5. วิจารณ์

การศึกษาการติดเชื้อ RSV ในการศึกษานี้พบผู้ป่วยในระยะเวลา 5 เดือนคือตั้งแต่เดือนสิงหาคม ถึงเดือนธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนต่อไปถึงฤดูหนาว ซึ่งเป็นระยะที่ฝนตกชุกในภาคใต้ ตรงกับการศึกษาในโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า[53] ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์[13] ที่โรงพยาบาลรามาธิบดี[02] และการศึกษาในประเทศที่มีอากาศเขตศูนย์สูตร เช่น ทรินิแดด (Trinidad)[17] พบว่ามีการระบาดในฤดูฝนเช่นเดียวกัน การศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าเชื้อนี้ระบาดในช่วงกลางฤดูหนาวไปจนถึงต้นฤดูใบไม้ผลิ ดังนั้นฤดูกาลน่าจะมีความสัมพันธ์กับการระบาดของเชื้อ RSV

การศึกษานี้เป็นที่น่าสังเกตุว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อ RSV มีสัดส่วนเพศชายมากกว่าเพศหญิงในสัดส่วน 1.8 ต่อ 1

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ RSV มีอายุเฉลี่ยน้อยกว่าผู้ที่มีอาการติดเชื้อของทางเดินหายใจแต่ตรวจไม่พบเชื้อ RSV การศึกษานี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 6 เดือน มีโอกาสติดเชื้อ RSV มากกว่ากลุ่มที่อายุเกิน 6 เดือน ตรงกับการศึกษาอื่นๆ ในประเทศไทย ได้แก่ที่โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า[53] โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์[13] และที่โรงพยาบาลรามาธิบดี[15,02] ซึ่งให้ข้อมูลตรงกันว่า RSV เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อทางเดินหายใจในเด็กอายุน้อย

อาการและอาการแสดงทางคลินิกของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ RSV มีความรุนแรงจนมารดาหรือผู้ดูแลสังเกตุได้ว่าเด็กมีอาการหอบรุนแรงจนหน้าอกบุ๋มมากกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบเชื้อ RSV แสดงว่า RSV เป็นเชื้อก่อโรคติดเชื้อทางเดินหายใจอักเสบที่สำคัญและรุนแรงในเด็กเล็กซึ่งควรจะได้รับการสนใจและหาแนวทางรักษาและป้องกันที่เหมาะสม

ภาพถ่ายทางรังสีทรวงอกของผู้ติดเชื้อ RSV พบว่าร้อยละ 37.9 มีลักษณะเป็น pathcy infiltration หรือ lobar infiltration ซึ่งเป็นลักษณะที่มักจะพบในการติดเชื้อจากแบคทีเรีย ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อ RSV จะทำให้ภาพถ่ายรังสีทรวงอกคล้ายคลึงกับผู้ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียหรือผู้ป่วยเหล่านั้น

อาจมีการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน การศึกษานี้พบผู้ป่วยติดเชื้อ *Haemophilus influenza* ในกระแสเลือดร่วมด้วย 1 ราย และการศึกษานี้ไม่ได้หาเชื้อก่อโรคกลุ่มแบคทีเรียในผู้ป่วยทุกราย จึงน่าจะมีการศึกษาในรายละเอียดต่อไป

