครลิตร เฉลี่ย (geometric mean; GM) เท่ากับ 9,339 ตัวต่อไมโครลิตร เมื่อจำแนกตามชนิดเชื้อพบว่า *P. falciparum* (Pf) มีความหนาแน่นตั้งแต่ 39 - 196,522 ตัวต่อไมโครลิตร เฉลี่ย (GM) 14,314 ตัวต่อไมโครลิตร โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 5,001-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร คิดเป็นร้อยละ 58.8 ส่วนเชื้อ *P. vivax* (Pv) มีความหนาแน่นตั้งแต่ 114 - 22,547 ตัวต่อไมโครลิตร เฉลี่ย (GM) 3,976 ตัวต่อไมโครลิตร โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 501-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร และไม่พบเชื้อที่มีความหนาแน่นสูงกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์

ผลตรวจ	Negative (ผลลบ)	Pf	Pv	รวม
จำนวน (ราย)	172	34	17	223
ร้อยละ	77.1	15.3	7.6	100

ผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 ดังตารางที่ 2 พบว่า

- แบบ A คือ เมื่อนำโลหิต (Whole blood) ไปอ่านผลด้วยเครื่องเหมือนการปฏิบัติเป็นปกติ ในงานประจำของห้องปฏิบัติการ พบว่า ให้ผลลบ ทั้งสิ้น 177 ราย ซึ่งสูงกว่าที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์ และให้ผลบวก 46 ราย ซึ่งต่ำกว่าที่ตรวจพบจากกล้องจุลทรรศน์ เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นผลลบเท็จ จำนวน 22 ราย ส่วนผลบวกเท็จ พบ จำนวน 17 ราย

- แบบ B คือ เมื่อนำเฉพาะส่วน Leukocytes-rich plasma ไปอ่านผลด้วยเครื่อง พบว่า ให้ผลลบ ทั้งสิ้น 188 ราย ซึ่งยังคงสูงกว่าที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์ และให้ผลบวก 35 ราย ซึ่งต่ำกว่าที่ตรวจพบจากกล้องจุลทรรศน์เช่นเดียวกับแบบ A เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นผลลบเท็จ จำนวน 30 ราย ส่วนผลบวกเท็จ พบ จำนวน 14 ราย

- แบบ C คือ เมื่อนำเฉพาะเม็ดโลหิตขาวที่แยกได้จากโลหิต ไปอ่านผลด้วยเครื่อง พบว่า ให้ผลลบ ทั้งสิ้น 186 ราย และให้ผลบวก 37 ราย เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจจากกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นผลลบเท็จ จำนวน 27 ราย ส่วนผลบวกเท็จ พบ จำนวน 13 ราย

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา จากส่วนประกอบของโลหิต ที่แตกต่างกัน 3 แบบ

ผลตรวจ	แบบ A (Whole blood)		แบบ B (Leukocytes-rich plasma)		แบบ C (White Blood Cell)	
	จำนวน (ราย)	ร้อยละ	จำนวน (ราย)	ร้อยละ	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
Negative (ผลลบ)	177	79.4	188	84.3	186	83.4
Positive (ผลบวก)	46	20.6	35	15.7	37	16.6
รวม	223	100	223	100	223	100

ประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 เมื่อเทียบกับการกล้องจุลทรรศน์ (ตารางที่ 3) พบว่า ในภาพรวมการใช้เครื่องฯ ตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิต (แบบ A) มีค่าความไว ร้อยละ 57 ในขณะที่การตรวจหาเชื้อมาลาเรีย จาก Leukocytes-rich plasma และ WBC กลับมีค่าความไวลดลง ซึ่งไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ คือ ถ้าตัวอย่างทดสอบมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวมากขึ้น โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อมาลาเรียน่าจะมากขึ้นด้วย โดยหาวิธีเพิ่มปริมาณเม็ดโลหิตขาวก่อนนำมาอ่านผลด้วยเครื่องดังกล่าว น่าจะช่วยเพิ่มความไวของเครื่องในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียได้ เนื่องจากวิธีนี้จะขึ้นกับการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว (ชนิดที่มีพิกเมนต์ของเชื้อมาลาเรีย) ดังนั้นถ้ามีในปริมาณน้อย เครื่องอาจตรวจไม่พบ

อย่างไรก็ตามการตรวจหาเชื้อจาก WBC ก็ยังมีความไวสูงกว่าการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma

สำหรับความจำเพาะ ทั้ง 3 แบบ มีความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียสูงกว่าร้อยละ 90 โดยการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC มีความจำเพาะสูงกว่าการตรวจจาก Whole Blood เล็กน้อย

สำหรับค่า Kappa ซึ่งแสดงถึง ความเข้ากันได้กับวิธีมาตรฐานคือการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าจากการตรวจทั้ง 3 แบบ ค่า Kappa ไม่ถึงร้อยละ 50 โดยการตรวจจาก Whole blood ดีกว่าการตรวจจาก WBC และ Leukocytes-rich plasma ตามลำดับ

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา เมื่อใช้ส่วนประกอบของโลหิต แตกต่างกัน 3 แบบ (N = 223)

ค่า	แบบ A	แบบ B	แบบ C
ร้อยละความไว (95%CI*)	57 (45-67)	41(30-51)	47 (36-56)
ร้อยละความจำเพาะ (95%CI)	90 (87-93)	92 (87-95)	92 (89-95)
Kappa	0.487	0.371	0.437

* CI คือ ช่วงความเชื่อมั่น (Confidence Interval)

เมื่อเปรียบเทียบความไวในการตรวจหาเชื้อ มาลาเรียที่ระดับความหนาแน่นเชื้อแตกต่างกัน (ตารางที่ 4) พบว่า การตรวจหาเชื้อ Pf จากโลหิต (Whole blood) ความไวจะเพิ่มขึ้นถ้าความหนาแน่นของเชื้อมากขึ้น โดยมีความไวสูงถึงร้อยละ 83 เมื่อความหนาแน่นเชื้อมากกว่า 50,000 ตัว ต่อ ไมโครลิตร แต่ไม่สามารถตรวจหาเชื้อที่มีความหนาแน่นต่ำกว่า 500 ตัวต่อไมโครลิตรได้ ส่วนการตรวจหาเชื้อ Pf จาก Leukocytes-rich plasma และ WBC มีค่าความไวไม่ค่อยแตกต่างกัน แม้ว่าความหนา

แน่นของเชื้อเพิ่มขึ้น และค่าความไวที่ได้จากทั้งสองแบบนี้ จะต่ำกว่าที่ได้จากการตรวจหาเชื้อจาก Whole blood เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความหนาแน่นเชื้อเท่ากัน

สำหรับเชื้อ Pv ที่ความหนาแน่นเชื้อสูงกว่า 500 ตัวต่อไมโครลิตร พบว่าความไวจะเพิ่มขึ้นถ้าความหนาแน่นเชื้อมากขึ้น เมื่อตรวจหาเชื้อจาก Whole blood และ Leukocytes-rich plasma ส่วนการตรวจหาเชื้อจาก WBC พบว่า ค่าความไวไม่สัมพันธ์กับความหนาแน่นเชื้อ

ตารางที่ 4 ค่าความไวของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ที่ระดับความหนาแน่นเชื้อต่างๆ

ความหนาแน่น Pf (ตัวต่อไมโครลิตร)	N	ร้อยละ	ร้อยละความไว (95%CI)		
			แบบ A	แบบ B	แบบ C
< 500	2	6.0	0	0	50 (50-95)
501 – 5,000	6	17.6	33 (6.8-69)	0	0
5,001 – 50,000	20	58.8	60 (49-73)	60 (48-72)	45 (34-58)
50,000 – 200,000	6	17.6	83 (83-83)	50 (50-50)	50 (50-50)
ความหนาแน่น Pv					
< 500	1	6.0	100 (6.0-100)	0	100 (9.3-100)
501 – 5,000	8	47.0	50 (24-70)	25 (5.3-25)	62 (34-62)
5,001 – 50,000	8	47.0	62 (30-89)	50 (20-81)	62 (29-89)
50,000 – 200,000	-	-	-	-	-

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา CELL-DYN® 3500 ตรวจหาการติดเชื้อมาลาเรียจากโลหิตมีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 90 ซึ่งสอดคล้องกับหลายๆงานวิจัย แต่มีค่าความไวเพียงร้อยละ 57 ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาของ Mendelow และคณะ (1999)⁽⁴⁾ ที่ใช้เครื่อง CELL-DYN® 3500 ตรวจ

โลหิตผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียในประเทศแอฟริกาใต้ โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 72 ความจำเพาะร้อยละ 96 และต่ำกว่าการศึกษาของ Hanscheid และคณะ (2001)⁽⁵⁾ ที่ทำการศึกษาในประเทศโปรตุเกส โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 95 ความจำเพาะร้อยละ 88 แต่มีความไวสูงกว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Grobusch และ

คณะ (2003)⁽¹⁰⁾ ที่ใช้เครื่อง CELL-DYN® 3000 ตรวจโลหิตผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียในประเทศเยอรมัน โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 49 ความจำเพาะร้อยละ 96 Padiat และคณะ (2005)⁽⁶⁾ ทำการศึกษาที่ประเทศสเปน โดยใช้เครื่อง CELL-DYN® 4000 ตรวจโลหิตผู้ป่วยผิวดำชาวอานาที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรีย โดยพบว่าเครื่องมีความไวร้อยละ 72 ความจำเพาะร้อยละ 98 ซึ่งมีความไวความจำเพาะสูงกว่างานวิจัยนี้

แสดงให้เห็นว่าสำหรับประเทศไทยยังไม่สามารถนำเครื่อง CBC (Complete Blood Count) นี้ มาใช้ในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากโลหิต Whole blood ทดแทนการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ เนื่องจากมีความไวต่ำ อันอาจเนื่องมาจากปัจจัยด้านพันธุกรรม ระบบภูมิคุ้มกัน พยาธิสภาพและความรุนแรงของโรค ตลอดจน clearance kinetic ของเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื้อมาลาเรียที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มบุคคล^(4, 15) ที่จะช่วยส่งเสริมให้เม็ดโลหิตขาวจับกินเชื้อได้ดีขึ้น หรือ ตรวจพบเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื้อมาลาเรียได้มากขึ้น แต่อาจจะนำมาใช้ช่วยในการคัดกรองเบื้องต้น ระหว่างที่ใช้เครื่องสำหรับตรวจด้านโลหิตวิทยาเป็นงานประจำได้ เนื่องจากมีความจำเพาะสูง จึงน่าจะเหมาะสมในการตรวจผู้ที่ไม่มีอาการแสดง (Asymptomatic malaria case) หรือ unsuspected cases of malaria^(10, 16) เพื่อเป็นการเตือนให้ทราบว่าหากเครื่องตรวจพบเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื้อมาลาเรียอยู่ ควรจะต้องมีการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้ง

ในการใช้เครื่องดังกล่าว ตรวจหาเชื้อมาลาเรียจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC พบว่าทั้งสองแบบ มีค่าความไวลดลงเมื่อเทียบกับการตรวจปกติจากโลหิต Whole blood ซึ่งผลที่ได้

ไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ คือ ถ้าตัวอย่างทดสอบมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวมากขึ้น โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อมาลาเรียน่าจะมากขึ้นด้วย ความไวของเครื่องก็น่าจะเพิ่มขึ้นได้ แม้ว่าการตรวจจาก WBC มีความไว ร้อยละ 47 ซึ่งสูงกว่าการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma ที่มีความไว ร้อยละ 41 ก็ตาม ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Grobusch และคณะ (2003)⁽¹⁰⁾ ที่นำโลหิตผู้ป่วยมาลาเรียมาตรวจด้วยเครื่อง MoFlo cell sorter (Cytomation, Fort Collins, CA) ซึ่งเป็นเครื่อง flow cytometry แบบหนึ่ง ที่ถูกปรับให้ตรวจวัดการติดเชื้อมาลาเรียได้เหมือนเครื่อง CELL-DYN® 3000 โดยสามารถตรวจจับเม็ดโลหิตขาวได้ 150,000-500,000 เซลล์ ในขณะที่ CELL-DYN® 3000 ตรวจจับเม็ดโลหิตขาวได้ประมาณ 5,000-10,000 เซลล์ ซึ่ง Grobusch และคณะ พบว่า MoFlo cell sorter มีความไวในการตรวจหาเชื้อมาลาเรีย ถึงร้อยละ 90.6 ขณะที่ CELL-DYN® 3000 มีความไวเพียง ร้อยละ 49

สำหรับในการศึกษาวิจัยนี้ ยังไม่สามารถอธิบายได้แน่ชัดว่าเหตุใดการตรวจจาก Leukocytes-rich plasma และ WBC จึงมีความไวต่ำกว่าการตรวจจากโลหิต Whole blood ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าอาจจะเนื่องมาจากในโลหิตผู้ป่วยมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื้อมาลาเรียอยู่ (Pigment-containing WBC) มีน้อยตามธรรมชาติของผู้ป่วยมาลาเรียในประเทศไทยอยู่แล้ว แม้สกัดเอาเฉพาะเม็ดโลหิตขาวมาตรวจ แต่ปริมาณเม็ดโลหิตขาวที่มีพิกเมนต์เชื้อมาลาเรียอยู่ ก็ยังน้อยไม่เพียงพอที่จะตรวจพบได้ หรืออาจเนื่องจากการสูญเสียเม็ดโลหิตขาวไปบางส่วนในขั้นตอนของการแยกออกจากโลหิต ทำให้ปริมาณที่นำมาตรวจวัดน้อยเกินไป ในขณะที่การมีปริมาณเม็ดโลหิตขาวในตัวอย่างทดสอบมากขึ้น ไม่ค่อยส่งผลกระทบต่อค่าความจำเพาะ โดยทั้งสอง

แบบยังคงมีความจำเพาะสูงถึง ร้อยละ 92 เมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจหาเชื้อจากโลหิต กล่าวคือ ในคนที่ไม่เป็นมาลาเรีย เครื่องนี้จะให้ผลว่าเป็นมาลาเรีย (เกิดผลบวกเท็จว่าพบเชื้อ) ได้ประมาณ ร้อยละ 10 ดังนั้นถ้าจะใช้เครื่องนี้ในการคัดกรองผู้ป่วยระหว่างการตรวจ CBC เป็นงานประจำ ควรเลือกตรวจจากโลหิต เพราะช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการแยกเฉพาะ WBC ออกจากโลหิต

เมื่อพิจารณา ตามชนิดเชื้อ พบว่า เครื่องมีความไวในการตรวจหาเชื้อ Pv ได้ดีกว่าเชื้อ Pf โดยเฉพาะที่ความหนาแน่นเชื้อน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ Pv สามารถพบในกระแสโลหิตได้ทุกระยะ ทั้งระยะแบ่งตัว และระยะมีเพศ ซึ่งแต่ละระยะเชื้อมีการสร้างพิกเมนต์แล้ว ทำให้มีปริมาณพิกเมนต์ให้เม็ดโลหิตขาวสามารถจับกินได้มากด้วย

ผลของความหนาแน่นเชื้อต่อความไวของเครื่อง ในการตรวจหาเชื้อ Pf จากโลหิต Whole blood พบว่า ความไวจะเพิ่มขึ้นถ้าความหนาแน่นของเชื้อมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Padial และคณะ (2005) (6) เพียงแต่มีค่าความไวแตกต่างกันเล็กน้อย เช่น ที่ความหนาแน่น 5,000-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร มีความไวร้อยละ 67 ในขณะที่ในการศึกษานี้มีความไวร้อยละ 60 และตรวจได้แม่นยำขึ้นเมื่อเชื้อมีความหนาแน่นมากกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตร แต่ผลของความหนาแน่นเชื้อต่อความไวของเครื่องในการตรวจหาเชื้อ Pv จากโลหิต Leukocytes-rich plasma และ WBC ยังไม่เด่นชัด เนื่องจากพบเชื้อที่มีความหนาแน่นน้อยกว่า 500 ตัวต่อไมโครลิตร แต่ 1 ตัวอย่าง และไม่พบเชื้อที่ความหนาแน่นสูงกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตรเลย จึงไม่สามารถสรุปชี้ชัดได้ว่าความไวสัมพันธ์กับความหนาแน่นเชื้อ จะต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ สรุปว่าเครื่องมือนี้ ซึ่งปกติใช้ตรวจ CBC เป็นงานประจำ ไม่สามารถ

นำมาใช้ตรวจผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นมาลาเรียสำหรับประเทศไทยแทนการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ ถ้าจะนำมาใช้จริงในอนาคตอาจต้องมีการปรับปรุง software ของเครื่องให้เหมาะสมกับการตรวจมาลาเรีย เช่น ให้สามารถนำ WBC เข้าไปในเครื่องเพื่อตรวจวิเคราะห์ในปริมาณที่สูงกว่าระบบปกติ คือ สูงกว่า 10,000 เซลล์ เพื่อให้มีความไวเพิ่มขึ้นจากงานวิจัยนี้ หรือนำมาใช้เฉพาะบางพื้นที่ที่ส่วนใหญ่พบเชื้อที่ความหนาแน่นสูงกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตร หรือพัฒนาออกแบบเครื่องให้สามารถตรวจหาเม็ดโลหิตแดงที่มีเชื้อมาลาเรียอยู่ ซึ่งจะเป็นการตรวจโดยทางตรงมากกว่าการตรวจหาเม็ดโลหิตขาว

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนายสัมฤทธิ์ บุญเพ็ง หัวหน้าศูนย์ควบคุมโรคติดต่อไทยแมลงที่ 9.3 แม่สอด จ.ตาก และคณะเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้การสนับสนุนในการเก็บตัวอย่างโลหิตผู้ป่วย ที่มารับการรักษาในมาลาเรียคลินิกเป็นอย่างดี ขอขอบคุณ อาจารย์ไพศาล พักแพ และอาจารย์ปรานิต อุตตระภิญโญ ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกชนิดเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ช่วยในการอ่านยืนยันผลตรวจฟิล์มโลหิต

รวมถึงขอขอบพระคุณสำนักจัดการความรู้ คณะกรรมการจริยธรรมกรมควบคุมโรค ตลอดจนนายแพทย์จรัสพัฒน์ ศิริชัยสินธพ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินงาน ตลอดจนผู้เกี่ยวข้องทุกท่านจากศูนย์อบรมโรคติดต่อไทยแมลงและสำนักโรคติดต่อไทยแมลง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่างๆ จนโครงการสำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Wever PC, Henskens YMC, Kager PA, Dankert J and Gool T. Detection of imported malaria with the Cell-Dyn 4000 Hematology Analyzer. *J.Clin.Microbiol.* 2002; Dec: 4729-4731.
2. โพรระ อมกกุล. วิทยุณาการงานชันสูตรโรคมาลาเรีย. ใน: สมทัศน์ มะลิกุล, บรรณาธิการ. *มาลาเรียวิทยา* 2542. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 2543หน้า 77-87.
3. Monbrison F, Angei C, Staal A, Kaiser K and Picot S. Simultaneous identification of the four human *Plasmodium* species and quantification of *Plasmodium* DNA load in human blood by real-time polymerase chain reaction. *Trans.R.Soc. Trop.Med.Hyg.* 2003; 97: 387-390.
4. Mendelow BV, Lyons C, Nhlangothi P, Tana M, Munster M, Wypkema E, Liebowitz L, Marshall L, Scott S and Coetzer TL. Automated malaria detection by depolarization of laser light. *British Journal of Haematology.* 1999; 104: 499-503.
5. Hanscheid T, Melo-Cristino J and Pinto BG. Automated detection of malaria pigment in white blood cells or the diagnosis of malaria in Portugal. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 2001; 64(5, 6): 290-292.
6. Padial MM, Subirats M, Puente S, Lago M, Crespo S, Palacios G and Baquero M. Sensitivity of laser light depolarization analysis for detection of malaria in blood samples. *J.Med.Microbiol.* 2005; 54: 449-452.
7. Dromignya J, Jamboub R, Scottc CS and Perrier-Gros-Claudea J. Performance evaluation of automated depolarization analysis for detecting clinically unsuspected malaria in endemic countries. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.* 2005; 99(6) June: 430-439.
8. Josephine FP and Nissapatorn V. Malaria: The value of the automated depolarization analysis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2005; 36(suppl 4): 68-72.
9. Day NPJ, Diep PT, Ly PT Sinh DX, Loc PP, Chuong LV, Chau TTH, Mai NTH, Bethell DB, Phu NH, Hien TT, White NJ. Clearance kinetics of parasite- and pigment-containing leukocytes in severe malaria. *Blood.* 1996; 88: 4694-4700.
10. Grobusch MP, Hanscheid T, Kramer B, Neukammer J, May J, Seybold J, Kun J and Suttorp N. Sensitivity of hemozoin detection by automated flow cytometry in non- and semi-immune malaria patients. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry).* 2003; 55B: 46-51.
11. Abdalla SH. Leukocyte in Malaria. In: Abdalla SH and Pasvol G, editors. *Malaria: A Hematological Perspective.* London: Imperial College Press, 2004: 129-168.
12. Iqbal J, Khalid N and Hira PR. Comparison of two commercial assays with expert microscopy for confirmation of symptomatically diagnosed malaria. *J. Clin. Microbiol.* 2002; Dec: 4675-4678.
13. Palmer CJ, Bonilla JA, Bruckner DA, Barnett ED, Miller NS, Haseeb MA, Masci JR and Stauffer WM. Multicenter study to evaluate the OptiMAL test for rapid diagnosis of malaria in U.S Hospital. *J. Clin. Microbiol.* 2003; Nov: 5178-5182.
14. Ferrante A and Thong YH. Optimal conditions for simultaneous purification of mononuclear and polymorphonuclear leucocytes from human peripheral blood by the Ficoll-Hypaque method. *J.Immunol.Methods.* 1980; 36: 109.
15. Rathod DA, Patel V, Kaur AA, Patel VD and Patel DD. Diagnosis of acute malaria by laser based cell counter with comparison of conventional and recent techniques in Indian scenario. *Indian J Patho.Micro.* 2009; 52(2): 185-188.
16. Suh IB, Kim HJ, Kim JY, Lee SW, An SSA, Kim WJ and Lim CS. Evaluation of the abbott Cell-Dyn 4000 hematology analyzer for detection and therapeutic monitoring of Plasmodium vivax in the Republic of Korea. *Trop.Med.Inter. Health.* 2003; 8(12): 1074-1081.