การศึกษาเกี่ยวกับวินิจฉัย RSV ทางห้องปฏิบัติการมีข้อดีและข้อเสียของวิธีต่างๆ สรุปไว้ในตาราง ก ของภาคผนวก 1 [11,12,20,46-48,54-61] มีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการวินิจฉัยอย่างแพร่หลาย เพื่อจะหาวิธีที่มีความไวและมีความจำเพาะสูง ส่วนมากนิยมการย้อมสิ่งส่งตรวจด้วย fluorescent antibody [11-12] การเพาะเลี้ยงเซลล์โดยใช้ HEp-2 ด้วยวิธี shell vial technique ให้ค่าความไวร้อยละ 100 เมื่อใช้วิธีดั้งเดิมให้ค่าความไวเพียงร้อยละ 71 ส่วนค่าความจำเพาะสูงเท่ากับร้อยละ 100 นอกจากนี้ยังสามารถรายงานผลได้ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่าวิธีดั้งเดิมที่ต้องใช้เวลาหลายวันกว่าจะเกิด CPE [10] การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบการตรวจหา RSV ที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน 2 วิธี คือ การตรวจหาเชื้อจากสิ่งส่งตรวจด้วยวิธี direct fluorescent antiboody และ วิธีการเลี้ยงด้วย shell vial พบว่าวิธีการตรวจหาเชื้อด้วยวิธี direct fluorescent antibody มีความไวเท่ากับร้อยละ 81.5 และมีความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 99.1 ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูงวิธีหนึ่งซึ่งเหมาะที่จะใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อ RSV เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อย วิธีการตรวจไม่ยุ่งยาก สามารถทราบผลการตรวจได้ภายในวันที่ส่งตรวจ แต่ข้อควรระวังสำหรับวิธีนี้คือ อาจเกิดผลลบปลอมได้จากการเก็บตัวอย่างตรวจที่ไม่ได้เซลล์เยื่อบุผิวมากพอ ซึ่งในการเก็บตัวอย่างตรวจที่ดีต้องใช้ nasopharyngeal aspiration เพื่อให้ได้เซลล์ที่มากพอและเป็นบริเวณที่ไวรัสเจริญเพิ่มจำนวน ในการอ่านผลต้องตรวจดูจำนวนเซลล์ที่อยู่บนสไลด์ว่ามีจำนวนเซลล์เยื่อบุผิวมากพอหรือไม่ถ้ามีน้อยต้องขอให้เก็บสิ่งส่งตรวจใหม่ ดังนั้นการอ่านผลต้องอาศัยผู้ชำนาญในการอ่านผลเนื่องจากเซลล์ที่เก็บได้ในสิ่งส่งตรวจจะมีเซลล์หลายชนิดปะปนกัน การย้อมในแต่ละครั้งอาจพบมีเซลล์บางชนิดเรืองแสงแบบไม่เฉพาะ (non specific fluorescent) จึงอาจทำให้อ่านผลเป็นผลบวกปลอมได้

สำหรับวิธี shell vial เป็นวิธีเพาะแยกเชื้อที่มีการประยุกต์ให้มีความไว ความจำเพาะและความรวดเร็วในการตรวจพบเชื้อ RSV หลังการเพาะเชื้อ 16-18 ชม. มีผู้รายงานว่าโดยวิธีนี้จะทำให้การเพาะแยกเชื้อมีความไวในการพบเชื้อ RSV มากกว่าวิธีการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีดั้งเดิมถึงร้อยละ 19 [63] ดังนั้นวิธี shell vial จึงเหมาะที่จะใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ RSV ในห้องปฏิบัติการที่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจพบเชื้อนี้ สำหรับโรงพยาบาลทั่วไปที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ก็สามารถใช้วิธี direct fluorescent antibody ในการวินิจฉัยการติดเชื้อ RSV ได้ ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูงเช่นกัน

องค์การอนามัยโลกส่งเสริมให้เห็นความสำคัญของการเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ และการผลิตวัคซีนที่มีประสิทธิภาพดี ดังนั้นการศึกษาเฝ้าระวังโรคนี้จึงมีทั่วโลก ในบางครั้งพบว่ามีการระบาดใหญ่ทั่วโลกได้ (pandemic) บางครั้งอาจมีการระบาดเฉพาะที่หรือเฉพาะประเทศ [8,17] ในประเทศไทย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มักจะแยกเชื้อไข้หวัดใหญ่ได้ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคมของทุกปี [2] การศึกษานี้เริ่มพบเชื้อไข้หวัดใหญ่ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงระบาดของเชื้อนี้เกือบทุกปี ชนิดของเชื้อส่วนใหญ่ร้อยละ 93 เป็นไข้หวัดใหญ่ชนิด A ตรงกับข้อมูลการเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่

ของสามสถาบันได้แก่ สถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร จึงพบว่าการระบาดของไข้หวัดใหญ่ในประเทศไทยส่วนเกิดจากไข้หวัดใหญ่ชนิด A ทั้งสิ้น[3] ดังตาราง ข ในภาคผนวก 1 การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ให้ประวัติว่ามีบุคคลในบ้านมีอาการติดเชื้อของทางเดินหายใจคล้ายกับผู้ป่วย ซึ่งเป็นข้อมูลสนับสนุนทางอ้อมถึงการระบาดของโรคไข้หวัดใหญ่ในชุมชนในช่วงเวลาดังกล่าว

การศึกษาวิธีวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาเชื้อไข้หวัดใหญ่มีหลายวิธีดังแสดงในตาราง ค ในภาคผนวก 1 [11-12,19-21,29-35] ซึ่งเปรียบเทียบให้เห็น ข้อดีข้อเสียของวิธีการต่างๆ สำหรับการแยกเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่โดยการเพาะเลี้ยงในเซลล์ MDCK ด้วยวิธี shell vial เป็นวิธีที่ได้ผลเร็วกว่าวิธีดั้งเดิมคือ 24 ชั่วโมงและ 4 วัน ตามลำดับ มีค่าความจำเพาะสูงเท่ากับร้อยละ 100 [31,32] แต่มีค่าความไวน้อยกว่าคือ ร้อยละ 60[31] และ 84[32] ของวิธีดั้งเดิม ดังนั้นวิธีนี้น่าจะนำมาใช้ในกรณีที่ต้องการทราบผลเร็ว เพื่อจะได้ให้การป้องกันการระบาดของโรคและให้การรักษาที่ทันท่วงที ตลอดจนประหยัดเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

การศึกษานี้ได้ทำการเปรียบเทียบการตรวจหา influenza virus จากสิ่งส่งตรวจ 3 วิธีด้วยกันคือ วิธี direct fluorescent antibody, การเพาะแยกเชื้อด้วยวิธีดั้งเดิมและการเพาะแยกเชื้อด้วยวิธี shell vial เมื่อเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของวิธีตรวจทั้ง 3 วิธีนี้พบว่าความไวและความจำเพาะของวิธีเพาะแยกด้วย shell vial เท่ากับร้อยละ 100 และ100 วิธีเพาะแยกด้วยวิธีดั้งเดิมร้อยละ 87 และ 100 และด้วยวิธี ร้อยละ 12.8 และ 99.6 ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่าวิธี shell vial มีความไวและความจำเพาะสูงกว่าวิธีอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยในหลายรายงานเช่น งานวิจัยของ Stokes CE และคณะ[32] พบว่าวิธี shell vial มีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 84 และ 100 ในขณะที่ด้วยวิธี direct fluorescent antibody มีความไวเท่ากับร้อยละ 38 และมีความจำเพาะร้อยละ 91 งานวิจัยของ Reina J และคณะ[64] พบว่าวิธี shell vial เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี DFA แล้วมีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 100, 100 และ 59.3, 100 ตามลำดับ งานวิจัยของ Marcante R และคณะ[65] ได้เปรียบเทียบความไวในการตรวจหาปริมาณของ influenza virus ไวรัสโดยใช้เชื้อจาก stock culture พบว่าโดยวิธี shell vial สามารถตรวจพบ influenza virus ได้ไวกว่าการตรวจด้วยวิธี DFA ถึง 5 เท่า

ปัจจัยที่มีผลทำให้การตรวจหา influenza virus ในสิ่งส่งตรวจด้วยวิธี shell virus มีความไวสูงหรือต่ำขึ้นกับปัจจัยหลัก 3 ปัจจัยด้วยกันคือ วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจ, monoclonal antibody และเซลล์เพาะเลี้ยงที่เลือกใช้ การเก็บสิ่งส่งตรวจสำหรับเพาะแยกเชื้อ influenza virus นั้น จากการศึกษานี้พบว่าการใช้ nasopharyngeal aspiration หรือการใช้ nasal swab ให้ผลไม่แตกต่างกันดังนั้นสามารถเลือกเก็บวิธีไหนก็ได้ สำหรับเซลล์เพาะเลี้ยงจะมีความสำคัญมากเนื่องจาก influenza virus มีความสามารถในการติดเชื้อในเซลล์แต่ละชนิดไม่เท่ากันสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ผู้วิจัยได้เลือกใช้เซลล์ Madin Darby canine kidney cells (MDCK) เป็นเซลล์เพาะแยกไวรัสซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความไวสูงในการเพาะแยกเชื้อ influenza virus ดังรายงานของ Reina J และคณะ[66] ได้เปรียบเทียบเซลล์เพาะแยกเชื้อ influenza virus

ด้วยวิธี shell vial พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด MDCK, Vero cell, MRC-5 ให้ความไวในการตรวจพบไวรัสเท่ากับร้อยละ 100, 71.4 และ 57.1 ตามลำดับ

ปัจจัยที่มีความสำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ monoclonal antibody ที่เลือกใช้พบว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ความไวของการตรวจด้วยวิธีนี้มีมากน้อยเพียงใด ดังจะเห็นได้จากในรายงานแรกๆ ของการใช้วิธีนี้ในการตรวจจะพบว่ามีความไวในการตรวจน้อยกว่าวิธีดั้งเดิม[31,32] แต่ในรายงานต่อมาพบว่าวิธี shell vial จะมีความไวมากกว่าวิธีเพาะแยกแบบดั้งเดิมทั้งสิ้น[64,65] ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าวิธี shell vial มีความไวมากกว่าเพาะแยกแบบดั้งเดิมเช่นกัน

สำหรับวิธี DFA นั้น ปัจจัยที่มีผลทำให้วิธี DFA มีความไวต่ำกว่าวิธีอื่น นอกจากความด้อยกว่าในความสามารถด้วยวิธีการตรวจเองแล้วสิ่งส่งตรวจจะเป็นปัจจัยสำคัญอย่างมากที่จะทำให้การตรวจด้วยวิธี IFA มีความไวเพิ่มขึ้นส่วนใหญ่สิ่งส่งตรวจที่เก็บได้มักจะได้เซลล์ที่ไม่มากพอทำให้การตรวจด้วยวิธีนี้มีผลลบปลอมสูงมาก ดังนั้นถ้าสิ่งส่งตรวจในตัวอย่างใดเก็บได้เซลล์ไม่มากพอต้องขอเก็บสิ่งส่งตรวจใหม่เพื่อการวินิจฉัยที่ถูกต้อง

สำหรับการวินิจฉัยการติดเชื้อ influenza virus ในปัจจุบันได้มีรายงานวิธีการตรวจใหม่ๆ หลายวิธีด้วยกันเช่น วิธี Dot-blot emzyme immuno assay[64] เป็นวิธีที่มีความสะดวกในการทำ มีความไวมากกว่า DFA แต่น้อยกว่าวิธี shell vial คือมีความไวร้อยละ 84.7, 35 และ 100 ตามลำดับ วิธี ELISA ก็เป็อีกวิธีหนึ่งซึ่งมีความสะดวกในการทำการทดสอบแต่ความไวในการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี shellvial พบเพียงร้อยละ 42.8 อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังคงต้องการการทดสอบเพื่อพัฒนาความไวของการทดสอบเพิ่มขึ้นต่อไป Preqliasco F และคณะ[67] ได้รายงานการใช้วิธี RT-PCR ในการวินิจฉัยการติดเชื้อ influenza virus พบว่าวิธีนี้มีความไวในการตรวจพบ influenza virus มากกว่าวิธี shell vial นั่นคือเมื่อให้วิธี RT-PCR มีค่าความไวเท่ากับร้อยละ 100 วิธี shell vial จะมีความไวเท่ากับร้อยละ 77.5 อย่างไรก็ตามวิธี RT-PCR แม้จะเป็นวิธีที่มีความไวสูงแต่ก็มีข้อจำกัดที่ต้องใช้ห้องปฏิบัติการทางด้าน Molecular biology และยังมีรายงานสนับสนุนค่อนข้างน้อย ดังนั้นสำหรับการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ influenza virus วิธีที่มีความไวความจำเพาะสูง มีวิธีการทำไม่ยุ่งยากและมีความรวดเร็วในการวินิจฉัยการติดเชื้อนี้คือวิธีเพาะแยกเชื้อด้วยวิธี shell vial การเพาะแยกเชื้อนั้นนอกจากจะใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อแล้วยังสามารถเก็บเชื้อที่แยกได้นี้ไปทำการศึกษาวิจัยอย่างอื่นต่อไปได้โดยเฉพาะในแง่ของการทำ vacine เนื่องจาก influenza virus จะมีการเปลี่ยนแปลง antigenic ค่อนข้างง่ายกว่าไวรัสชนิดอื่นๆนอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีรายงานการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงหลายชนิด(HEP-2, LLC-MK2 และ MDCK) เพาะเลี้ยงรวมกันใน vial เดียว เพื่อใช้แยกเพาะเชื้อไวรัสทางเดินหายใจทำให้สามารถวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสทางเดินหายใจได้หลายชนิดโดยการใช้ shell vial เพียง 1 vialเท่านั้น[68] แต่อย่างไรก็ตามการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงหลายๆชนิดใน vial เดียว นี้ยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนงานวิจัยนี้