# การศึกษาเพื่อหาแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับตรวจภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ โดยการทดสอบทางผิวหนังในประชากรไทย

นาย กฤตเตโช สิริภัสสร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4315-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

IDENTIFICATION OF ANTIGENS APPROPIATE FOR THE ASSESSMENT OF DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY SKIN TEST IN THAI POPULATION

Mr. Krittaecho Siripassorn

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic year 2003
ISBN 974-17-4315-7

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | การศึกษาเพื่อหาแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับตรวจภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์โดยการทดสอบทางผิวหนังในประชากรไทย |
| โดย | นาย กฤตเตโช สิริภัสสร |
| สาขาวิชา | อายุรศาสตร์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม |
| อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม | รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ปรียาจิต เจริญวงศ์ |

---

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

........................................................ คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

........................................................ ประธานกรรมการ

(อาจารย์ นายแพทย์ สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์)

........................................................ อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม)

........................................................ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ปรียาจิต เจริญวงศ์)

........................................................ กรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิชัย จิตะพันธ์กุล)

........................................................ กรรมการ

(อาจารย์ วีนัส อุดมประเสริฐกุล)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กฤตเตโช สิริภัสสร : การศึกษาเพื่อหาแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับตรวจภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์โดยการทดสอบทางผิวหนังในประชากรไทย (IDENTIFICATION OF ANTIGENS APPROPIATE FOR THE ASSESSMENT OF DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY SKIN TEST IN THAI POPULATION) อ. ที่ปรึกษา : รศ. นพ. เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม; 71 หน้า. ISBN 974-17-4315-7.

การตรวจ Delayed-type hypersensitivity (DTH) skin test เป็นการทดสอบทางคลินิกเพื่อดูการทำงานของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ (Cell mediated immunity) ในร่างกาย วิธีที่ใช้ทดสอบในสมัยก่อนคือ Multitest-CMI system ซึ่งได้เลิกการผลิตไปแล้ว จึงทำให้มีปัญหาในการเลือกแอนติเจนที่จะนำมาทดสอบ การวิจัยนี้ศึกษาถึงการตอบสนองต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DTH skin test ในการวิจัยนี้จะทำตามวิธี Mantoux method อ่านผลการทดสอบที่ 48 ชั่วโมงโดยการวัดขนาดของ Induration ที่เกิดขึ้น ถ้าหากมีขนาดใหญ่กว่า 5 มม. ถือว่าเป็นผลบวก แอนติเจนที่ใช้ ได้แก่ PPD-TRC, *C. albicans* extract, Tetanus toxoid, *T. mentagrophytes* extract และ Hepatitis B vaccine ส่วน Negative control คือ NSS

อาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษา 95 คนเป็นเจ้าหน้าที่ใน ร.พ.จุฬาลงกรณ์ อายุเฉลี่ย 44.1 $\pm$ 10.1 ปี เป็นเพศหญิง 59% และ 48.4% ของประชากรตัวอย่างเป็นบุคคลากรทางการแพทย์ ผลการศึกษาพบว่า ประชากรตัวอย่างทุกคนตอบสนองต่อแอนติเจนอย่างน้อย 1 ตัว อัตราการตอบสนองต่อแอนติเจน พบว่า *C. albicans* extract ให้ผลบวกมากที่สุด (92.6%) รองลงมาคือ Tetanus toxoid (83.2%), PPD (82.1%), *T. mentagrophytes* extract (50.5%) และ Hepatitis B vaccine (5.3%) ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองได้แก่ บุคคลากรทางการแพทย์ (PPD), เพศชาย (*T. mentagrophytes* extract) และ ประวัติการฉีดวัคซีนป้องกันบาดทะยัก (Tetanus toxoid) ผลข้างเคียงเกิดขึ้นพบได้ประมาณ 58.9% ส่วนใหญ่อาการไม่รุนแรง จากการศึกษาวิจัยนี้พบว่า แอนติเจนที่เหมาะสมที่จะนำไปทดสอบ DTH skin test คือ PPD, Tetanus toxoid และ *C. albicans* extract และควรเลือกใช้แอนติเจนทั้ง 3 ชนิดในการทดสอบ ซึ่งจะให้ผลบวกอย่างน้อย 1 แอนติเจนเท่ากับ 100% ให้ผลบวกอย่างน้อย 2 แอนติเจนเท่ากับ 96.8% ถ้าหากใช้เพียง PPD-TRC ร่วมกับ Tetanus toxoid ซึ่งจะให้ผลบวก อย่างน้อย 1 แอนติเจนเท่ากับ 100% ให้ผลบวก 2 แอนติเจนเท่ากับ 68.4%

ในการทดสอบ DTH skin test ในประชากรไทยควรทำการทดสอบด้วยแอนติเจนพร้อมกัน 3 ตัว ประกอบด้วย PPD, Tetanus toxoid และ C. albicans extract ถ้าหากไม่สามารถหา C. albicans extract มาทำการทดสอบได้ อาจใช้ PPD-TRC ร่วมกับ Tetanus toxoid แทนได้ แต่ก็ทำให้มีความไวในการทดสอบลดลง

| | |
|---|---|
| ภาควิชา อายุรศาสตร์ | ลายมือชื่อนิสิต |
| สาขาวิชา อายุรศาสตร์ | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา |
| ปีการศึกษา 2546 | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม |

##4575301930 : MAJOR MEDICINE (ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY)
KEY WORDS : DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY SKIN TEST / ANTIGENS

KRITTAECHO SIRIPASSORN : IDENTIFICATION OF ANTIGENS APPROPIATE FOR THE ASSESSMENT OF DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY SKIN TEST IN THAI POPULATION. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KIAT RUXRUNGTHAM, M.D. 71 pp. ISBN 974-17-4315-7.

Delayed-type hypersensitivity (DTH) skin test is a standard diagnostic tool for monitoring function of cell mediated immunity (CMI). Multitest-CMI system which was a standard tool for measurement of DTH, is now obsolete. Then appropriate antigen for the test is problematic, particularly in Thai patients. This study was designed to determine the antigens that appropriate for assessment of DTH skin test. DTH skin tests were done by Mantoux method and results were measured at 48 hours after DTH skin tests. Positive DTH skin test was determined by induration size of more than 5 mm. The antigens were PPD, *C. albicans* extract, Tetanus toxoid, *T. mentagrophytes* extract and Hepatitis B vaccine. The negative control was Normal saline.

There were 95 healthy volunteers from Chulalongkorn Memorial Hospital participated in this study. Their mean age was 44±10.1 years. Of the 95 volunteers, 59% were female and 48.4% were health care personnel. The education was grade VI or lower for 36.8%. We found that all volunteers responded to at least one type of antigens. *C. albicans* extract caused reactions in 92.6% of population, Tetanus toxoid for 83.2%, PPD for 82.1%, *T. mentagrophytes* extract for 50.5%, and Hepatitis B vaccine for 5.3%. The important factors that influenced DTH skin test's responses were health care personnel (PPD), Male sex (*T. mentagrophytes* extract) and history of tetanus vaccination (Tetanus toxoid). Side effects were found in 58.9% of the populations but most of them were not serious. Results of this study showed that appropriate antigens for DTH skin test were PPD-TRC, Tetanus toxoid and *C. albicans* extract. When these 3 antigens were used, 100% positive reactions to at least one antigen and 96.8% had positive reactions to at least two antigens. If only 2 antigens: PPD-TRC and Tetanus toxoid, these two antigens showed 100% positive reactions to at least 1 antigen and 68.4% to both antigens.

This study suggests that 3 antigens: PPD-TRC, Tetanus toxoid and *C. albicans* extract are suitable to be included in evaluating DTH skin test among Thai. In a setting that *C. albicans* extract is not available, testing with only 2 antigens: PPD-TRC and Tetanus toxoid may be used. However, this will be associated with a lower sensitivity.

| | |
|---|---|
| Department Medicine | Student's signature |
| Field of study Medicine | Advisor's signature |
| Academic year 2003 | Co-advisor's signature |

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ก็ด้วยความอนุเคราะห์เป็นอย่างยิ่ง ของ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาแนะนำแนวทาง ข้อคิดเห็น การวิเคราะห์ และนำเสนอข้อมูล และขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ปรียาจิต เจริญวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัย การขอทุนวิจัย และ การหาอาสาสมัครเข้าร่วมวิจัย

ขอขอบคุณแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่พิจารณาให้ทุนวิจัยนายแพทย์ ปราเสริฐ ปราสาททองโอสถ เพื่อนำมาใช้จ่ายในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพยาบาล โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของหน่วยโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันวิทยาทางคลินิกที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยมาโดยตลอด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | จ |
| กิตติกรรมประกาศ | ฉ |
| สารบัญ | ช |
| สารบัญตาราง | ญ |
| สารบัญรูปและแผนภูมิ | ฎ |
| บทที่ | |
| 1. บทนำ | 1 |
| ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย | 1 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 1 |
| สมมติฐานการวิจัย | 1 |
| กรอบแนวความคิดในการวิจัย | 2 |
| รูปแบบการวิจัย | 2 |
| ขอบเขตของการวิจัย | 2 |
| การดำเนินการวิจัยโดยย่อ | 2 |
| วิธีวิเคราะห์ผล | 3 |
| คำสำคัญ (Keyword) | 3 |
| ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย | 3 |
| 2. การตรวจการทำงานของ Cell-mediated Immunity | 4 |
| Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test(DTH skin test) | 6 |
| Dinitrochlorbenzene (DNCB) | 7 |
| Lymphocyte proliferation assay | 7 |
| 3. Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test | 9 |
| ข้อบ่งชี้ในการตรวจ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test | 9 |
| เทคนิควิธีการทำ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test | 10 |

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

การเลือกแอนติเจนใน Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test…… 11
การแปลผลการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test……. 13
ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test... 15
ผลข้างเคียงจากการตรวจ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test.. 18
4. วัสดุและวิธีการ………………………………………………………………… 19
ประชากร (Population) และตัวอย่าง (Sample)………………………….. 19
การคำนวณขนาดตัวอย่าง…………………………………………………. 20
การสังเกตและการวัด (Observation & Measurement)………………….. 20
วิธีการ หรือ สิ่งแทรกแซง (Intervention)…………………………………... 22
การรวบรวมข้อมูล………………………………………………………….. 23
การวิเคราะห์ข้อมูล…………………………………………………………. 23
ปัญหาทางจริยธรรม……………………………………………………….. 24
5. ผลการวิจัย……………………………………………………………………….. 25
ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง……………………………………….. 25
ผลการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test…………….. 26
ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test………. 29
ผลแทรกซ้อนจากการทำ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test…... 37
6. อภิปรายผลการวิจัย………………………………………………… 40
ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง……………………………………….. 40
ผลการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test…………….. 40
ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test………. 46
ผลแทรกซ้อนจากการทำ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test...... 47
การเลือกแอนติเจนที่จะนำมาใช้ทดสอบ…………………………………... 50

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า


7. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ........ 56

สรุปผลการวิจัย........ 56

ข้อเสนอแนะ........ 56

รายการอ้างอิง........ 57

ภาคผนวก

ก. ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Consent Form)........ 62

ข. แบบสอบถาม........ 64

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์........ 69


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า


1. แสดงการเปรียบเทียบการตรวจการทำงานของ Cell-mediated immunity……..… 8
2. แสดงความเข้มข้นของแอนติเจนชนิดต่าง ๆที่ใช้ในการทดสอบ DTH Skin Test..... 12
3. Criteria for Clinically Relevant "Positive" Tuberculin DTH Skin Testing……. 14
4. เปรียบเทียบผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test จากงานวิจัยต่าง ๆ ในอดีต........................................................................................ 16
5. แสดงข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง……………………………………….. 26
6. แสดงผลการตอบสนองของอาสาสมัครที่มีผลบวกจาก DTH skin test แยกตามจำนวนแอนติเจนที่ใช้ทดสอบ ........................................................................ 27
7. แสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย PPD………………………………………………..….. 29
8. แสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย *C. albicans* extract ……………………………… 30
9. แสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย *T. mentagrophytes* extract …………………….. 31
10. ตารางแสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย Tetanus toxoid ……………………….……... 32
11. แสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย Hepatitis B vaccine ………………………………... 33
12. แสดงค่า p value จาก Univariate Analysis ระหว่างปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อ DTH skin test.......................................................................................................... 34
13. แสดงผลการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนองของแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เมื่อทำ Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อวิเคราะห์แบบ Multi-covariate analysis ................................................................................ 35

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

14. แสดงผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test............ 39
15. แสดงการเปรียบเทียบผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test จากการวิจัยในอดีต และจากผลการวิจัยนี้............ 44
16. แสดงข้อมูลของผลการทดสอบ DTH skin test เฉพาะผู้ที่มี type I hypersensitivity reaction ร่วมด้วย............ 49
17. เปรียบเทียบราคาของแอนติเจนแต่ละชนิดต่อการทดสอบ DTH skin test หนึ่งครั้ง............ 50

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญรูปและแผนภูมิ

ภาพประกอบที่ หน้า


1. รูปแสดงการทำงานของ Cell-mediated immunity ……………………………….. 5
2. รูปแสดงการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วยวิธี Mantoux method…………………………………………………………………………….. 10
3. รูปแสดง Ball-point pen method ……………………………………………… 13
4. แผนภูมิแสดงผลการทดสอบ DTH skin test เป็นร้อยละ แยกตามแอนติเจนชนิดต่าง ๆ …………………………………………………………………………… 27
5.1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration ที่เกิดแอนติเจนแต่ละชนิดของประชากรตัวอย่างทุกคน ………………………………… 28
5.2 กราฟแสดงการเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration ที่เกิดจากแอนติเจนแต่ละชนิด เฉพาะประชากรตัวอย่างที่มีผล DTH skin test เป็นบวก….. ……………………………………………………………………….... 28
6. แผนภูมิแท่งแสดงผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทำ DTH skin test……………….. 41
7. รูปแสดงผลข้างเคียงชนิด Type I Hypersensitivity ที่เกิดขึ้น……………………… 42
8. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test จากการวิจัยในอดีต และจากผลการวิจัย……………………………….. 45
9. แผนภูมิแท่งแสดงอัตราการตอบสนอง DTH skin test และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทดสอบด้วยแอนติเจนแต่ละชนิด……………………………………… 53
10. แผนภูมิแท่งแสดงอัตราการตอบสนอง DTH skin test และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นหากเลือกใช้แอนติเจนครั้งละ 2 ตัว……………………………………………………. 54
11. แผนภูมิแท่งแสดงอัตราการตอบสนอง DTH skin test และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นหากเลือกใช้แอนติเจนครั้งละ 3 ตัว……………………………………………………. 55


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

การตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test เป็นการทดสอบทางผิวหนังโดยการฉีดแอนติเจนไปในชั้น intradermal ปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ทางคลินิกโดยนำมาทดสอบดูความผิดปกติทางภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ (Cell Mediated Immunity) เช่น ในผู้ป่วยมะเร็งบางราย หรือ ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อซ้ำซ้อน นอกจากนี้แล้วอาจช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อบางชนิด เช่น วัณโรค เป็นต้น

เดิมการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test ที่เป็นมาตรฐานนั้นใช้การตรวจด้วยวิธี Multitest-Cell-Mediated Immunity system (Aventis Pasteur, Swiftwater, PA)[1, 2] ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกในการใช้ทดสอบ แต่เนื่องจากการผลิตนั้นมีค่าใช้จ่ายในการ maintainance สูง แต่มีปริมาณการใช้น้อย ทำให้บริษัทผู้ผลิตได้เลิกทำการผลิตไปในที่สุด[1]

ปัจจุบันการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test เพื่อทดสอบดูความผิดปกติทางภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ (Cell Mediated Immunity) มักทำตามวิธีของ Mantoux[1, 3-6] แต่อย่างไรก็ดียังมีปัญหาเกี่ยวกับการเลือกแอนติเจนที่ใช้การทดสอบในแง่ของ ชนิด ปริมาณความเข้มข้น และจำนวนของแอนติเจนที่เหมาะสม ทั้งนี้การที่ประชากรในแต่ละแห่งมีการตอบสนองต่อแอนติเจนแต่ละตัวแตกต่างกัน[6, 7] และยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ในคนไทยมาก่อน ดังนั้นอาจทำให้มีปัญหาในการแปลผลการทดสอบได้ในผู้ป่วยบางราย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลตอบสนองต่อแอนติเจนโดยการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ในเจ้าหน้าที่ใน รพ. จุฬาลงกรณ์ ซึ่งผลการศึกษาที่ได้นี้อาจนำไปใช้เป็นประโยชน์ในการตรวจและแปลผล Delayed-type hypersensitivity skin test ในผู้ป่วย และเป็นแนวทางเพื่อการศึกษาวิจัยในคนไทยต่อไป

## 2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

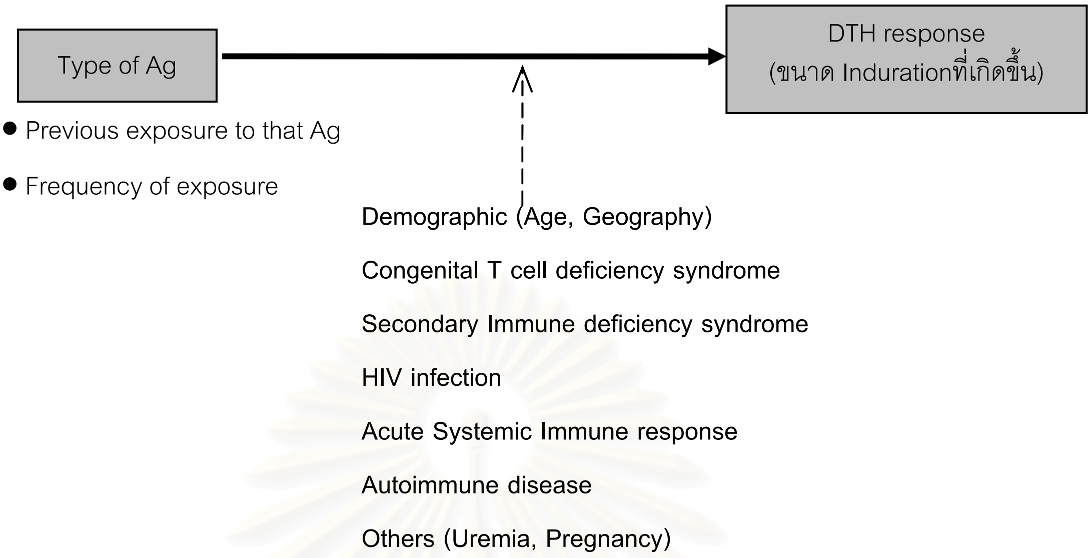
เพื่อศึกษาการตอบสนองทางผิวหนังเมื่อทำการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วยแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ในเจ้าหน้าที่ใน รพ. จุฬาลงกรณ์

## 3. สมมติฐานการวิจัย

ผลการทดสอบทางผิวหนัง Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วยแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ในประชากรที่มี Cellular Immunity ปกติ จะมีอัตราการตอบสนองที่แตกต่างกันออกไป ตามความถี่ที่เคยได้รับแอนติเจนชนิดนั้น ๆ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 4. กรอบแนวความคิดในการวิจัย




## 5. รูปแบบการวิจัย

เป็นการวิจัยโดยการสังเกตเชิงพรรณนา ณ จุดเวลาหนึ่ง (แบบตัดขวาง) (Cross-sectional Descriptive Studies) โดยที่ประชากรศึกษาจะได้รับการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test ทุกคนที่เข้าศึกษา ด้วยแอนติเจนชนิดต่าง ๆ แล้วติดตามดูการตอบสนองของผิวหนังที่ฉีดแอนติเจน

## 6. ขอบเขตของการวิจัย

<u>ประชากรเป้าหมาย</u> เจ้าหน้าที่ใน รพ. ในกรุงเทพฯ ที่มีภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ (Cell Mediated Immunity) อยู่ในเกณฑ์ปกติ

<u>ประชากรตัวอย่าง</u> เจ้าหน้าที่ใน รพ. จุฬาลงกรณ์ ที่มีภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ (Cell Mediated Immunity) อยู่ในเกณฑ์ปกติ จำนวน 96 คน

## 7. การดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ผู้วิจัยทำการฉีดแอนติเจน และ Negative control รวม 6 ชนิด ในประชากรตัวอย่างจำนวน 100 คน การฉีดแอนติเจนทำตามวิธีการของ Mantoux และนัดมาอ่านผลการทดสอบที่ 48 ชั่วโมง ซึ่งผู้อ่านผลการทดสอบจะไม่ทราบว่าในแต่ละตำแหน่งนั้นเป็นแอนติเจนชนิดใด การแปลผลการทดสอบ จะกำหนดให้ถ้าหากขนาดของ Induration มากกว่า 5 มิลลิเมตร เป็นผลบวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**8. วิธีวิเคราะห์ผล**

หาอัตราการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test ต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ที่นำมาทดสอบในประชากรตัวอย่าง รวมทั้งผลแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นด้วย

**9. คำสำคัญ (Keyword)**

Delayed-type hypersensitivity skin test

Antigens

**10.ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย**

1) ทราบอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ในประชากรตัวอย่าง
2) ทราบค่ามาตรฐานในการประเมินภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์แบบ Delayed-type hypersensitivity skin test ในประชากรตัวอย่าง
3) ประยุกต์ข้อมูลที่ได้ เพื่อกำหนดชนิดและจำนวนแอนติเจนในการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test และอาจนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางการและการแปลผลทดสอบในประชากรทั่วไปต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 2

## การตรวจการทำงานของ Cell-mediated Immunity

ภูมิคุ้มกันของร่างกายแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Innate immunity) และ ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Adaptive Immunity)

ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Innate immunity) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีอยู่ก่อนแล้วในร่างกาย พอได้รับแอนติเจนเข้าไปจึงสามารถตอบสนองได้อย่างรวดเร็ว และการตอบสนองจะเป็นแบบแผนเดียวกันทุกครั้งสำหรับแอนติเจนชนิดนั้นๆ ภูมิคุ้มกันประเภทนี้ได้แก่ Physical and chemical barriers, phagocytic cells, complement เป็นต้น

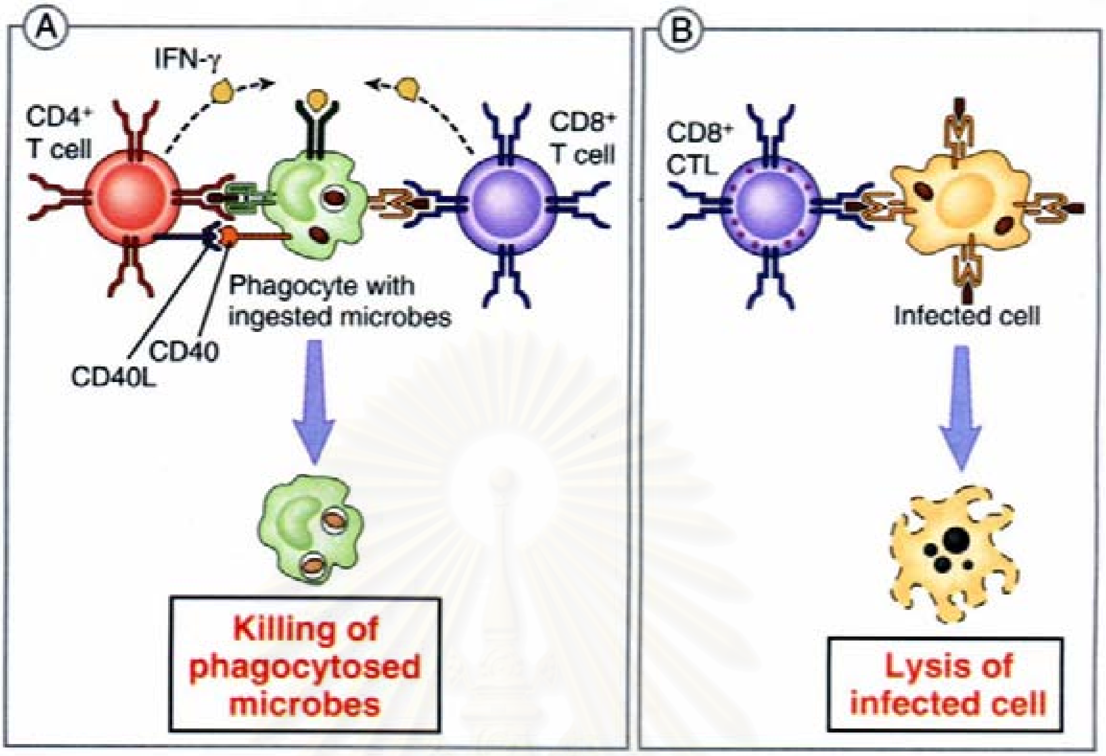
ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Adaptive immunity) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังจากได้สัมผัสกับแอนติเจน และจะมีความจำเพาะต่อแอนติเจนชนิดนั้นเท่านั้น นอกจากนี้การตอบสนองจะเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ตามความถี่ของการสัมผัสแอนติเจน ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะมี 2 ประเภท คือ Humoral immunity และ Cell-mediated immunity

Humoral Immunity เป็นการตอบสนองต่อแอนติเจนที่อยู่นอกเซลล์ โดยใช้แอนติบอดีที่สร้างจาก B lymphocyte เป็นหลัก แอนติบอดีชนิดหนึ่งจะจำเพาะกับแอนติเจนชนิดนั้นเท่านั้น เมื่อแอนติบอดีจับกับแอนติเจนแล้วจะทำให้แอนติเจนนั้นหมดฤทธิ์โดยการ Neutralization หรือ นำไปทำลายต่อด้วยกลไกทางภูมิคุ้มกันอื่น ๆ ต่อไป

Cell-mediated immunity เป็นการตอบสนองต่อแอนติเจนที่อยู่ในเซลล์ โดยมี T lymphocyte เป็นตัวหลัก กลไกการทำงานของ Cell-mediated immunity มี 2 วิธี[8] (รูปที่ 1)

วิธีแรกเป็นการทำงานของ T lymphocyte ร่วมกับ phagocytic cell เช่น Macrophage เมื่อแอนติเจนถูกจับกินโดย Macrophage แล้วจะเกิดการกระตุ้น T cell ทั้ง CD4+ T cell และ CD8+ T cell CD4+ T cell ที่ถูกกระตุ้นจะทำงานสองทางคือส่งสัญญาณ CD40 ligand (CD40L) ไปจับกับ CD40 บน Macrophage และการหลั่ง IFN$\gamma$ ซึ่งเป็น Cytokineที่สำคัญชนิดหนึ่งออกมา ทำให้ Macrophageสร้างสารมาทำลายแอนติเจนในตัวมันเอง นอกจากนี้ CD4+ T cell ยังสร้าง Cytokineที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ Tumor necrosis factor alpha (TNF$\alpha$) เพื่อกระตุ้นให้มีปฏิกิริยาการอักเสบต่อ ไป

วิธีที่สองเป็นการทำงานของ T lymphocyte ร่วมกับ non-phagocytic cell เมื่อ CD8+ Cytolytic T lymphocyte (CTL) ตรวจพบมีแอนติเจนแปลกปลอมในเซลล์ที่มีนิวเคลียส CTL จะหลั่ง Perforin, Granzyme หรือ มีการแสดง Fas ligand (FasL) มีผลทำให้เกิดการตายของเซลล์ที่มีแอนติเจนแปลกปลอมนั้น




**รูปที่ 1** (8) แสดงการทำงานของ Cell-mediated immunity

— A. T cell สามารถรับรู้แอนติเจนที่ถูกกินโดย Macrophage และตอบสนองโดยการกระตุ้นให้ Macrophage ทำลายแอนติเจนนั้นต่อไปโดยการแสดง CD40L และ หลั่ง IFNγ

— B. CTL รับรู้แอนติเจนที่อยู่ในเซลล์ต่าง ๆ ที่มีนิวเคลียสแล้ว จะหลั่งสารหรือแสดงโปรตีน FasL เพื่อทำลายเซลล์นั้น ๆ

คนที่มีความผิดปกติของ Cell-mediated immunity จะมีลักษณะอาการทางคลินิกได้ดังนี้[9]

— ติดเชื้อซ้ำซ้อนจากเชื้อไวรัส, เชื้อรา หรือ mycobacteria

— ติดเชื้อฉวยโอกาส เช่น *Pneumocystis carinii*, CMV, *Mycobacterium avium complex* (MAC)

— Failure-to-thrive และ ท้องเสียเรื้อรังได้ในเด็กเล็ก

— มีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งสูงขึ้น

— Graft-versus-host จากการได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือด

— ติดเชื้อรุนแรงหลังจากได้รับการฉีด live-virus vaccines เช่น BCG vaccine

สาเหตุที่ทำให้มีความผิดปกติของ Cell-mediated immunity มีดังนี้[10]

1. Congenital immune deficiencies แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มแรกมีความผิดปกติของ T cell อย่างเดียว เช่น Thymic hypoplasia (Digeorge syndrome) กลุ่มที่สองมีความผิดปกติของ T cell และ B cell เช่น Severe combine immunodeficiency (SCID)
2. Acquired immune deficiencies ได้แก่ มะเร็ง และ ภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการได้ยากดภูมิคุ้มกัน เช่น Systemic corticosteroids, Cyclophosphamide, Methotrexate เป็นต้น
3. Systemic infections อาจเป็นได้ทั้งการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น Scarlet fever, Brucellosis การติดเชื้อ Virus สาเหตุที่สำคัญ คือ HIV อื่น ๆ ได้แก่ Mumps, Measles, Chickenpox นอกจากนี้อาจเกิดจากการติดเชื้อ Mycobacteria, Disseminated mycotic infection ได้เช่นกัน
4. อื่น ๆ ได้แก่ Rheumatic diseases, Crohn's diseases, Alcoholic cirrhosis, Biliary Cirrhosis, Uremia, Sarcoidosis, DM, Pregnancy, Old age และ ภาวะทุพโภชนาการ

การดูแลรักษาผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของ Cell-mediated immunity ในปัจจุบัน หากเป็นกลุ่มที่มีสาเหตุ จะมุ่งเน้นการรักษาที่สาเหตุก่อน ส่วนในกลุ่มที่เป็นแต่กำเนิดนั้นการทำ Bone marrow transplantation (BMT) ได้ผลดีในบางโรค เช่น ใน SCID พบว่าหลังทำ BMT ในช่วง 3.5 เดือนแรกสามารถเพิ่มอัตรารอดชีวิตได้ถึง 97%[11] ดังนั้นการวินิจฉัยความผิดปกติของ T cell จึงมีความสำคัญในการดูแลผู้ป่วยในปัจจุบัน

การประเมินความสามารถในการทำงานของ Cell-mediated immunity ช่วยให้เราวินิจฉัยผู้ป่วยที่ความผิดปกติของภูมิคุ้มกันได้ ปัจจุบันสามารถตรวจได้ทั้งปริมาณของเซลล์ที่เกี่ยวข้อง และการตรวจดูการทำงานของ T lymphocyte

การตรวจหาปริมาณของ T cell ในร่างกาย ได้แก่ การตรวจ Complete Blood Count และการย้อมด้วย Monoclonal Antibody ที่จำเพาะต่อแอนติเจนบนผิวเซลล์ (CD4, CD8) ซึ่งติดฉลากกับสารเรืองแสงแล้วนับด้วย Fluorescence microscope หรือใช้ Flow cytometer

การตรวจการทำงานของ T cell แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. *In vivo* test ได้แก่การตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test และ การตรวจ Dinitrochlorbenzene (DNCB)
2. *In vitro* test ได้แก่ การตรวจ Lymphocyte proliferation assay

**Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test(DTH skin test)**

หลักการในการทดสอบคือ [12] เมื่อร่างกายได้รับแอนติเจนครั้งแรกโดย Antigen presenting cell นำเสนอแอนติเจนแก่ T lymphocyte ชนิด T helper1 cell ($T_H1$) จะถูกกระตุ้นและรับรู้แอนติเจนกลายเป็น

sensitized $T_H1$ เมื่อร่างกายได้รับการกระตุ้นโดยแอนติเจนนั้นอีกโดยการฉีดไปในชั้นใต้ผิวหนัง แอนติเจนนั้นจะมากระตุ้น sensitized $T_H1$ ให้หลั่ง Cytokines และ Chemokines ชนิดต่าง ๆ ออกมามีผลให้ Macrophage และ Non-specific inflammatory cells อื่น ๆ มารวมตัวกันทำให้มีปฏิกิริยาอักเสบเกิดขึ้นเป็น Induration ที่บริเวณที่ได้ฉีดแอนติเจนไปแล้ว ประมาณ 48 ชั่วโมง

การตรวจทาง Histopathology[1] พบว่า ใน 4-6 ชั่วโมงแรกมีปริมาณ Lymphocytes ในบริเวณที่ฉีดแอนติเจนเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะรอบ ๆ dermal venule หลังจากนั้นจะพบ Lymphocytes แทรกตัวอยู่ทั่วไปตามชั้นผิวหนังและชั้นใต้ผิวหนัง Lymphocytes พวกนี้ส่วนใหญ่ในชั้นผิวหนังจะเป็น T -helper cells สำหรับในชั้นใต้ผิวหนังจะพบทั้ง T –helper และ T-suppressor cells นอกจากนี้ยังพบมี Macrophages, Basophils และ Mast cells ในปริมาณที่มากขึ้นในบริเวณเหล่านี้ ทำให้อาจมีอาการคันในบริเวณ Induration ได้จากการที่มี Degranulation ของ Basophils และ Mast cells[13]

### Dinitrochlorbenzene (DNCB)[7, 10, 14]

เป็นการทดสอบดูความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนใหม่ (DNCB) ที่ยังไม่เคยได้รับมาก่อน 95% ของคนที่มีภูมิคุ้มกันปกติสามารถตอบสนองต่อสาร DNCB ทำการทดสอบโดยทาสาร DNCB ไปที่บริเวณ upper arm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20 มิลลิเมตร (ประมาณ 2,000-3,000 $\mu$g) โดยทำ Occlusive dressing ร่วมด้วย เสร็จแล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น 14 วัน ทำการตรวจดู systemic sensitization โดยการทาสาร DNCB ขนาด 100 $\mu$g ลงไปบริเวณแขนอีกข้างหนึ่ง อ่านผลการทดสอบที่ 24-48 ชั่วโมง[7, 10] แต่อย่างไรก็ดีการทดสอบนี้ยังไม่เป็นที่แนะนำให้นำมาตรวจทางคลินิก[14] เนื่องจากสาร DNCB ที่ใช้ในการทดสอบที่มีขายอยู่ในปัจจุบันยังไม่บริสุทธ์เพียงพอ

### Lymphocyte proliferation assay[12]

เป็นการทดสอบเพื่อดูการทำงานของ T cell ในหลอดทดลอง หลักการทดสอบมีดังนี้ เมื่อ T lymphocytes ถูกกระตุ้นด้วย แอนติเจน หรือ mitogen จะเกิดการแบ่งตัวและ Blast transformation คือเปลี่ยนแปลงจาก small lymphocytes เป็น lymphoblasts ทำให้มีการสังเคราะห์ DNA, RNA ในเซลล์มากขึ้น เราสามารถวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้จากการดูการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยการนับ lymphoblasts หรือ ดูการสังเคราะห์ DNA โดยการเติม Tritiated thymidine ($^3$H-TdR)แล้ววัด $^3$H-TdR โดยเครื่อง Beta scintillation counter ต่อไป

การตรวจดูการทำงานของ T lymphocytes ทั้ง 3 วิธีมีความแตกต่างกัน สรุปได้ตามตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** แสดงการเปรียบเทียบการตรวจการทำงานของ Cell-mediated immunity

| | Lymphocyte proliferation assay | DTH skin test | DNCB |
|---|---|---|---|
| In vitro / in vivo | *In vitro* | *In vivo* | *In vivo* |
| Antigen | Mostly mitogen | Specific antigen | Only DNCB |
| Cell involvement | T cells | Antigen presenting cells, T cells, non-specific inflammatory cells | Same as DTH skin test |
| Time (days) | 3 | 2-3 | 16-17 |
| Clinical application | yes | yes | no |
| Radioactive agent | yes | no | no |
| Price (Baht / test) | 500* | 150‡ | NA |
| Availability | Only in large medical center | Can be tested in general hospital | NA |

* เป็นค่าตรวจของห้องปฏิบัติการที่ ร.พ.จุฬาลงกรณ์

‡ เป็นค่าเฉลี่ยที่ใช้ในการจัดซื้อแอนติเจนและอุปกรณ์ในการฉีดอาสาสมัครแต่ละคนจากการวิจัยนี้

ปัจจุบัน test ที่ใช้ในทางคลินิก คือ Delayed-type hypersensitivity skin test และ Lymphocyte proliferation assay โดย Delayed-type hypersensitivity skin test มีข้อได้เปรียบหลายประการเนื่องจากเป็นการตรวจดูการทำงานตั้งแต่ Antigen presenting cell นำเสนอแอนติเจนต่อ T cell ไปจนถึงการตอบสนองของ T cell ต่อแอนติเจนนั้น ในขณะที่ Lymphocyte proliferation assay เป็นการตรวจดูการตอบสนองของ T cell ต่อแอนติเจนเท่านั้น นอกจากนี้ Delayed-type hypersensitivity skin test สามารถทำได้ใน ร.พ.ทั่วไป ไม่ต้องใช้สารกัมมันตรังสี และมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ Lymphocyte proliferation assay

# บทที่ 3

## Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

การตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test เป็นการตรวจทางผิวหนังเพื่อดูการทำงานของ Cell-mediated immunity มีรายงานครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1798 โดย Edward Jenner ได้อธิบายถึงปฏิกิริยาการอักเสบตรงบริเวณที่ฉีดแอนติเจนที่แขนของผู้ป่วยที่พึ่งหายจากโรคฝีดาษ ค.ศ. 1890 Robert Koch ได้ฉีด tuberculin เข้าผิวหนังของคนและหนูตะเภาที่ติดเชื้อวัณโรค ปฏิกิริยาจะเกิดเฉพาะตรงบริเวณที่ฉีด คือมีอาการบวมแดงและนูน (Tuberculin reaction) แต่ถ้าคนที่ไม่เคยได้รับเชื้อก็จะไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น และในปี ค.ศ.1942 Landsteiner และ Chase ได้สรุปว่าปฏิกิริยา Delayed-type hypersensitivity skin test เกี่ยวข้องกับการทำงานของ Cell-mediated immunity สามารถถ่ายทอดได้ด้วย Lymphocyte จากผู้ที่เคยได้รับเชื้อไปยังคน หรือ สัตว์ที่ยังไม่เคยได้รับเชื้อได้[12]

### 1. **ข้อบ่งชี้ในการตรวจ** Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

ประการแรก ใช้ในการประเมินการทำงานของ Cell-mediated immunity ทำการทดสอบโดยการฉีดแอนติเจนที่คนส่วนใหญ่เคยได้สัมผัสมาก่อนไปในชั้นใต้ผิวหนัง ผลบวกจากการทดสอบแสดงถึงการที่ร่างกายเคยได้สัมผัสกับแอนติเจนชนิดนั้น ๆ มาก่อน, สามารถสร้าง Memory T cell ได้, มีขบวนการรับรู้แอนติเจนที่ปกติ, มีขบวนการการกระตุ้น specific T cell ที่ปกติ และ T cell มีความสามารถในการหลั่ง cytokines, Chemokines มีผลให้มีการอักเสบในบริเวณนั้นตามมา[1] บุคคลที่ทดสอบแล้วให้ผลบวกต่อการทดสอบแสดงว่ามีการทำงานของ Cell-mediated immunity อยู่ในเกณฑ์ปกติดี ซึ่งมักจะสอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี Lymphocyte proliferation assay[3] ส่วนบุคคลที่ตรวจแล้วได้ผลลบโดยที่ได้ใช้จำนวนและชนิดของแอนติเจนที่เหมาะสมแล้ว แสดงว่ามีการทำงานของ Cell-mediated immunity ที่ผิดปกติ หรือ “Anergy” ซึ่งคงต้องตรวจหาสาเหตุต่อไปดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ประการที่สอง ใช้ในการประเมินว่าบุคคลนั้น ๆ ว่าเคยมีการติดเชื้อโรค ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถทำให้เกิด Delayed-Type Hypersensitivity ได้ ในปี ค.ศ.1890 Robert Koch ได้รายงานถึงการฉีด tuberculin ในชั้นใต้ผิวหนังทำให้มี induration ในบริเวณที่ฉีดตามมา ซึ่งต่อมาก็มีการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ส่วนเชื้ออื่น ๆ เช่น *Blastomyced dermatitidis*, *Coccidiodes immitis* และ *Histoplasma capsulatum* ปัจจุบันไม่ได้นำมาใช้ตรวจในทางคลินิกแล้ว เนื่องจากมีการตรวจอื่น ๆ ที่มี sensitivity และ specificity ที่ดีกว่า เช่น Radioimmunoassay, Immunodiffusion รวมทั้งปัจจุบันมีวิธีที่สามารถเพาะเชื้อได้ดีกว่าเดิมมาก จนทำให้เลิกใช้ไปในที่สุด[1, 10]

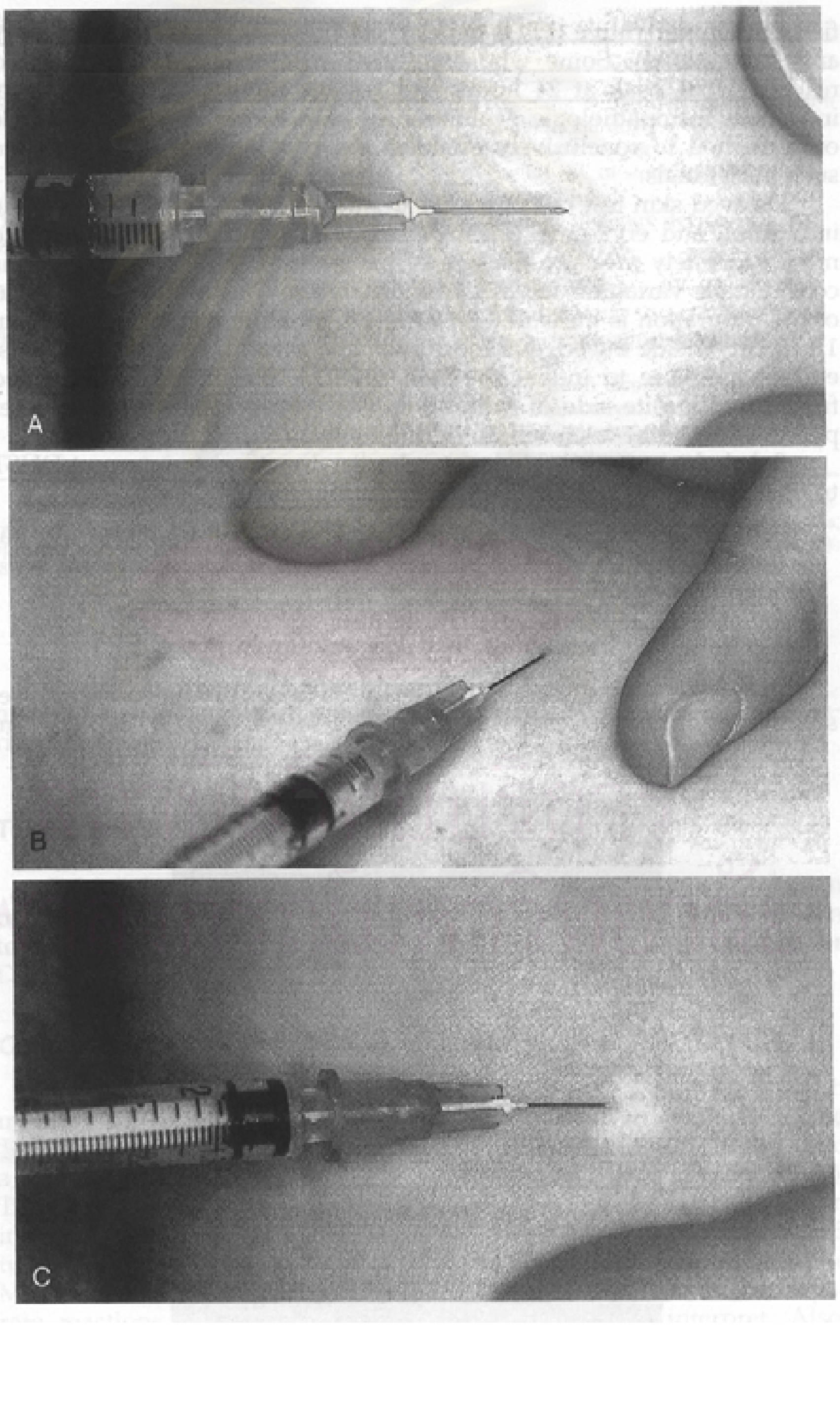
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2. **เทคนิควิธีการทำ** Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

เทคนิคการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test มี 2 วิธี ดังนี้

วิธีแรก คือ Mantoux method[1] ทำโดยฉีดแอนติเจนที่ทดสอบไปในชั้นใต้ผิวหนังบริเวณ volar surface of forearm ปริมาณ 0.1 mL โดยใช้เข็มเบอร์ 27 ให้ปลายเข็มหงาย ทำมุมกับผิวหนังประมาณ 45° หรือน้อยกว่าก็ได้เช่นกัน หลังจากฉีดแอนติเจนไปแล้วจะต้องเกิด wheal ขนาดประมาณ 6-10 มิลลิเมตร หากทำไปแล้วไม่เกิด wheal หรือ มีเลือดออกมากแสดงว่าเทคนิคไม่ถูกต้องควรทำใหม่ ดูรูปที่ 2 ประกอบ

**รูปที่ 2**[1] แสดงการทำ DTH skin test ด้วยวิธี Mantoux method



วิธีที่สอง คือ Multitest-Cell-Mediated Immunity (Multitest CMI) มีลักษณะเป็น plastic applicator โดยใส่แอนติเจนไว้ 7 ตัว ที่นิยมใช้ ได้แก่ C. albicans, T. mentagrophytes, P. mirabilis, OT streptococcus group C, diptheria และ tetanus ข้อดีของ Multitest CMI คือ ใช้ง่าย และ มีการทำ standardized ของแอนติเจนที่ใช้ แต่มีข้อเสีย คือ มีข้อจำกัดในการเลือกใช้แอนติเจน และ ผู้ทำต้องมีความชำนาญพอสมควร[2] แต่ในปัจจุบันบริษัทผู้ผลิตได้เลิกผลิตไปแล้วเนื่องจากมีการใช้ค่อนข้างน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับค่าใช้จ่ายในการคงสภาพของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบ[1]

**3. การเลือกแอนติเจนใน Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test**

การเลือกแอนติเจนที่นำมาทดสอบนั้น โดยทั่วไปเราจะเลือกใช้แอนติเจนที่ประชากรส่วนใหญ่เคยได้รับมาทั้งการติดเชื้อที่มี /ไม่มีอาการ หรือ เคยได้รับจากวิธีอื่น ๆ เช่น จากวัคซีน ซึ่งภายหลังจากที่ได้สัมผัสกับแอนติเจนแล้วสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด Delayed-Type Hypersensitivity, จะต้องไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังบริเวณที่ตรวจ และ ไม่เกิดอันตรายต่อผู้รับการตรวจในบางกรณี เช่น การใช้ Lived-attenuated vaccine มาตรวจในผู้ที่มีความผิดปกติของ T cell

ในปี ค.ศ. 1974 Palmer DL และคณะ [15] ได้ศึกษา Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วย Mantoux method โดยแอนติเจนที่ใช้คือ PPD, coccidioidin, histoplasmin, mump, candida และ trichophyton ประชาการตัวอย่างที่ใช้คือ ผู้ป่วยในของโรงพยาบาล Veterans Administration Hospital จำนวน 752 คน พบว่า 91% ของประชากรจะให้ผลบวกต่อแอนติเจนอย่างน้อยหนึ่งตัวจาก 4 ตัว (PPD, mump, *Candida albicans* และ Trichophyton) และการใช้แอนติเจนมากกว่า 4 ตัวก็จะให้ผลบวกเพิ่มขึ้นอีกเพียง 1.4%

ดังนั้นในปัจจุบันนี้ความเห็นของผู้เชี่ยวชาญส่วนใหญ่[1, 3, 10, 14] แนะนำให้เลือกใช้แอนติเจนในการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test เพื่อทดสอบ Cell-mediated immunity ควรเลือกใช้อย่างน้อย 3-5 ตัว และชนิดของแอนติเจนที่แนะนำ ได้แก่[1, 3, 7, 10, 14, 16] PPD, *Candida albicans*, Mumps, Tetanus toxoid, Trichophyton mentagrophytes, Diptheria toxoid adsorbed

ปัญหาที่มีอยู่ในปัจจุบันนี้คือ การเลือกชนิดของแอนติเจนที่จะนำมาทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test นั้นอาศัยความเห็นจากผู้เชี่ยวชาญเท่านั้น ยังไม่มีหลักฐานทางการแพทย์ที่ดีพอ นอกจากนี้ความเข้มข้นของแอนติเจนแต่ละตัวที่จะนำมาทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test นั้นยังมีความสับสนอยู่มาก ทั้งนี้ส่วนหนึ่งเนื่องจากแอนติเจนที่ผลิตจากบริษัทแต่ละแห่งก็จะมีหน่วยของความเข้มข้นไม่เหมือนกัน และเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละการศึกษาหรือ การทบทวนบทความในอดีต ก็จะแนะนำให้ใช้ความเข้มข้นของแอนติเจนแต่ละตัวที่ไม่ตรงกัน ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

สรุปการเลือกใช้ชนิดของแอนติเจน จำนวนของแอนติเจน และ ความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้ในการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test นั้นปัจจุบันส่วนใหญ่ยังไม่มีหลักฐานทางการแพทย์ที่เพียงพอ แอนติเจนส่วนใหญ่ก็ไม่มีขายในเมืองไทย

**ตารางที่ 2** แสดงความเข้มข้นของแอนติเจนชนิดต่าง ๆที่ใช้ในการทดสอบ DTH Skin Test

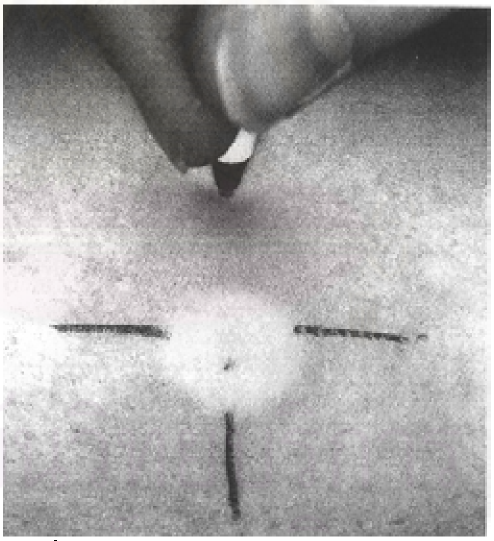
| Antigen | Concentration | Supplier | Reference |
|---|---|---|---|
| PPD | 5 TU / 0.1 ml | Ateventis, Lederle, Monarch | Yate AB, 2001[1] |
| | 10 TU / 0.1 ml | Not mentioned | Noroski LM, 1998[16] |
| | 5 TU / 0.1 ml | Not mentioned | Ahmed AR, 1983[10] |
| | 5 TU / 0.1 ml | CDC, USA | Palmer DL, 1974[5] |
| | 5 TU / 0.1 ml | CDC, USA | Heiss LI, 1974[17] |
| | 5 TU / 0.1 ml | Parke-Davis | Pacheco SE, 1994[3] |
| | 5 TU / 0.1 ml | Connaught | Keystone EC, 1980[4] |
| | **10 TU / 0.1 ml** | **Thai Red Cross** | **This study** |
| Tetanus | 4 LFU / 0.5 ml | Atventis Pasteur | Yate AB, 2001[1] |
| | 5 LFU / 0.5 ml | Medeva | Yate AB, 2001[1] |
| | 1.5 Lf / ml | Not mentioned | Noroski LM, 1998[16] |
| | 1.5 Lf / ml | Lederale, Wyeth, Sclavo | Pacheco SE, 1994[3] |
| | 2 Lf / ml | Lederale | Blatt SP, 1993[18] |
| | **40 IU / ml** | **Pasteur Meriuex** | **This study** |
| *C. albicans* | 1:100 w / v | Alk, Aero P, Greer, Hollis | Yate AB, 2001[1] |
| | 1:100 w / v | Not mentioned | Noroski LM, 1998[16] |
| | 1:500 | Hollister-Stier Lab | Palmer DL, 1974[5], Heiss LI, 1974[17] Blatt SP, 1993[18] |
| | 1:1000 | Hollister-Stier Lab | Keystone EC, 1980[4] |
| | **1:500 w / v** | **Greer** | **This study** |
| Trichophyton | 1:10 w / v | Greer | Yate AB, 2001[1] |
| | 1:30 | Hollister-Stier Lab | Pacheco SE, 1994[3] |
| | 1:500 | Hollister-Stier Lab | Blatt SP, 1993[18], Heiss LI, 1974[17], Palmer DL, 1974[5], Keystone EC, 1980[4] |
| | 1:500 w / v | Alk | Yate AB, 2001[1] |
| | 100 PNU / 0.1 ml | Not mentioned | Ahmed AR, 1983[10] |
| | 40,000 PNU | Aero Pharmaceutical | Yate AB, 2001[1] |
| | **1:20** | **Greer** | **This study** |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**4. การแปลผลการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test**

การแปลผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test นั้น ในตำราต่างประเทศบางเล่มจะแนะนำให้อ่านผลที่ 48-72 ชั่วโมงหลังฉีดแอนติเจน[14] การตอบสนองของร่างกายต่อแอนติเจนแต่ละตัวจะมีระยะเวลาที่แตกต่างกันออกไป เช่น Mumps antigen มักให้ผลการทดสอบมากที่สุดที่ 24-36 ชั่วโมง แต่ในทางกลับกัน PPD มักมีการตอบสนองสูงสุดที่ประมาณ 72 ชั่วโมง[19] แต่อย่างไรก็ดีในตำราและในงานวิจัยส่วนใหญ่จะนิยมอ่านผลที่ 48 ชั่วโมงมากกว่า[4, 5, 7, 10, 17, 19-21] ทั้งนี้เนื่องจากที่ 48 ชั่วโมงนั้นมีโอกาสที่จะมีผลบวกลวงจากปฏิกิริยา Late allergic reaction หรือ Arthus reaction ต่ำมาก[1]

วิธีการอ่านผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ที่นิยมในทางปฏิบัติจะทำตามวิธี Ball-point pen method วิธีนี้ Sokal JE, 1975[19] เป็นผู้แนะนำให้ใช้ โดยใช้ปากกา “medium” ball-point pen ลากเส้น ห่างจากขอบของ induration ออกมา 1-2 ซม. ลากเข้าไปหาขอบของ induration และเมื่อไปถึงขอบของ induration แล้วจะรู้สึกว่ามีความฝืดมากขึ้นให้ยกปากกาออก เวลาวัดให้วัดผ่านเส้นผ่านศูนย์กลางของ induration 2 เส้น เส้นแรกเป็นเส้นผ่านศูนย์กลางที่ยาวที่สุดของ induration ส่วนเส้นที่สองเป็นเส้นผ่านศูนย์กลางที่ตั้งฉากกันกับเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นแรก จากนั้นก็มาหาค่าเฉลี่ยเพื่อแปลผลการทดสอบต่อไป (รูปที่ 3)



**รูปที่ 3** Ball-point pen method[1]

การแปลผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธีตามวัตถุประสงค์ที่ทำการทดสอบ คือ

วิธีแรก เพื่อตรวจดูการทำงานของ Cell-mediated immunity ในอดีต Sokal JE, 1974 แนะนำให้อ่านผลทั้ง Induration และ Erythema ดังนี้

— Weak (+) erythema 10 mm or more without induration or with induration 5-9 mm
— Moderate (++) induration 10-20 mm.
— Strong (+++) induration 21-40 mm.
— Very strong (++++) > 40 mm. of induration

แต่อย่างไรก็ดี ปัจจุบันวิธีอ่านผลที่ผู้เชี่ยวชาญส่วนใหญ่[1, 3, 7, 16] และการศึกษาวิจัยในอดีตที่เกี่ยวกับ Delayed-type hypersensitivity skin test แบบ Mantoux method นิยม [5, 17, 18, 22] คือ อ่านเฉพาะ induration เท่านั้น ค่าที่ถือว่าให้ผลบวกคือ ≥ 5 มิลลิเมตรของ induration

วิธีที่สอง เพื่อตรวจการติดเชื้อ โดยการทดสอบด้วยน้ำยา PPD เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ตามแนวทางของ American Thoracic Society (ATS) และ Center of Disease Control and Prevention (CDC) แนะนำให้ใช้ขนาดของ induration ที่เกิดขึ้น ร่วมกับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** Criteria for Clinically Relevant “Positive” Tuberculin DTH Skin Testing[14]

| Criteria | Applicable Group |
|---|---|
| 5 mm | CXR consistent with TB<br>Close Contact of patients with TB<br>Depressed CMI; AIDS patients |
| 10 mm | Those from regions with high incidence of TB<br>Increase risk for TB (e.g. Hodgkin’s, diabetes, uremia, IVDU, homelessness, nursing home/prison residency) |
| 15 mm | Those with no identified risk factor |

**5. ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test**

การตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test เพื่อดูการทำงานของ Cell-mediated immunity นั้นจะได้ผลแตกต่างกันไป ตามลักษณะประชากรตัวอย่างที่นำมาศึกษา เนื่องจากมีความแตกต่างในด้านสิ่งแวดล้อมและการสัมผัสแอนติเจนในอดีต ดังนั้นจึงทำให้ผลการตอบสนองต่อแอนติเจนที่นำมาทดสอบมีความแตกต่างกันได้ในระหว่างกลุ่มประชากร

เมื่อนำผลการศึกษาของ Kniker WT, 1985[21] ซึ่งได้ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วยวิธี Multitest ในประชากรผู้ใหญ่ที่อาศัยอยู่ในประเทศสหรัฐอเมริกา อายุ 17-92 ปี มาเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Frazer IH, 1985 [6] ซึ่งได้ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วยวิธี Multitest ในประชากรที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน แต่ทำในประเทศออสเตรเลีย พบว่ามีการตอบสนองของแอนติเจนบางชนิดแตกต่างกัน เช่น C. albican มีผลการตอบสนองเท่ากับ 83% และ 48% ตามลำดับ หรือ Trichophyton มีผลการตอบสนองเท่ากับ 53.5% และ 29% ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ดีการตอบสนองของแอนติเจนบางตัวก็มีอัตราที่ใกล้เคียงกัน เช่น PPD เท่ากับ 58.7% และ 67% (ตารางที่ 4) นอกจากนี้แล้วหากนำเอาผลการศึกษาของ Cainzos M, 1992[23] ซึ่งทำการศึกษาในประชากรตัวอย่างที่คล้ายกัน แต่ทำในประเทศสเปนมาเปรียบเทียบด้วย พบว่า มีการตอบสนองต่อ PPD (76.6%) มากกว่าการศึกษาทั้งสอง, C. albican (58.1%) มากกว่าของ Frazer IH, 1985 [6] แต่ก็น้อยกว่าของ Kniker WT, 1985[21] นอกจากนี้ *Cainzos M* และคณะ[23] ศึกษาโดยใช้ Multitest พบว่ามีความแตกต่างในประชากรของเมืองต่าง ๆในเสปนเช่นกัน

จากตัวอย่างข้างต้นสามาถยืนยันได้ว่าปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน น่ามีผลต่อการตอบสนองของแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เมื่อทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test

นอกจากความแตกต่างในด้านสิ่งแวดล้อมและการสัมผัสแอนติเจนในอดีตแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test ได้รวบรวมไว้มีดังนี้

- ชนิดของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบ ความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบ และประวัติการสัมผัสแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ในอดีต ทั้งนี้เนื่องจากการตรวจ DTH skin test เป็นการตรวจที่อาศัยการกระตุ้น $T_H1$ cell ที่เคยรับรู้แอนติเจนในอดีตมาก่อน หากเคยได้รับแอนติเจนชนิดนั้นมาก่อนในอดีตก็มักจะให้ผลบวกหลังการทดสอบ
- อายุ ในคนที่มีอายุมากโดยเฉพาะในกลุ่มที่มีอายุมากกว่า 80 ปี อาจมีการตอบสนองการทดสอบทางผิวหนังลดลงได้[10, 14, 24] นอกจากนี้ Kniker W.T.และคณะ[25] ทำ Multitest DTH skin test ในเด็กตั้งแต่ infants ถึงวัยก่อนเข้าโรงเรียน พบว่าอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ และ ขนาดของ indurations มีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเด็กช่วงอายุ 1-2 ปี

**ตารางที่ 4** เปรียบเทียบผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test จากงานวิจัยต่าง ๆ ในอดีต

| Authors | Method | Population | | | | % of positive DTH skin test | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | Country | Description | Age (y) | PPD | Candida | Trichophyton | Tetanus | Mumps | Diptheria | Streptococcus | Proteus |
| Palmer DL, 1974 | Mantoux | 752 | Mexico | Inpatient | 50 | 33 | 63 | 62 | | 68 | | | |
| Kniker WT, 1984 | Multitest | 402 | USA | Healthy | 17-92 | 58.7 | 83 | 53.5 | 86 | | 85 | 69.3 | 45.7 |
| Frazer IH, 1985 | Multitest | 110 | Australia | Healthy | 38.8 | 67 | 48 | 29 | 65 | | 48 | | 18 |
| Corriel RN, 1985 | Multitest | 448 | USA | Healthy | 10.9 | 30.6 | 58.3 | 19 | 94.9 | | 97.1 | 69.9 | 84.4 |
| Kniker WT, 1985 | Multitest | 221 | USA | Healthy | 4.2 | | | | 62 | | 79 | | 57 |
| Cainzos M, 1992 | Multitest | 1,476 | Spain | Healthy | 49.6 | 76.6 | 58.1 | 13.2 | 37.3 | | 37.5 | 33.7 | 1.6 |
| Brown AE, 2000 | Mantoux | 70 | Thai | HIV, CD4 > 400 | NA | 32 | 91 | 27 | 71 | 55 | | | |
| Brown AE, 2000 | Mantoux | 73 | Thai | HIV, CD4 < 200 | NA | 19 | 49 | 16 | 27 | 23 | | | |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- Booster effect หากเคยได้รับการตรวจ DTH skin test ซ้ำด้วยแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เช่น PPD, Candida, Trichophyton, mumps ในช่วงเวลา 1-3 เดือน มีรายงาน[1, 5, 7]ว่า ในผู้ป่วยบางรายจะมีอัตราการตอบสนอง และ ขนาดของ induration มากขึ้นกว่าการทดสอบในครั้งแรก
- Congenital T-cell Deficiency Syndromes เช่น DiGeorge, Nezelof's syndrome, CVID ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการทำงานของ T cell ลดลง ทำให้มีผลการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test ลดลงได้
- Secondary Immune Deficiency ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการทำงานของ Cell-mediated immunity ลดลง ทำให้มีผลการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test ลดลงได้เช่นเดียวกัน สาเหตุที่ทำให้มี Cell-mediated immunity ลดลงได้แก่
    - Neoplasm พบทั้ง hematologic และ non-hematologic[14]
    - ยาที่กดภูมิคุ้มกัน เช่น systemic corticosteroids, Cyclophosphamide, Methotrexate เป็นต้น
    - การติดเชื้อ HIV ในผู้ป่วย HIV มีรายงานว่า มีการตอบสนองต่อแอนติเจนต่าง ๆ โดยการตรวจ DTH skin test ลดลงได้ โดยเริ่มลดลงตั้งแต่ระยะ asymptomatic , CD4 ประมาณ 400 cells/$mm^3$ [18, 26] Brown AE, 2000[22] ทำ Delayed-type hypersensitivity skin test วิธี Mantoux ในคนไทยติดเชื้อ HIV เมื่อนำประชากรที่มี CD4 > 400 cells/ml. ไปเปรียบเทียบกับประชากรที่มี CD4 < 200 cells/ml. พบว่า กลุ่มที่มี CD4 > 400 cells/ml. จะมีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ มากกว่าทั้งหมด ได้แก่ PPD, Mumps, C. albican, Trichophyton และ Tetanus (ตารางที่ 4)
- Systemic infections อาจเป็นได้ทั้งการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น Scarlet fever, Brucellosis การติดเชื้อ Virus เช่น Mumps, Measles, Chickenpox นอกจากนี้อาจเกิดจากการติดเชื้อ Mycobacteria, Disseminated mycotic infection ได้เช่นกัน
- Autoimmune disease[14] เช่น Rheumatic diseases, Chrohn's disease, sarcoidosis, RA, SLE
- Major surgery: Park SK, 1971[27] ได้ศึกษาผลของการผ่าตัดที่มีต่อการทำงานของ T cell โดยเก็บเลือดผู้ป่วยที่มารับการผ่าตัดจำนวน 21 คน ตรวจ $^{14}$C-thymidine เปรียบเทียบก่อน-หลังผ่าตัด พบว่าหลังผ่าตัดมีการทำงานของ T cell ลดลง
- อื่น ๆ ได้แก่ การตั้งครรภ์, Uremia, Cirrhosis[10]

6. **ผลข้างเคียงจากการตรวจ** Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

ผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการตรวจ DTH skin test พบได้น้อย[3, 10] ส่วนใหญ่มักเป็นผลข้างเคียงเฉพาะที่เท่านั้น แต่ก็มีรายงานที่เป็น Severe local reactions ได้เช่น โดยพบว่ามี erythema, vesicle อาจมี necrosis ได้ ส่วนผลข้างเคียงชนิด systemic พบได้น้อยมาก ที่มีในการทบทวนบทความและในตำรามาตรฐาน[7, 10, 14] อาจเป็น ไข้, erythema nodosum ได้

ปฏิกิริยา type I hypersensitivity reaction นั้น มีโอกาสเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานว่าพบมี Basophil ได้ในบริเวณที่ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test [10, 28, 29] แต่จากสืบค้นข้อมูลในฐานข้อมูลต่าง ๆ แล้วยังไม่มีการรายงานผู้ป่วยที่มี anaphylaxis จากการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test มาก่อน Hunziker N, 1980[30] ได้รายงานผู้ป่วย 5 คนที่ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test โดยพบว่ามีปฏิกิริยา type I hypersensitivity reaction หลังจากฉีด Trichophyton ในเวลา 20 นาที และเมื่อติดตามดูที่ 48 ชั่วโมง ก็ไม่พบว่ามี induration เกิดขึ้น

โดยสรุป การตรวจ DTH skin test เป็นการตรวจที่มีประโยชน์ทางคลินิก โดยใช้ตรวจการทำงานของ T cell นอกจากนี้ยัง ทำได้ง่าย เสียค่าใช้จ่ายน้อย และ พบผลข้างเคียงได้น้อยมาก แต่ยังมีปัญหาเกี่ยวกับการแปลผลการทดสอบในบางราย ส่วนหนึ่งเกิดจากอัตราการตอบสนองของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบในแต่ละพื้นที่นั้นแตกต่างกัน หากทราบอัตราการตอบสนองของแอนติเจนในคนไทยที่มีสุขภาพแข็งแรงดี ก็จะสามารถนำมาช่วยในการแปลผลต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 4

# วัสดุและวิธีการ

1. **ประชากร** (Population) **และตัวอย่าง** (Sample)

**ประชากรเป้าหมาย**

เจ้าหน้าที่ใน ร.พ. จุฬาลงกรณ์ ที่มีภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ (Cell Mediated Immunity) อยู่ในเกณฑ์ปกติ

**ประชากรตัวอย่าง**

เจ้าหน้าที่ใน รพ. จุฬาลงกรณ์ ที่มีภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ (Cell Mediated Immunity) อยู่ในเกณฑ์ปกติ จำนวน 96 คน

**กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion Criteria)**

- อายุระหว่าง 15 – 60 ปี
- ไม่มีประวัติการติดเชื้อที่ควรสงสัยว่ามีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น การติดเชื้อฉกฉวยโอกาส
- ยินยอมรับการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test

**กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)**

- ได้รับการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test มาก่อนใน 3 เดือน[7]
- ได้รับยาที่มีผลต่อการทำงานของ T cell เช่น Systemic Corticosteroids, Methotrexate เป็นต้น
- มีโรคประจำตัว ได้แก่ มะเร็ง, Autoimmune disease, ไตวายเรื้อรัง, ตับแข็ง เป็นต้น
- ได้รับการผ่าตัด (Major surgery) ภายใน 1 เดือน(27) หรือ มีการติดเชื้อ (Systemic infection) มาก่อนทำการทดสอบใน 1 เดือน[31]ทั้งเชื้อ ไวรัส แบคทีเรีย มัยโคแบคทีเรีย และ เชื้อรา
- ตั้งครรภ์

2. **การคำนวณขนาดตัวอย่าง**

จากการทบทวนวรรณกรรม อัตราการตอบสนองของ *Candida albicans* Extract ในต่างประเทศเมื่อทดสอบด้วยวิธี Delayed-type hypersensitivity skin test มีอุบัติการณ์ประมาณ 63% (range 58-85%)[5, 21, 23]

จากข้อมูลข้างต้นนำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่างได้ดังนี้

$$N = \frac{Z_{\alpha}^{2} pq}{d^{2}}$$

กำหนดให้ $\alpha$ = 0.05, d = 0.1 และจากข้อมูลข้างต้น p = 0.63, q = 0.37

เมื่อนำค่าไปแทนที่ในสมการจะได้ขนาดตัวอย่างประมาณ 87 คน

เผื่อจำนวนประชากร drop out ประมาณ 10% เท่ากับ 9 คน

โดยสรุปควรใช้ขนาดตัวอย่างประมาณ 96 คน

3. **การสังเกตและการวัด** (Observation & Measurement)

- **ตัวแปรในการวิจัยนี้**

ตัวแปรตาม (Dependent Variable) คือ ผลการทดสอบผิวหนัง Delayed-type hypersensitivity skin test การวัดผลของตัวแปรจะใช้มาตรการวัดเป็นแบบวัดค่าที่แท้จริง (Ratio Scale) โดยจะวัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของ induration ที่เกิดขึ้น (มิลลิเมตร) หลังจากที่ได้ฉีดแอนติเจนไปแล้ว 48 ชั่วโมง

ตัวแปรอิสระ (Independent Variable) คือ ชนิดของแอนติเจนที่จะนำมาทดสอบทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ PPD, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, Tetanus toxoid และ HBV vaccine

ตัวแปรที่ไม่ต้องการ (Confounding Factors) ได้แก่ ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการทดสอบ DTH skin test ดังที่ได้กล่าวไปในข้างต้น เช่น aging, congenital immune deficiency syndrome, secondary immune deficiency syndrome, autoimmune disease, acute systemic immune response เป็นต้น จะควบคุมด้วยการกำหนดไว้ใน Inclusion และ Exclusion Criteria ร่วมกับการใช้แบบสอบถาม

- **ข้อตกลงเบื้องต้น**

<u>Health care personnel</u> ในการวิจัยนี้ต้องเป็นบุคลากรที่ให้บริการโดยตรงแก่ผู้ป่วยเป็นประจำ ได้แก่ เจ้าหน้าที่เวรเปล, พยาบาลตามหอผู้ป่วย หรือ เจ้าหน้าที่ห้องบัตร ส่วน Non-health care personnel ได้แก่ เจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัย และ เจ้าหน้าที่โภชนาการ ซึ่งมิได้สัมผัสใกล้ชิด หรือให้บริการแก่ผู้ป่วยโดยตรง

<u>Evidence of BCG vaccination</u> ได้จาก การตอบแบบสอบถามเกี่ยวกับการฉีดวัคซีน BCG ในอดีต และการตรวจ Vaccine scar โดยผู้วิจัย สามารถจำแนกอาสาสมัคร ได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. Definite evidence of BCG vaccination หมายถึง
   - มี Vaccine scar ที่ต้นแขนทั้งสองข้าง
   - มี Vaccine scar ที่ต้นแขนข้างเดียวร่วมกับมีประวัติการฉีดวัคซีน BCG มาก่อน
   - มี Vaccine scar ที่ต้นแขนข้างเดียวร่วมกับมีอายุน้อยกว่า 24 ปี ทั้งนี้เนื่องจาก WHO ได้ประกาศให้หยุดการฉีดวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษตั้งแต่ปี

ค.ศ. 1980 และจากการสอบถามกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ได้งดการจ่ายวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา

2. Probable evidence of BCG vaccination

- มี Vaccine scar ที่ต้นแขนข้างเดียว แต่ไม่มีประวัติการฉีดวัคซีน BCG มาก่อน
- มีประวัติการฉีดวัคซีน BCG มาก่อน แต่ตรวจไม่พบ Vaccine scar

3. No evidence of BCG vaccination

- ไม่มีประวัติการฉีดวัคซีน และ ตรวจไม่พบ Vaccine scar

<u>ประวัติที่สงสัยการติดเชื้อรา Dermatophyte</u> หมายถึง มีประวัติเคยมีการติดเชื้อราที่ลำตัว ใบหน้า หรือ ที่ขาหนีบ, ใต้ราวนม, รักแร้, ง่ามนิ้ว หรือ เชื้อราที่เล็บ อย่างใดอย่างหนึ่ง

- **เครื่องมือที่ใช้ในการวัดตัวแปร**

**Delayed-type hypersensitivity skin test** ทำตามวิธีการของ Mantoux [1] โดยฉีดแอนติเจนชนิดต่าง ๆ และ 0.9% NSS (Negative Control) ปริมาณ 0.1 มล. โดยใช้ syringe 1 cc, เข็ม No.27 ฉีดสารที่จะทำการทดสอบไปในชั้นใต้ผิวหนัง (Intradermal)บริเวณ volar surface of forearm ระยะห่างระหว่างสารแต่ละตัวอย่างน้อย 4 ซม.

แอนติเจนที่จะนำมาทำการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ได้แก่

- PPD (Purified Protein Derivative) ผลิตโดย สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ความเข้มข้น 10 i.u./0.1 มล[32]
- *Candida albicans* Extract ผลิตโดย Greer Laboratory Inc. ความเข้มข้น 1:20 w/v นำมาเจือจางด้วย 0.9%NSS 1:5 ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1:100 w/v ก่อนนำไปทำการทดสอบต่อไป[1, 3]
- *Trichophyton mentagrophytes* Extract ผลิตโดย Greer Laboratory Inc. ความเข้มข้น 1:20 w/v [1]
- Tetanus toxoid ผลิตโดย Pasteur Mérieux ความเข้มข้น 40 i.u. / 0.5 ml [1, 6]
- Engerix™ B ผลิตโดย GlaxoSmithKline ใน 1 ml จะมี hepatitis B surface antigen 20 mcg

เหตุผลที่เลือกใช้ PPD, *Candida albicans* Extract, *Trichophyton mentagrophytes* Extract และ Tetanus toxoid มาเป็นแอนติเจนที่ใช้ทดสอบเนื่องจากเป็นแอนติเจนที่นิยมมาใช้ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ดังที่ได้กล่าวมาในบทที่แล้ว

ส่วน Engerix™ B นั้นไม่เคยมีการใช้ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test มาก่อน แต่ทางผู้วิจัยเห็นว่าเป็นแอนติเจนที่น่าจะนำมาทดสอบด้วย เนื่องจาก ภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บี ส่วนหนึ่งเป็นภูมิคุ้มกันชนิด Cell mediated immunity[33, 34] และจากการสำรวจอุบัติการณ์ของ ไวรัสตับอักเสบ บี ในคนไทยจำนวน 1,214 ราย พบว่ามีภูมิคุ้มกันแล้ว หรือ เคยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มาก่อนจำนวน 54%[35] ส่วนอุบัติการณ์ใน Health care personnel พบว่า มีภูมิคุ้มกันแล้ว หรือ เคยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มาก่อนจำนวน 45.2-57.3%[36, 37] ดังนั้นจึงคาดหมายว่าถ้าหากนำ Engerix™ B มาทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test น่าจะให้ผลบวกได้เช่นกัน นอกจากนี้ Engerix™ B เป็นวัคซีนที่หาซื้อได้ไม่ยากในประเทศไทย ราคาไม่แพง และ ผลแทรกซ้อนจากการฉีดวัคซีน Engerix™ B ก็มีไม่มาก

แอนติเจนบางตัวที่ต้องเจือจางก่อนนำไปทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test เช่น *Candida albicans* Extract จะทำการเจือจางก่อนทำการทดสอบเท่านั้น ผู้ทำการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test และ ผู้อ่านผลการทดสอบจะทำโดยผู้วิจัย แต่การแปลผลการทดสอบจะ blind assessment ผู้วิจัย โดยการ blind แต่ละครั้งจะทำหลังจากที่เจือจางแอนติเจนแล้ว การ blind แต่ละครั้งจะทำโดยผู้ช่วยวิจัย

การวัดผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test อ่านผลที่ 48 ชั่วโมง หลังจากที่ฉีดแอนติเจนไปแล้ว การวัดทำตามวิธี Ball-point pen method[19] โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ยาวที่สุดของ induration และ เส้นผ่านศูนย์กลางที่ตั้งฉากกัน หาขอบเขตของ indurationโดยใช้ปากกาลูกลื่นลากมาจากด้านนอกสุดห่างจากขอบประมาณ 1-2 ซม. รายงานผลเป็นความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางทั้งสอง หน่วยเป็นมิลลิเมตร จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโดย กำหนดให้ผลลบ (Negative) คือ มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร

**Questionnaire** แบบสอบถามที่ใช้เป็นแบบไม่ใช้ผู้สัมภาษณ์ชนิด Self-Administered Questionnaire แต่ถ้าผู้ร่วมการศึกษากรอกข้อมูลได้ไม่สมบูรณ์ หรือ ไม่เข้าใจแบบสอบถาม ผู้วิจัยจะทำการสัมภาษณ์บุคคลต่อบุคคล

4. **วิธีการ หรือ สิ่งแทรกแซง** (Intervention)

- ผู้ร่วมการศึกษากรอกใบสอบถาม และใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย
- ทำการทดสอบผิวหนัง DTH skin test โดยใช้แอนติเจนทั้งหมด 5 ตัว และ 0.9%NSS เป็น Negative Control (ดูวิธีการโดยละเอียดในเครื่องมือที่ใช้วัดตัวแปร)
- สังเกตอาการหลังการทดสอบ 20 นาที
- นัดมาดูผลการทดสอบ DTH skin test หลังฉีดแอนติเจนประมาณ 48 ชั่วโมง (ดูวิธีการโดยละเอียดในเครื่องมือที่ใช้วัดตัวแปร)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**5. การรวบรวมข้อมูล**

ข้อมูลเกี่ยวกับ Demographic, ประวัติการใช้ยา, โรคประจำตัว, การติดเชื้อในอดีต และ การเจ็บป่วยหรือในช่วงที่ผ่านมาใช้ Self-Administered Questionnaire ข้อมูลเกี่ยวกับผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test อ่านผลการทดสอบโดยผู้วิจัย และบันทึกผลลงในแบบเก็บข้อมูลสำหรับประชากรศึกษาแต่ละราย หลังจากนั้นเก็บข้อมูลทั้งหมดลงในคอมพิวเตอร์ โดยผู้วิจัย เพื่อนำไปวิเคราะห์ผลการวิจัยต่อไป

**6. การวิเคราะห์ข้อมูล**

ข้อมูลอายุนำมาหาค่าเฉลี่ย ส่วนข้อมูลอื่น ๆ ที่ได้จากแบบสอบถาม เช่น ประวัติการสัมผัสแอนติเจนชนิดต่าง ๆ, ประวัติการใช้ยา, ประวัติโรคประจำตัวในอดีต เป็นต้น นำมาคำนวณหาร้อยละ ส่วนผลการตอบสนอง DTH skin test โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration (มม.) รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย และ เป็นร้อยละ โดยกำหนดให้ Induration ที่มีขนาด $\geq$ 5 มิลลิเมตร เป็นผลบวก

เปรียบเทียบปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการตอบสนองของแอนติเจนแต่ละตัวด้วยวิธี Chi-square สำหรับข้อมูลที่เป็น Qualitative data เช่น ประวัติ Contact TB, Health care personnel เป็นต้น ส่วนข้อมูลที่เป็น Quantitative data เช่น อายุ ใช้วิธี Unpaired t-test

การวิเคราะห์ Multicovariate analysis ใช้วิธี Binary Logistic Regression สำหรับการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของ Tetanus toxoid ในการวิเคราะจะแบ่งกลุ่มอายุของประชากรเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มแรกมีอายุ 40 ปี หรือน้อยกว่า และกลุ่มที่สองคืออายุ 41 ปี หรือมากกว่า โดยพบว่าในคนที่ไม่ตอบสนองต่อ Tetanus vaccine ทั้งหมด 16 คน มีเพียง 1 คนที่อายุน้อยกว่า 40 ปี ส่วนในกลุ่มที่ตอบสนองต่อ Tetanus vaccine พบว่า มีทั้งหมด 79 คน คนที่อายุ 40 ปีหรือน้อยกว่า มีทั้งหมด 29 คน

**7. ปัญหาทางจริยธรรม**

การวิจัยนี้จะทำการทดสอบ DTH skin test ในเจ้าหน้าที่ใน ร.พ. จุฬาลงกรณ์ จะต้องได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (Informed consent) ก่อนเข้าร่วมการศึกษา และการวิจัยนี้ได้รับความเห็นชอบจาก คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยแล้ว

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 5

# ผลการวิจัย

## 1. ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง

มีผู้เข้าร่วมการวิจัยทั้งหมด 100 คน แต่ในจำนวนนี้ มีผู้ที่มีประวัติเคยเป็นวัณโรค 2 ราย และมีผู้ที่กำลังทานยาลูกกลอนอยู่ 3 ราย ซึ่งทั้งหมดนี้อยู่ในเกณฑ์การคัดออกจากการศึกษาเนื่องจากอาจมีผลต่อการตอบสนองของ Delayed-type hypersensitivity skin test ดังนั้นจึงเหลือประชากรตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ทั้งหมดจำนวน 95 คน

ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่างที่สำคัญได้สรุปไว้ในตารางที่ 5

ประชากรตัวอย่างมีอายุเฉลี่ย 44.1 ± 10.1 ปี อายุต่ำสุด 23 ปี อายสูงสุด 60 ปี ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงคิดเป็น 62.1% ส่วนใหญ่จบการศึกษาในระดับที่สูงกว่าประถมปลายคิดเป็น 63.2% ระดับการศึกษาสูงสุดคือปริญญาตรี (8.4%) ที่อยู่ปัจจุบันส่วนใหญ่ของประชากรตัวอย่างอาศัยอยู่ในกรุงเทพ (63.2%) และจังหวัดปริมณฑล (32.7%) 48.4% ของประชากรตัวอย่างเป็นบุคคลากรที่ทำงานใกล้ชิด หรือให้บริการแก่ผู้ป่วยโดยตรงเป็นประจำ (Health care personnel) ได้แก่ เจ้าหน้าที่ห้องบัตร (21.1%), เจ้าหน้าที่เวรเปล (18.9%) และ พยาบาล / ผู้ช่วยพยาบาล (8.4%) ส่วน Non-health care personnel ประกอบด้วย เจ้าหน้าที่โภชนาการ (35.8%) และ เจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัย (15.8%)

ประชากรตัวอย่างเคยตรวจเลือด Anti HIV antibody 33 คน (34.7%) ได้ผลลบ 20 คน และไม่บอกผลการตรวจทั้งหมด 13 คน นอกจากนี้ประชากรชายที่มีประวัติ Contact prostitute มีทั้งหมด 8 คน มีเพียง 2 คนจากทั้งหมด 8 คนเท่านั้นที่เคยตรวจ เลือด Anti HIV antibody และได้ผลลบ

ประวัติการ Contact TB มีทั้งหมด 9 คน (9.5%) ส่วนใหญ่ (n = 5) จะเคยมีคนในบ้านเป็นมาแล้วมากกว่า 5 ปี ส่วนการฉีดวัคซีน BCG ในประชากรนั้น มีทั้งหมด 90 คน (94.8%) ที่เข้าเกณฑ์ probable มี 61.1% ที่เข้าเกณฑ์ definite มี 33.7%

ประวัติการฉีดวัคซีนป้องกันบาดทะยักมีทั้งหมด 75 คน (78.9%) ส่วนใหญ่ให้ประวัติว่าได้รับการฉีดวัคซีนมามากกว่า 5 ปีมีจำนวน 50 คน คิดเป็น 66.7% ของผู้ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันบาดทะยักทั้งหมด ในประชากรตัวอย่างไม่มีประวัติการเคยเป็นโรคบาดทะยักมาก่อน

ประวัติการฉีดวัคซีนตับอักเสบบี มีเพียง 15 ราย (15.8%) ส่วนใหญ่ (n = 12) ให้ประวัติว่าได้รับการฉีดวัคซีนมามากกว่า 5 ปีแล้ว มีประชากรตัวอย่างเพียง 1 คนที่เป็นพาหะของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

**ตารางที่** 5 แสดงข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง

| | n | % |
|---|---|---|
| Age (years) : mean ± S.D. | 44.1 ± 10.1 | range 23-60 |
| Sex : Female | 59 | 62.1 |
| จบการศึกษาระดับประถมปลาย หรือ ต่ำกว่า | 35 | 36.8 |
| Health Care Personel | 46 | 48.4 |
| History of contact TB | 9 | 9.5 |
| History of hepatitis B carrier | 1 | 1.1 |
| Concomittent medication | 31 | 32.6 |
| History of contact prostitute | 8 | 8.4 |
| Anti HIV Test | | |
| เคยตรวจ Anti HIV | 33 | 34.7 |
| เคยตรวจ Anti HIV และได้ผลลบ | 20 | 21.1 |
| เคยตรวจ Anti HIV แต่ไม่บอกผล | 13 | 13.7 |
| **ประวัติการฉีดวัคซีน** | | |
| BCG vaccine | | |
| probable | 58 | 61.1 |
| definite | 32 | 33.7 |
| Tetanus vaccine | 75 | 78.9 |
| Hepatitis vaccine | 15 | 15.8 |
| **ประวัติการติดเชื้อราในร่างกาย** | | |
| เชื้อราในปาก หรือ ช่องคลอด | 10 | 10.5 |
| เชื้อราที่ลำตัว หรือ ใบหน้า | 3 | 3.2 |
| เชื้อราที่ขาหนีบ , ใต้ราวนม , รักแร้ หรือ ง่ามนิ้ว | 16 | 16.8 |
| เชื้อราที่เล็บ | 11 | 11.6 |
| รวม | 30 | 31.6 |

ประวัติการติดเชื้อราที่ผิวหนัง มีทั้งหมด 30 คน (31.6%) แบ่งเป็น เชื้อราในปากหรือช่องคลอด 10คน ส่วนใหญ่ (n = 8) เคยเป็นมามากกว่า 5 ปีแล้ว เชื้อราที่ลำตัวหรือใบหน้ามีจำนวน 3 คน เชื้อราที่ขาหนีบ ใต้ราวนม รักแร้ หรือ ง่ามนิ้ว มีจำนวน 16 คน ส่วนใหญ่ (n = 8) เป็นในช่วงเวลา 1 ปีที่ผ่านมา เชื้อราที่เล็บมีจำนวน 11 คน ส่วนใหญ่ (n = 6) เป็นในช่วงเวลา 1 ปีที่ผ่านมา

**2. ผลการทดสอบ** Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

ประชากรตัวอย่างได้รับการอ่านผล Delayed-type hypersensitivity skin test ที่ประมาณ 47.4 ± 3.8 ชั่วโมง (range 43.5 – 74.7)

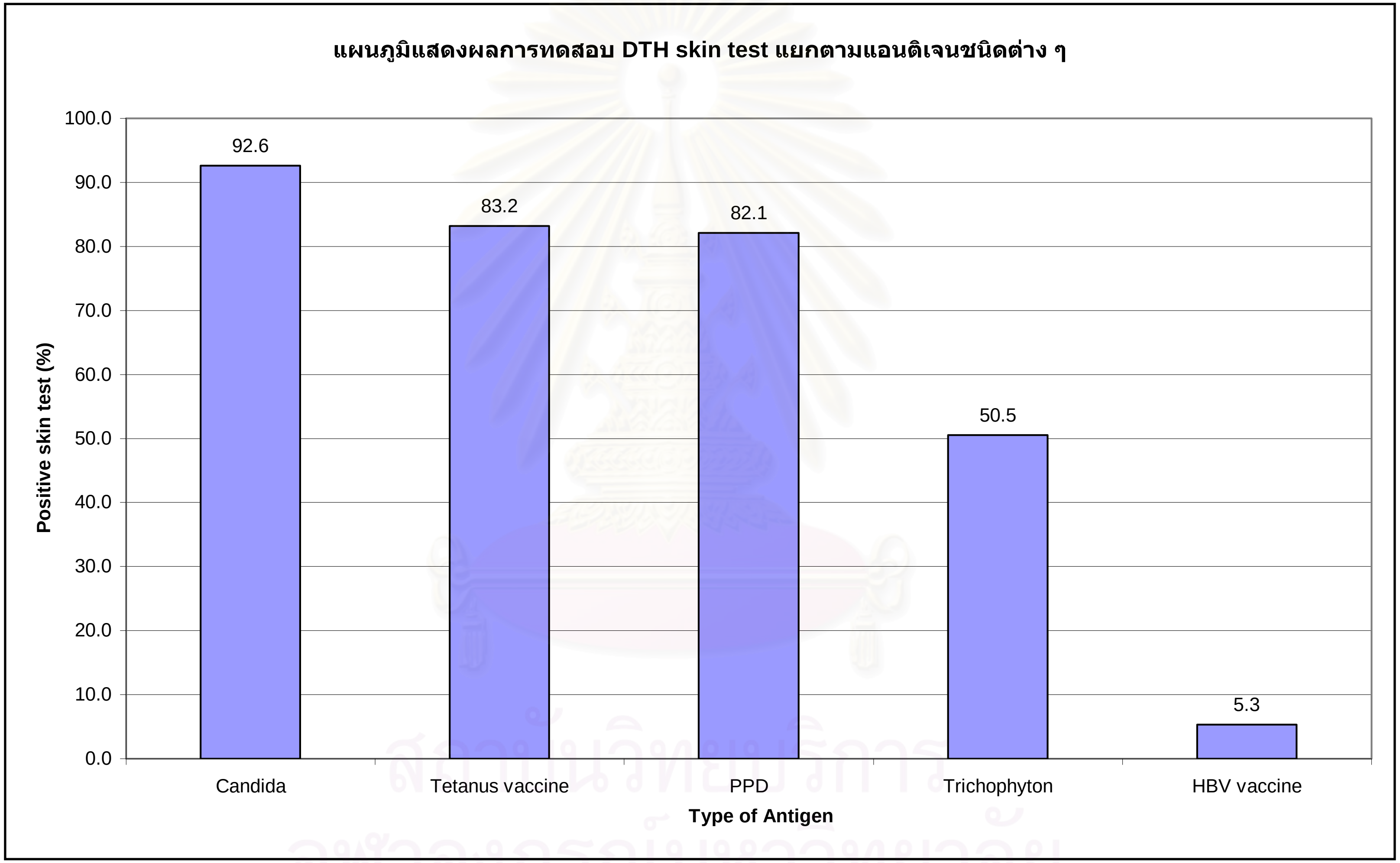
จากผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test พบว่า ไม่มีใครที่ให้ผลลบ (Anergy) ต่อการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test เลย อาสาสมัครส่วนใหญ่ให้ผลบวกต่อแอนติเจนจำนวน 2-4 ตัว (ตารางที่ 6) โดยที่ *C. albicans* ให้ผลบวกต่อการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test มากที่สุดประมาณ 92.6% ขนาดของ induration เฉลี่ยของคนที่ให้ผลบวกประมาณ 19.3±7.7 มิลลิเมตร Hepatitis B vaccine ให้ผลบวกต่อการทดสอบน้อยที่สุด คือ 5.3% ของประชากรทั้งหมด ขนาดของ induration เฉลี่ยของคนที่ให้ผลบวกประมาณ 12.2±2.6 มิลลิเมตร ส่วน Tetanus vaccine, PPD และ Trichophyton ให้ผลบวกประมาณ 83.2%, 82.1% และ 50.5% ตามลำดับ (ตารางที่ 6, รูปที่ 4-5)

นอกจากนี้พบว่ามี Induration จาก PPD ขนาดมากกว่า 15 มม. จำนวน 27 คน หรือ มี Induration ขนาด 10-15 มม. ร่วมกับมีปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรคคือ เป็น Health care personnel หรือ มีประวัติ Contact TB จำนวน 12 คน ซึ่งทั้งหมดนี้ได้แนะนำให้ทำ Chest X-ray แล้ว ได้มาทำตามคำแนะนำแล้วทั้งหมด 19 คน (48%) ทุกคนไม่มี Pulmonary infiltrate หรือ ลักษณะอื่น ๆ ที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อวัณโรคที่ปอดแต่อย่างใด

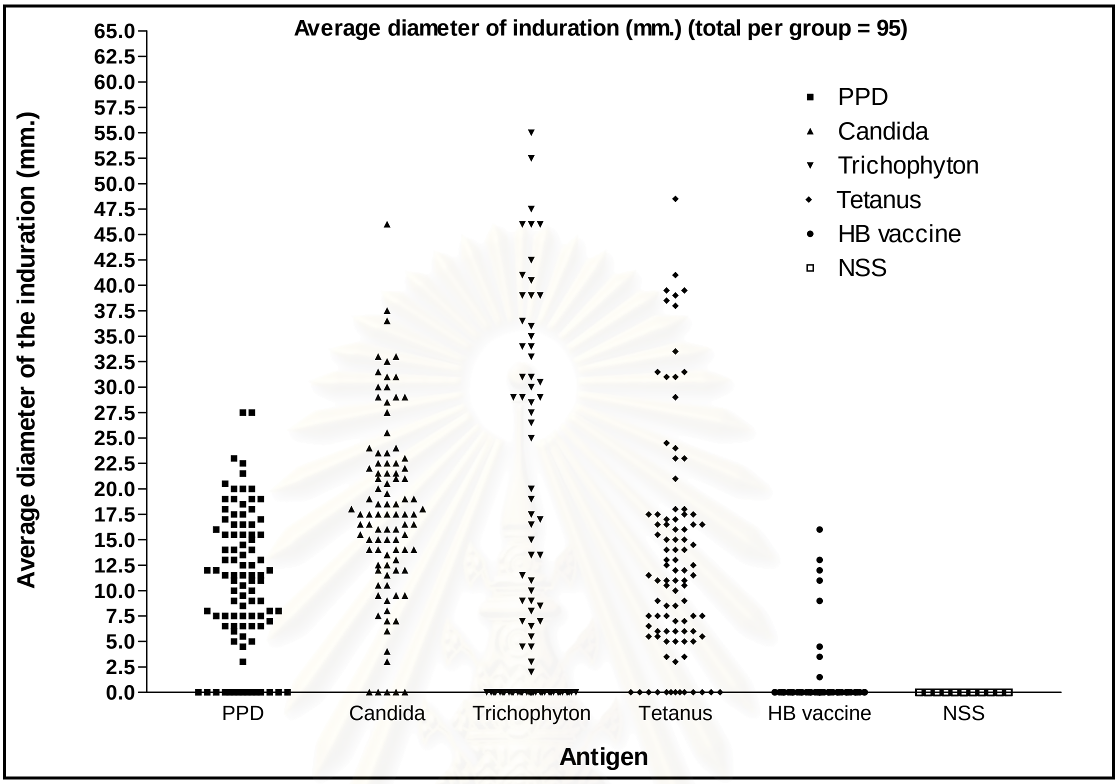
**ตารางที่ 6** แสดงผลการตอบสนองของอาสาสมัครที่มีผลบวกจาก DTH skin test แยกตามจำนวนแอนติเจนที่ใช้ทดสอบ

| No. of Antigen Positivity | n | % |
|---|---|---|
| Negative to all antigen (Anergy) | 0 | 0.0 |
| Positive only 1 antigen | 1 | 1.1 |
| Positive 2 antigens | 18 | 18.9 |
| Positive 3 antigens | 43 | 45.3 |
| Positive 4 antigens | 33 | 34.3 |
| Positive 5 antigens | 0 | 0.0 |

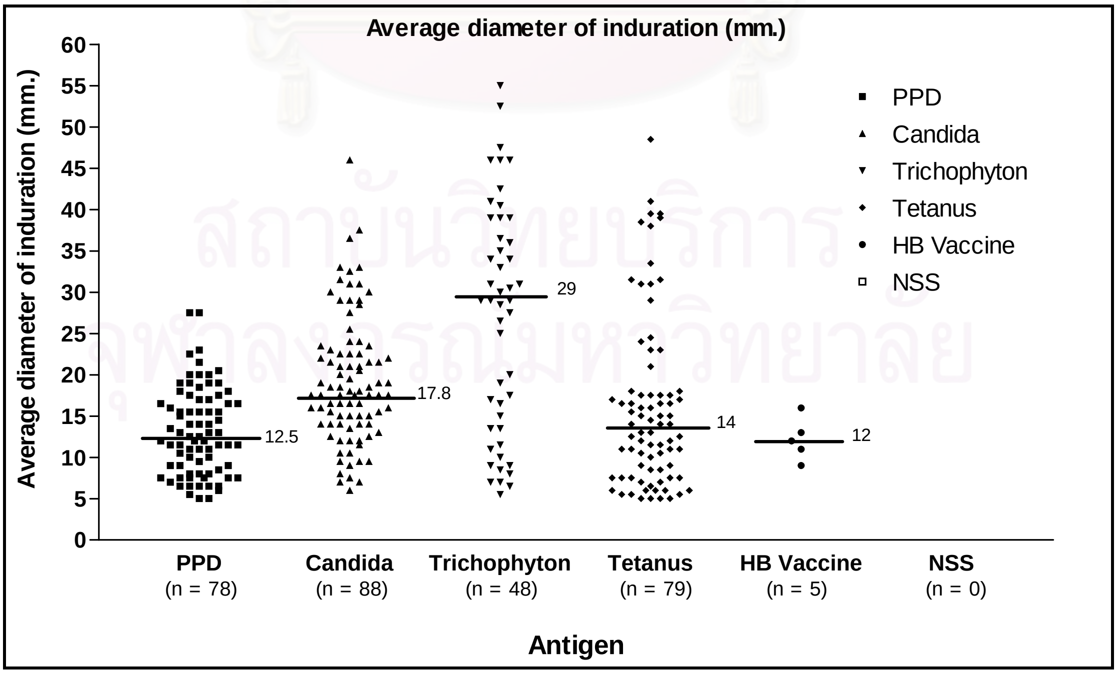
**รูปที่ 4** แผนภูมิแสดงผลการทดสอบ DTH skin test เป็นร้อยละ แยกตามแอนติเจนชนิดต่าง ๆ



**รูปที่** 5.1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration ที่เกิดจากแอนติเจนแต่ละชนิดของประชากรตัวอย่างทุกคน (n = 95)




**รูปที่** 5.2 กราฟแสดงการเปรียบเทียบขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration ที่เกิดจากแอนติเจนแต่ละชนิด เฉพาะประชากรตัวอย่างที่มีผล DTH skin test เป็นบวก




สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. **ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง** Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

**ตารางที่ 7** ตารางแสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย PPD

| Factor | DTH response to PPD | | | | p value | Unadjusted OR (95%CI) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positive (n = 78) | | Negative (n = 17) | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Age (yr), Mean ± SD | 44.1 ± 9.9 | | 44.3 ± 10.8 | | 0.940 [a] | |
| Male | 30 | 38.5 | 6 | 35.3 | 1.000 [b] | 1.15 (0.38 - 3.42) |
| จบการศึกระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 25 | 32.1 | 10 | 58.8 | 0.038 [b] | 0.33 (0.11 – 0.97) |
| Health care personnel | 43 | 53.0 | 3 | 17.6 | 0.007 [c] | 5.75 (1.52 – 21.74) |
| History of contact TB | 7 | 9.0 | 2 | 11.8 | 0.661 [c] | 0.74 (0.14 – 3.92) |
| BCG vaccine | | | | | 0.620 [b] | 1.16 (0.12 – 11.05) |
| probable | 46 | 59.0 | 12 | 70.6 | | |
| definite | 28 | 35.9 | 4 | 23.5 | | |

a. Unpaired t-test

b. Chi square test

c. Fisher's exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 8** ตารางแสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย *C. albicans* extract

| Factor | DTH response to *C. albicans* | | | | p value | Unadjusted OR (95%CI) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positive (n = 88) | | Negative (n = 7) | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Age (years), Mean ± SD | 44.4 ± 10.3 | | 41.1 ± 5.8 | | 0.418 [a] | |
| Male | 34 | 38.6 | 2 | 28.6 | 0.706 [b] | 1.57 (0.29 - 8.57) |
| จบการศึกษาระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 35 | 39.8 | 0 | 0 | 0.044 [b] | 1.13 (1.03 – 1.24) |
| Health care personnel | 41 | 46.6 | 5 | 71.4 | 0.258 [b] | 0.35 (0.06 – 1.89) |
| เชื้อราในช่องปากหรือช่องคลอด | 7 | 8.0 | 3 | 42.9 | 0.024 [b] | 0.12 (0.02 – 0.62) |
| เชื้อราที่ขาหนีบ, ใต้ราวนม หรือ รักแร้ | 13 | 14.8 | 3 | 42.9 | 0.090 [b] | 0.23 (0.05 – 1.16) |
| เชื้อราที่เล็บ | 9 | 10.3 | 2 | 28.6 | 0.189 [b] | 0.29 (0.05 – 1.71) |

a. Unpaired t-test

b. Fisher's exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 9** ตารางแสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย *T. mentagrophytes* extract

| Factor | DTH response to *T. mentagrophytes* | | | | p value | Unadjusted OR (95%CI) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positive (n = 48) | | Negative (n = 47) | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Age (yr), Mean ± SD | 43.8 ± 8.4 | | 44.5 ± 11.6 | | 0.730 [a] | |
| Male | 30 | 62.5 | 6 | 12.8 | < 0.0001 [b] | 11.39 (4.04 – 32.13) |
| จบการศึกษาระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 22 | 45.8 | 13 | 27.7 | 0.066 [b] | 2.21 (0.94 – 5.21) |
| Health care personnel | 21 | 43.8 | 25 | 53.2 | 0.357 [b] | 0.68 (0.31 – 1.54) |
| เชื้อราที่ลำตัว หรือใบหน้า | 2 | 4.2 | 1 | 2.1 | 1.000 [c] | 2.00 (0.18 – 22.83) |
| เชื้อราที่ขาหนีบ ใต้ราวนม | 12 | 25.0 | 4 | 8.5 | 0.053 [c] | 3.58 (1.06 – 12.08) |
| เชื้อราที่เล็บ | 7 | 14.9 | 4 | 8.5 | 0.523 [c] | 1.89 (0.51 – 6.92) |
| เชื้อราที่ลำตัว, ใบหน้า, ขาหนีบ, ใต้ราวนม หรือที่เล็บ | 16 | 33.3 | 7 | 14.9 | 0.036 [b] | 2.86 (1.05 – 7.79) |

a. Unpaired t-test

b. Chi square test

c. Fisher's exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 10** ตารางแสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย Tetanus toxoid

| Factor | DTH response to Tetanus toxoid | | | | p value | Unadjusted OR (95%CI) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positive (n = 79) | | Negative (n = 16) | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Age (years), Mean ± SD | 43.2 ± 10.4 | | 48.9 ± 6.5 | | 0.004 [a] | |
| Male | 29 | 36.7 | 7 | 43.8 | 0.597 [b] | 0.746 (0.25 – 2.22) |
| จบการศึกษาระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 28 | 35.4 | 7 | 43.8 | 0.530 [b] | 0.71 (0.24 – 2.10) |
| Health care personnel | 42 | 53.2 | 4 | 25 | 0.550 [c] | 3.40 (1.01 – 11.49) |
| ประวัติการฉีดวัคซีน Tetanus toxoid | 66 | 83.5 | 9 | 56.3 | 0.015 [b] | 3.95 (1.25 – 12.51) |

a. Unpaired t-test

b. Chi square test

c. Fisher's exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 11** ตารางแสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทำการทดสอบด้วย Hepatitis B vaccine

| Factor | DTH response to Hepatitis B vaccine | | | | p value | Unadjusted OR (95%CI) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Positive (n = 5) | | Negative (n = 90) | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Age (yr), Mean ± SD | 44.4 ± 7.7 | | 44.1 ± 10.2 | | 0.951 [a] | |
| Male | 1 | 20.0 | 35 | 38.9 | 0.647 [b] | 0.39 (0.04 – 3.66) |
| จบการศึกษา ระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 0 | 0 | 35 | 38.9 | 0.154 [b] | 0.00 (0.00 – 1.97) |
| Health care personnel | 3 | 60.0 | 43 | 47.8 | 0.671 [b] | 1.64 (0.26 – 10.30) |
| ประวัติการฉีด Hepatitis B vaccine | 3 | 60.0 | 76 | 85.4 | 0.179 [b] | 3.90 (0.59 – 25.63) |

a. Unpaired t-test

b. Fisher's exact test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 12** แสดงค่า p value จาก Univariate Analysis ระหว่างปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อ DTH skin test

| ปัจจัย | PPD | Candida | trichophyton | Tetanus | HBV |
|---|---|---|---|---|---|
| อายุ | 0.940 | 0.418 | 0.730 | **0.035 ‡** | 0.951 |
| เพศ | 1.000 | 0.706 | **<0.0001 †** | 0.597 | 0.647 |
| จบการศึกษาระดับประถม 6 หรือ ต่ำกว่า | **0.038 *** | **0.044 ¶** | 0.066 | 0.530 | 0.154 |
| Health Care Personel | **0.007** | 0.258 | 0.357 | 0.055 | 0.671 |
| History of contact TB | 0.661 | | | | |
| **ประวัติการฉีดวัคซีน** | | | | | |
| BCG vaccine | 0.620 | | | | |
| Tetanus vaccine | | | | **0.015** | |
| Hepatitis vaccine | | | | | 0.179 |
| **ประวัติการติดเชื้อราในร่างกาย** | | | | | |
| เชื้อราในปาก หรือ ช่องคลอด | | **0.024** | | | |
| เชื้อราที่ลำตัว หรือ ใบหน้า | | | 1.000 | | |
| เชื้อราที่ขาหนีบ , ใต้ราวนม , รักแร้ หรือ ง่ามนิ้ว | | 0.090 | 0.053 | | |
| เชื้อราที่เล็บ | | 0.189 | 0.523 | | |
| ประวัติที่สงสัย Dermatophyte infection | | | **0.036** | | |

* กลุ่มที่จบการศึกษาสูงกว่าประถม 6 จะมีผลบวกต่อ PPD มากกว่า

¶ กลุ่มที่จบการศึกษาสูงกว่าประถม 6 จะมีผลบวกต่อ Candida มากกว่า

† เพศชายมีผลบวกต่อ *T. mentagrophytes* มากกว่าเพศหญิง

‡ คนที่ให้ผลบวกต่อ Tetanus toxoid จะมีอายุเฉลี่ยน้อยกว่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 13** แสดงผลการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตอบสนองของแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เมื่อทำ Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อวิเคราะห์แบบ Multi-covariate analysis

| Antigen | Factor | Unadjusted OR (95% CI) | Adjusted OR (95% CI) | p value |
|---|---|---|---|---|
| PPD | จบการศึกษาระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 0.330 (0.112 – 0.968) | 0.577 (0.175 – 1.869) | 0.359 |
| | Health care personnel | 5.747 (1.524 – 21.739) | 4.652 (1.112 – 18.726) | 0.035 |
| *C. albicans* extract | จบการศึกษาระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า | 1.132 (1.033 – 1.241) | 0.000 (0.000 – 1.5E + 35) | 0.848 |
| | เชื้อราในช่องปากหรือช่องคลอด | 0.115 (0.021 – 0.621) | 4.929 (0.905 – 26.845) | 0.065 |
| Tetanus toxoid | อายุ 40 ปีหรือ น้อยกว่า | 8.849 (1.113 – 71.428) | 1.213 (0.768 – 1.915) | 0.416 |
| | ประวัติการฉีดวัคซีน Tetanus toxoid | 3.401 (1.010 – 11.494) | 4.032 (1.266 – 12.849) | 0.018 |
| *T. mentagrophytes* extract | Male | 11.389 (4.037 – 32.126) | 10.42 (3.570 – 30.300) | < 0.0001 |
| | เชื้อราที่ลำตัว, ใบหน้า, ขาหนีบ, ใต้ราวนม หรือที่เล็บ | 2.857 (1.048 – 7.786) | 1.476 (0.452 – 4.826) | 0.519 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**a. ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง PPD**

จากตารางที่ 7 พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองแอนติเจน PPD เมื่อวิเคราะห์แบบ Univariate analysis คือ กลุ่ม Health care personnel พบว่า มีผลบวกต่อ PPD เท่ากับ 55.1% ในขณะที่กลุ่ม Non-health care personnel ให้ผลบวกต่อ PPD เท่ากับ 44.9% (p = 0.007, OR 5.75(1.52-21.74)) นอกจากนี้กลุ่มที่จบการศึกษาสูงกว่าประถม 6 จะมีผลบวกต่อ PPD เท่ากับ 67.9% ในขณะที่กลุ่มที่จบการศึกษาต่ำกว่าประถม 6 มีผลบวกต่อ PPD เท่ากับ 32.1% (p = 0.038, OR 0.33(0.11-0.97))

แต่เมื่อวิเคราะห์ Multi-covariate analysis ดังตารางที่ 13 แล้วพบว่า มีเพียงปัจจัย Health care personnel เท่านั้นที่มีผลต่อการตอบสนองของ PPD (p = 0.035, OR 4.65(1.11-18.63)) ซึ่งอาจเป็นจากการที่ระดับการศึกษาและHealth care personnel มีความสัมพันธ์กัน คือ ในกลุ่ม Health care personel จะมีการศึกษาที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Non-health care personnel (p < 0.0001)

**b. ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของ *C. albicans***

จาก Univariate analysis (ตารางที่ 8) พบว่าปัจจัยที่ผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทดสอบด้วย *C. albicans* ประกอบด้วย การศึกษาระดับประถม 6 หรือต่ำกว่า (p = 0.044, OR 1.13(1.03-1.24)) หรือ ประวัติการติดเชื้อราที่ช่องคลอด,ช่องปาก (p = 0.024, OR 0.12(0.02-0.62)) แต่อย่างไรก็ดีจาก Multi-covariate analysis ดังตารางที่ 13 พบว่าไม่มีปัจจัยใดมีผลต่อการตอบสนองของ *C. albicans* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**c. ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของ *T. mentagrophytes***

เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง ด้วยวิธี Univariate analysis (ตารางที่ 9) พบว่าเพศชายมีผลบวกต่อ *T. mentagrophytes* เท่ากับ 62.5% ในขณะที่เพศหญิงเท่ากับ 37.5% (p < 0.0001, OR 11.39(4.04-32.13)) นอกจากนี้พบว่าผู้ที่มีประวัติสงสัยว่าเคยมีการติดเชื้อรา Dermatophyte ที่ผิวหนังมีผลบวกเท่ากับ 69.6% ในขณะที่คนที่ไม่เคยเป็นมีผลบวกเท่ากับ 44.4% (p = 0.036, OR 2.857 (1.048 – 7.786))

เมื่อนำปัจจัยเหล่านี้มาวิเคราะห์ต่อด้วย Multi-covariate analysis ดังตารางที่ 13 พบว่า เพศชายเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test (p < 0.0001, OR 10.42 (3.570 – 30.300)) ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมพบว่าเพศชายมีประวัติการติดเชื้อรามากกว่าเพศหญิง (p = 0.001, OR 4.55(1.68 – 12.34))

**d. ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของ Tetanus toxoid**

จาก Univariate analysis (ตารางที่ 10) พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง Tetanus toxoid ได้แก่ อายุ พบว่าคนที่ให้ผลบวกต่อ Tetanus toxoid จะมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 43.2 ปี เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ผลลบต่อ Tetanus toxoid จะมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 48.9 ปี (p = 0.035) นอกจากนี้พบว่ากลุ่มที่มีประวัติฉีดวัคซีนบาดทะยักมาก่อนจะให้ผลบวกต่อ Tetanus toxoid 88% ในขณะที่คนไม่เคยฉีดวัคซีนบาดทะยักมาก่อนให้ผลบวกประมาณ 65% (p = 0.015, OR 3.95(1.25-12.51))

เมื่อนำปัจจัยเหล่านี้มาวิเคราะห์ต่อด้วย Multi-covariate analysis ดังตารางที่ 13 พบว่า มีเพียงประวัติการฉีดวัคซีนบาดทะยักมาก่อนที่มีผลต่อการตอบสนองจาก Tetanus toxoid (p = 0.018, OR 4.03 (1.27 – 12.85))

**e. ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของ Hepatitis B vaccine**

จาก Univariate analysis (ตารางที่ 11) โดยวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อการตอบสนองต่อ Hepatitis B vaccine ได้แก่ อายุ, เพศ, ระดับการศึกษา, Health care personnel และ ประวัติการฉีดวัคซีน Hepatitis B แล้วไม่พบว่ามีปัจจัยใดที่มีผลต่อการตอบสนองต่อ Hepatitis B vaccine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แต่ก็พบว่าคนที่มีประวัติฉีดวัคซีนตับอักเสบบีมาก่อนจะมีผลการตอบสนองต่อ Hepatitis B vaccine มากกว่าคนที่ไม่เคยฉีดวัคซีนมาก่อน (13.3% VS 3.8%, p = 0.179)

**4. ผลแทรกซ้อนจากการทำ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test**

มีผลแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นจากการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ทั้งหมด 60% ของประชากรตัวอย่าง โดยแบ่งออกเป็น Systemic side effect และ Local side effect (ตารางที่ 9, รูปที่ 6)

ในการวิจัยนี้หลังจากทำการเก็บข้อมูลในประชาการตัวอย่างไปจำนวน 20 คน พบว่ามีแอนติเจนหมายเลข 4 ที่ใช้ในการวิจัยนี้ มีผลข้างเคียงเกิดขึ้นมาก คือ มีอาการเจ็บที่ Induration ที่ฉีดแอนติเจนทั้งหมด 7 คน (35%) และมีไข้ 2 คน (10%)

ดังนั้นผู้วิจัยและอาจารย์ที่ปรึกษาจึงมีความเห็นให้มีการปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของแอนติเจนถึงแม้ว่าจะได้ใช้ในขนาดที่ผู้เชี่ยวชาญได้แนะนำให้ใช้[1] ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยให้ผู้ช่วยวิจัยเป็นผู้เปิดดูข้อมูลของแอนติเจนตัวนี้ซึ่งต่อมาทราบว่าเป็น *C. albicans* Extract และปรับความเข้มข้นน้ำยาเป็น 1:500 ซึ่งทางผู้วิจัยได้แจ้งต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยแล้ว

ภายหลังการทดสอบในประชากรตัวอย่างที่เหลือ 75 คน พบว่าผลแทรกซ้อนต่าง ๆ ลดลงจากเดิมอัตราการเกิดผลแทรกซ้อนรวมเท่ากับ 35% หลังจากลดความเข้มข้นลง 5 เท่าเป็น 1:500 อัตราการเกิดผลแทรกซ้อนลดลงเหลือ 26.7% (p = 0.463) อาการเจ็บบริเวณ Induration ที่ฉีดแอนติเจนลดลงจาก 35% เป็น 18% (p = 0.136) และ ไข้ลดลงจาก 10% เป็น 2.7% (p = 0.194) โดยที่ผลการตอบสนองไม่ได้เปลี่ยนแปลงจากเดิม คือ ผลบวกก่อนปรับความเข้มข้นเท่ากับ 90% หลังปรับความเข้มข้นเท่ากับ 93% (p = 0.636) ดังนั้นข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดสอบด้วย *C. albicans* Extract จึงขอสรุปรวมกัน เพื่อให้ง่ายต่อการเข้าใจ

Systemic side effect เกิดขึ้นทั้งหมด 9.5% ของประชากรตัวอย่าง โดยทั้งหมดมีอาการเหมือนกันคือ ไข้ โดยเกิดจาก Trichophyton มากที่สุด (n = 4) ส่วน PPD, Hepatitis B vaccine ไม่พบว่ามีอาการ Systemic side effect แต่อย่างใด

Local side effect มีอุบัติการณ์ประมาณ 60.0% มีดังนี้

Type I hypersensitivity reaction เกิดขึ้นทั้งหมด 4 คน ส่วนใหญ่ (n = 3) จะเป็นลักษณะ Wheal และ Flare บริเวณที่ฉีดแอนติเจนเท่านั้น ส่วนอีก 1 คน นอกจากมี Wheal และ Flare แล้วยังมี Urticaria ร่วมด้วยจำนวน 2 แห่ง (รูปที่7) แอนติเจนที่ทำให้เกิด Type I hypersensitivity reaction มากที่สุดก็คือ Trichophyton (n = 4) รองลงมาคือ Candida และ Tetanus toxoid (n = 3) โดย Wheal และ Flare ที่เกิดขึ้นนี้หายไปเองในเวลาประมาณ 30 นาที

อาการคันพบได้ประมาณ 31.6% ส่วนใหญ่แล้วอาการคันมีเพียงเล็กน้อย มักคันเฉพาะบริเวณ Induration ที่เกิดขึ้นเท่านั้น โดยพบว่าเกิดจาก Tetanus toxoid มากที่สุด (n = 17) ส่วน PPD และ Hepatitis B vaccine พบน้อยมาก คือ 1 และ 0 คนตามลำดับ

อาการเจ็บที่ Induration โดยสังเกตจากการที่มีอาการเจ็บขณะวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration พบได้ประมาณ 36.9% โดยพบว่า เกิดขึ้นจากCandida มากที่สุดคือ 22.1% (n = 22) ส่วน PPD และ Hepatitis B vaccine พบน้อยมาก คือ 2 และ 0 คนตามลำดับ

การเกิด Vesicle ที่บริเวณ Induration ที่ฉีดแอนติเจนนั้น พบได้ประมาณ 9.5% (n = 9) โดยพบว่าเกิดจาก Trichophyton 4 คน, Tetanus toxoid 3 คน และ Candida 3 คน ส่วน PPD และ Hepatitis B vaccine ไม่พบว่าทำให้เกิด Vesicle ในการวิจัยครั้งนี้

การรักษาอาสาสมัครที่มีผลข้างเคียงจาก DTH skin test ผู้วิจัยให้การรักษาตามอาการดังนี้

— ให้ยา Paracetamol (500 mg) 1-2 tablet po prn เวลามีอาการไข้ หรือ เจ็บบริเวณ Induration ที่เกิดจากการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test
— ให้ยา Second / Third generation antihistamine คือ Clarityne (10 mg.) หรือ Fexofenadine (60 mg.) 1 tablet po od / bid ถ้าหากมีอาการคันบริเวณ Induration หรือ ในกรณีที่เกิด Type I hypersensitivity reaction
— ให้ยา Betamethasone Cream ทาหลังจากที่อ่านผลการทดสอบที่ 48 ชั่วโมงแล้ว ในคนที่มีอาการเจ็บ มี Vesicle หรือ Induration มีขนาดใหญ่
— ให้ยา Prednisolone (5 mg.) 10-20 mg. / day เป็นเวลา 3 วันหลังจากที่อ่านผลการทดสอบที่ 48 ชั่วโมงแล้ว โดยจะให้ทานเฉพาะในคนที่มี Systemic reaction, มีอาการเจ็บที่ Induration, มี Vesicle ที่ Induration หรือ Induration มีขนาดใหญ่ แต่ทั้งนี้เป็นไปตามความสมัครใจของอาสาสมัคร ซึ่งผู้วิจัยจะบอกถึงผลดี ผลเสียก่อนที่จะทานยา

ซึ่งหลังจากการรักษาด้วยยาดังที่กล่าวมาแล้ว อาการแทรกซ้อนต่างดีขึ้นทุกราย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 14** แสดงผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test

| Antigen | Total | | Fever | | Local | | Tender | | Itching* | | Vesicle | | type I reaction | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | % | n | % | N | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| PPD | 3 | 3.2 | 0 | 0 | 3 | 3.2 | 2 | 2.1 | 1 | 1.1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Candida | 27 | 28.4 | 3 | 3.2 | 27 | 28.4 | 21 | 22.1 | 10 | 10.5 | 4 | 4.2 | 3 | 3.2 |
| Trichophyton | 20 | 21.1 | 4 | 4.2 | 20 | 21.1 | 9 | 9.5 | 14 | 14.7 | 4 | 4.2 | 4 | 4.2 |
| Tetanus toxoid | 28 | 29.5 | 1 | 1.1 | 28 | 29.5 | 14 | 14.7 | 17 | 17.9 | 4 | 4.2 | 3 | 3.2 |
| Hepatitis B vaccine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Subtotal | 57 | 60 | 7 | 7.4 | 57 | 60 | 35 | 36.9 | 30 | 31.57 | 9 | 9.5 | 4 | 4.2 |

* most of subjects had only mild itching, but 1/30 subject had severe itching with generalized urticaria

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 6

# อภิปรายผลการวิจัย

## 1. ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง

จากผลการวิจัยจะเห็นว่าประชากรที่เข้าร่วมการวิจัยนี้ คือ เจ้าหน้าที่ใน รพ. จุฬาลงกรณ์ที่คาดว่ามีภูมิคุ้มกัน Cell-mediated immunity อยู่ในเกณฑ์ปกติ คือ ไม่มีประวัติการติดเชื้อที่รุนแรงในอดีต, ไม่มีประวัติการเป็นมะเร็งมาก่อน, ไม่ได้รับยาที่มีผลต่อการทำงานของ Cell-mediated immunity เช่น Systemic Corticosteroids, Methotrexate เป็นต้น, ไม่มีโรคประจำตัวที่ผลต่อการทำงานของ Cell-mediated immunity เช่น โรคไตวายเรื้อรัง, โรคตับแข็ง รวมทั้งผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ซึ่งอาจมีกลุ่มผู้ป่วย HIV ที่ยังไม่มีอาการเข้าร่วมการวิจัยนี้ได้เนื่องจากเกณฑ์การคัดออกนั้นอาศัยเพียงประวัติเท่านั้นซึ่งความไวอาจไม่สูงมากนัก แต่อย่างไรก็ดีก็คาดว่าไม่น่ามีมากนักเนื่องจากอุบัติการณ์การติดเชื้อ HIV ในคนไทยที่มีอาการปกติประมาณ 1.7-2.2%[38]

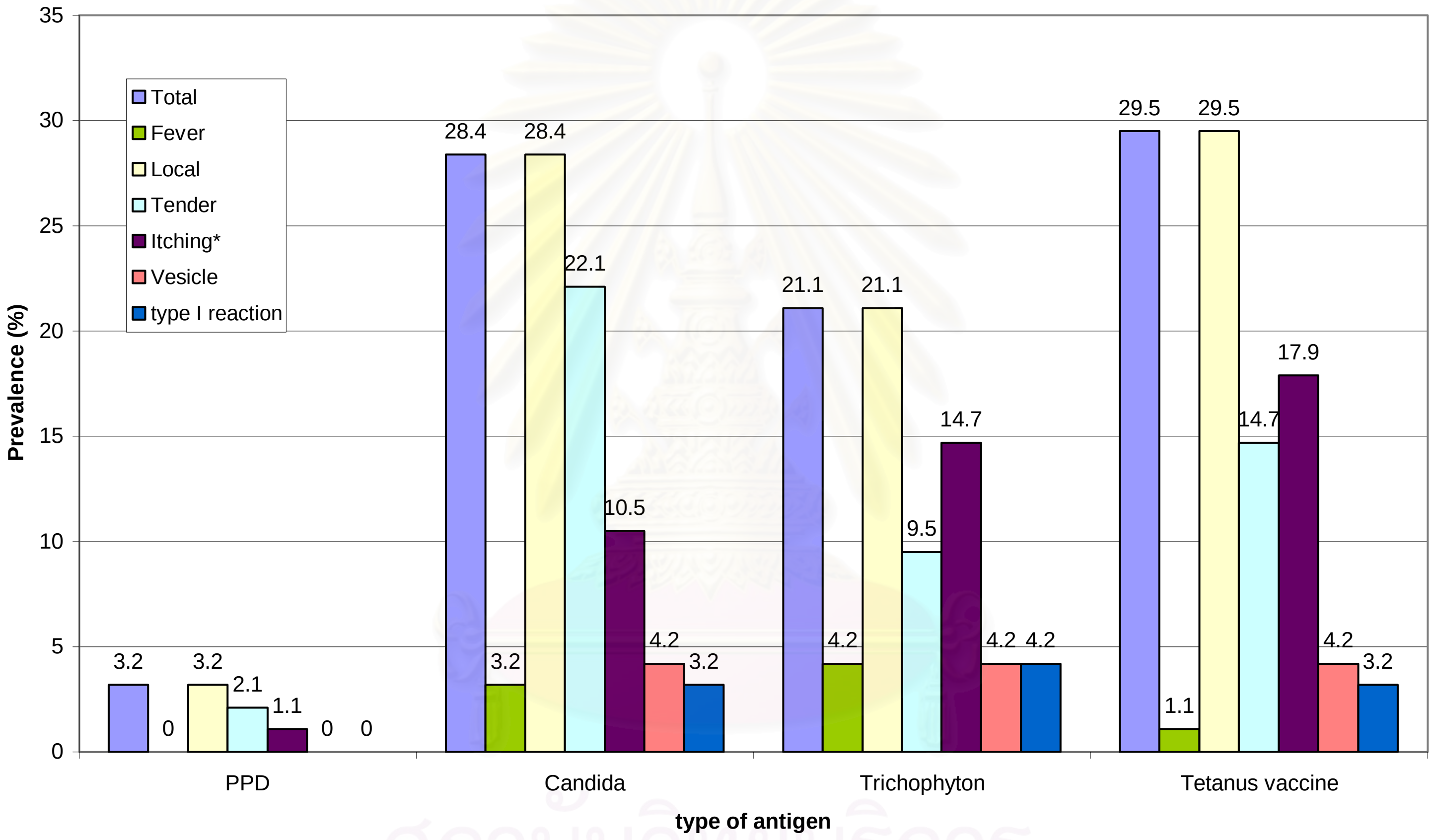
ประชากรตัวอย่างในการวิจัยนี้เป็นเจ้าหน้าที่ใน รพ. จุฬาลงกรณ์ ทั้งหมด โดย 48.4% เป็นเจ้าหน้าที่ที่จะต้องให้บริการแก่ผู้ป่วยอย่างใกล้ชิดซึ่งอาจทำให้มีโอกาสสัมผัสกับแอนติเจนบางอย่างมากกว่าประชากรทั่วไปได้ โดยเฉพาะ PPD ประชากรประมาณ 36.8% จบการศึกษาในระดับประถม 6 หรือต่ำกว่าซึ่งอาจเป็นกลุ่มคนที่มี Low socioeconomic status ซึ่งอาจเป็นกลุ่มคนที่อาจมีการสัมผัสกับเชื้อโรคในธรรมชาติมากกว่า

## 2. ผลการทดสอบ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test

จากผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ที่ได้จากการวิจัยนี้ พบว่า *C. albicans* extract ให้ผลบวกมากที่สุด 92.6% รองลงมาคือ Tetanus toxoid 83.2%, PPD 82.1%, *T. mentagrophytes* extract 50.5% และ Hepatitis B vaccine 5.3%

เหตุที่ผลการตอบสนองของ Hepatitis B vaccine นั้นออกมาค่อนข้างต่ำ อาจเป็นจากความเข้มข้นของน้ำยาไม่เหมาะสมทั้งนี้เนื่องจากยังไม่เคยมีข้อมูลอื่นมาก่อน แต่อย่างไรก็ดีทางผู้วิจัยก็ใช้ความเข้มข้นเท่ากับที่ผลิตมาจากบริษัทซึ่งคาดว่าน่าจะให้ผลตอบสนองได้ดีที่สุดแล้ว ส่วนอีกประการหนึ่งนั้นอาจเป็นมาจากการที่ภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบ บี มีทั้งในส่วนของ Cell-mediated immunity และในส่วนของ Humoral immunity การตอบสนองในส่วนของ Cell-mediated immunity นั้นพบว่า Cytotoxic T lymphocyte นั้นส่วนใหญ่จะให้การตอบสนองต่อ HBV capsid และ Envelop protein[34] ในขณะที่ Hepatitis B vaccine นั้นจะประกอบด้วย surface Ag ของเชื้อไวรัสเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงทำให้มีการตอบสนองค่อนข้างน้อย

**รูปที่ 6** แผนภูมิแท่งแสดงผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทำ DTH skin test




สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**รูปที่ 7** แสดงผลข้างเคียงชนิด Type I Hypersensitivity ที่เกิดขึ้น

Wheal และ Flare ที่เกิดขึ้นบริเวณที่ฉีด Trichophyton

Urticaria ที่เกิดขึ้นที่บริเวณลำตัว

Urticaria ที่เกิดขึ้นบริเวณ Right arm

(ฉีดแอนติเจนที่แขนซ้าย)

เมื่อนำผลการตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test ที่ได้จากงานวิจัยนี้นำไปเปรียบเทียบกับผลงานวิจัยอื่นในอดีต (ตารางที่ 10, รูปที่ 8) พบว่า มีความแตกต่างกันไปในแต่ละงานวิจัย ซึ่งอาจมีสาเหตุดังนี้

ประการแรกเป็นจากการที่มีลักษณะพื้นฐานของประชากรในแต่ละการศึกษาที่แตกต่างกัน เห็นได้จากการที่ผลการตอบสนองต่อ PPD ในการวิจัยนี้มีมากกว่ากลุ่มอื่นซึ่งอาจเป็นจากการที่มี Health care personnel ในประชากรตัวอย่างในการวิจัยนี้อยู่ 48.4% นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ เห็นได้จากการที่ผลการตอบสนองต่อแอนติเจน Tetanus toxoid และ *C. albicans* extract ที่ได้จากการวิจัยนี้เมื่อไปเปรียบเทียบกับของ Brown AE, 2000[22] มีค่าที่ใกล้เคียงกัน

ประการที่สอง ความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบมีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากแอนติเจนที่ใช้ทดสอบแต่ละตัวนั้นอาจมาจากแหล่งผลิตที่แตกต่างกันซึ่งอาจแนะนำให้ใช้ความเข้มข้นที่จะใช้ทดสอบที่แตกต่างกัน เช่น

จากการที่หน่วยของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบไม่เหมือนกัน เช่น หน่วยของ Tetanus toxoid ที่ใช้ทดสอบก็เป็นปัญหาเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากปัจจุบัน Tetanus toxoid ใช้หน่วยเป็น IU แล้วในขณะงานวิจัยอื่นจะใช้เป็นหน่วย Lf ซึ่งทั้งสองหน่วยนี้ไม่สามารถคำนวณเปลี่ยนหน่วยกันได้[39] และสุดท้ายคือไม่สามารถจัดหาความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้มาทดสอบได้ เช่น *T. mentagrophytes* extract ที่ผลิตโดยบริษัท Greer มีจำหน่ายในความเข้มข้นสูงสุด 1:20 แต่ความเข้มข้นที่ผู้เชี่ยวชาญแนะนำคือ 1:10[1]

แต่สำหรับกรณีของ PPD ที่ผลิตโดยสภากาชาดไทยนั้นจะแนะนำให้ใช้ความเข้มข้น 10 TU/0.1ml ในขณะที่การวิจัยอื่น ๆ มักจะใช้ความเข้มข้น 5 TU/0.1ml[1, 4, 10, 15, 17] แต่ก็ไม่น่าจะมีผลต่อการวิจัยมากนัก เนื่องจากการศึกษาของ Bharnthong 1993[40] ได้ทำการเปรียบเปรียบเทียบ PPD ที่ผลิตโดยองค์การอนามัยโลก (PPD-S) กับ ที่ผลิตโดยสภากาชาดไทย พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน

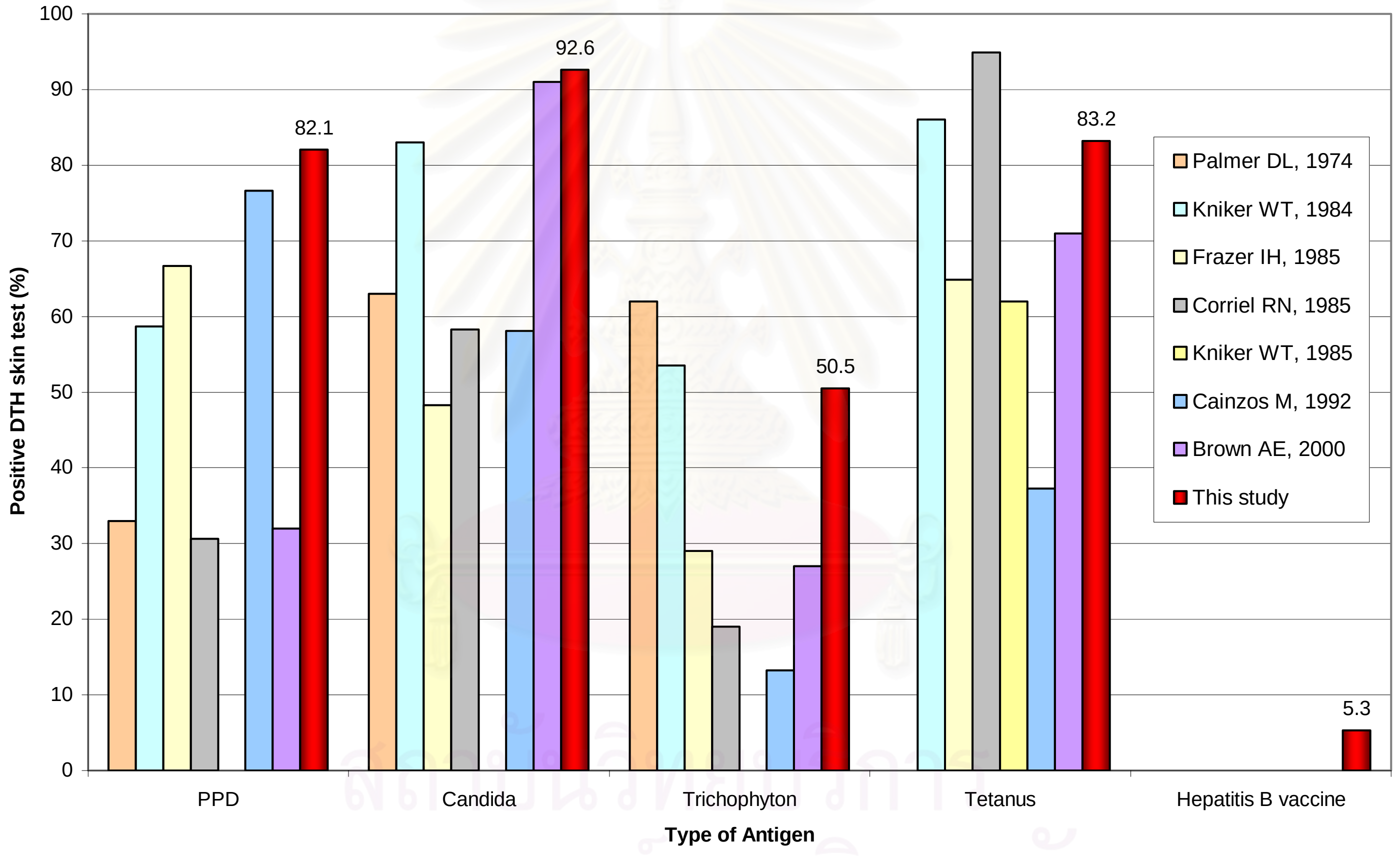
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ตารางที่ 15** แสดงการเปรียบเทียบผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test จากการวิจัยในอดีต และจากผลการวิจัยนี้

| Authors | Method | Population | | | | % of positive DTH skin test | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N | Country | Description | Age (y) | PPD | Candida | Trichophyton | Tetanus | Hepatitis B vaccine |
| Palmer DL, 1974 | Mantoux | 752 | Mexico | Inpatient | 50 | 33 | 63 | 62 | | |
| Kniker WT, 1984 | Multitest | 402 | USA | Healthy | 17-92 | 58.7 | 83 | 53.5 | 86 | |
| Frazer IH, 1985 | Multitest | 110 | Australia | Healthy | 38.8 | 67 | 48 | 29 | 65 | |
| Corriel RN, 1985 | Multitest | 448 | USA | Healthy | 10.9 | 30.6 | 58.3 | 19 | 94.9 | |
| Kniker WT, 1985 | Multitest | 221 | USA | Healthy | 4.2 | | | | 62 | |
| Cainzos M, 1992 | Multitest | 1,476 | Spain | Healthy | 49.6 | 76.6 | 58.1 | 13.2 | 37.3 | |
| Brown AE, 2000 | Mantoux | 70 | Thai | HIV, CD4 > 400 | | 32 | 91 | 27 | 71 | |
| **This study** | **Mantoux** | **95** | **Thai** | **Healthy** | **44.1** | **82.1** | **92.6** | **50.5** | **83.2** | **5.3** |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**รูปที่ 8** แสดงการเปรียบเทียบผลการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test จากการวิจัยในอดีต และจากผลการวิจัยนี้



**3. ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test**

จาก Multicovariate analysis พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง Delayed-type hypersensitivity skin test ได้แก่ Health care personnel (PPD), เพศชาย (Trichophyton) และประวัติการฉีดวัคซีนบาดทะยัก (Tetanus toxoid) ดังนี้

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทดสอบด้วย PPD จาก Multicovariate analysis (ตารางที่ 13)ได้แก่ Health Care Personnel โดยพบว่า Health Care Personnel มีผลบวกต่อ PPD เท่ากับ 55.1% เปรียบเทียบกับกลุ่ม Non-health care personnel ที่มีผลบวกต่อ PPD เท่ากับ 17.6% (p = 0.035, OR 4.65(1.11-18.73)) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ เกี่ยวกับวัณโรคในบุคคลากรการแพทย์ เช่น จากงานวิจัยของ Heimbeck [41, 42] ได้ทำ PPD skin test ในนักเรียนพยาบาลก่อนเริ่มศึกษาจำนวน 420 คน พบว่ามีผลลบ 220 คน และได้ทำซ้ำอีกครั้งเมื่อเรียนจบ พบว่ามี conversion ถึง 95%

ปัจจัยที่มีผลต่อ Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทดสอบด้วย *T. mentagrophytes* extract จาก Multicovariate analysis (ตารางที่ 13) พบว่า เพศชายมีผลบวกเท่ากับ 62.5% ในขณะที่เพศหญิงเท่ากับ 37.5% (p < 0.0001, OR 10.42(3.57-30.30)) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เพศชายมีผลต่อการตอบสนองของ Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อทดสอบด้วย Trichophyton นั้นยังไม่สามารถอธิบายได้ แต่เมื่อวิเคราะห์เพิ่มเติมพบว่า ในเพศชายนั้นมีประวัติการติดเชื้อรามากกว่าในเพศหญิง (65% กับ 35%, p = 0.002,OR 4.55 (1.68 – 12.34)) และได้นำผลการวิจัยนี้ไปเปรียบเทียบกับงานวิจัยในอดีตพบว่ามีความแตกต่างกัน เช่น

Kniker WT, 1984[21] ทำการวิจัยโดยทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test (Multitest) ในคนอเมริกา จำนวน 402 คน พบว่าผลการตอบสนองของ Trichophyton ในเพศชายและหญิงไม่มีความแตกต่างกัน ( 55.7% และ 51.6%, p > 0.05)

CaÍnZos M, 1992[23] ทำการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test (Multitest) ในคนเสปนที่สุขภาพปกติ จำนวน 1476 คน พบว่าขนาดของ Induration (mm.) ที่เกิดจากการทดสอบด้วย Trichophyton ในผู้ชายและผู้หญิงมีขนาดไม่ต่างกัน ( 4 mm. กับ 3.9 mm.)

ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของ Tetanus toxoid เมื่อทดสอบด้วย Delayed-type hypersensitivity skin test เมื่อได้วิเคราะห์แบบ Multicovariate analysis (ตารางที่ 13) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง คือ ประวัติการฉีดวัคซีนบาดทะยักในอดีต พบว่าคนที่มีประวัติฉีดวัคซีนมาก่อนจะมีการตอบสนองต่อ Tetanus toxoid มากกว่า (88% เปรียบเทียบกับ 65%, p = 0.038, OR 3.87(1.19-12.57))

ความสัมพันธ์ระหว่างประวัติการฉีดวัคซีนบาดทะยัก และ การตอบสนองต่อ Tetanus toxoid นี้ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับงานวิจัยในอดีต พบว่ามีความสอดคล้องกัน ดังนี้

มนตรี อัสสมงคล, 2536[43] ได้ทำ Delayed-type hypersensitivity skin test โดยฉีด Tetanus toxoid ในเด็กอายุต่างกันตั้งแต่ 2-48 เดือน จำนวน 533 ราย พบว่าในเด็กที่เคยฉีดวัคซีนคอตีบ ไอกรน บาดทะยัก (DPT) มา 1 ครั้ง ให้ผลบวก 30.9% ถ้าได้รับวัคซีนมา 2 ครั้ง ให้ผลบวก 76.8% ถ้าได้รับวัคซีนมา 3 ครั้ง ให้ผลบวก 90.7-98.7% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การได้รับแอนติเจนเข้าไปกระตุ้น T cells ในร่างกายยิ่งบ่อยเท่าใดก็จะช่วยให้ T cells นั้นจำแอนติเจนชนิดนั้นได้ดียิ่งขึ้น และสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา Delayed-type hypersensitivity ได้ดียิ่งขึ้น

จากงานวิจัยนี้พบว่า มีคนที่เคยฉีดวัคซีนบาดทะยักมาก่อนทั้งหมด 72 คน (75.8%) ส่วนคนที่ไม่เคยฉีดมี 23 คน (24.2%) พบว่าคนที่มีประวัติเคยฉีดวัคซีนบาดทะยักมามากกว่า 5 ปี มีทั้งหมด 50 คน (52.6%) ส่วนกลุ่มอื่น ๆ นั้น คนที่เคยฉีดวัคซีนระหว่าง 1-5 ปี จำนวน 18 คน (18.9%) และคนที่ฉีดมาน้อยกว่า 1 ปี มีจำนวน 4 คน (4.2%)

เมื่อได้วิเคราะห์เพิ่มเติม พบว่าคนที่ฉีดวัคซีนป้องกันบาดทะยักมาน้อยกว่า 1 ปี ตอบสนองต่อ Tetanus toxoid ทุกคน (100%) รองลงมาคือ คนที่เคยฉีดวัคซีนระหว่าง 1-5 ปี (94.4%), เคยฉีดวัคซีนบาดทะยักมามากกว่า 5 ปี จะให้ผลบวก 88% ในขณะที่คนที่ไม่มีประวัติฉีดวัคซีนเลยจะให้ผลบวกน้อยที่สุด (65%) แต่ความแตกต่างนี้ไม่นัยสำคัญทางสถิติ (Mann-Whitney test, $p = 0.096$) ส่วนหนึ่งอาจเป็นจากการที่จำนวนประชากรในบางกลุ่ม ได้แก่ คนที่เคยฉีดวัคซีนระหว่าง 1-5 ปี มีจำนวนน้อยเกินไป

**4. ผลแทรกซ้อนจากการทำ Delayed-Type Hypersensitivity Skin Test**

ผลแทรกซ้อนจากการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test มีทั้งหมดประมาณ 60% ผลข้างเคียงที่เกิดค่อนข้างมากนั้นส่วนใหญ่เป็นอาการที่ไม่รุนแรง เช่น อาการคันที่บริเวณ Induration (31.6%) หรือ อาการเจ็บ Induration ขณะที่วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Induration (37%) ส่วนอาการแทรกซ้อนที่ค่อนข้างรุนแรงนั้น ได้แก่ อาการไข้ (7.4%) และ Vesicle ที่บริเวณที่ฉีดแอนติเจน (9.5%)

เมื่อแยกดูทีละแอนติเจน พบว่า *C. albicans* extract และ Tetanus toxoid เป็นแอนติเจนที่มีผลแทรกซ้อนมากที่สุด (28.4% และ 29.5%) รองลงมาคือ Trichophyton พบประมาณ 21.1% ส่วน PPD และ Hepatitis B vaccine นั้นพบได้น้อยมาก ( 3.2% และ 0%)

จะเห็นได้ว่าถึงแม้ทางผู้วิจัยจะได้พยายามปรับความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้ทดสอบให้เหมาะสมแล้วตามคำแนะนำของผู้เชี่ยวชาญ หรือ ผู้ผลิตดังที่ได้กล่าวมาก็ยังมีอุบัติการณ์ของผลข้างเคียงที่ค่อนข้างมาก ส่วนหนึ่งอาจเนื่องจากประชากรที่นำมาทดสอบก็มีความแตกต่างกันในข้อมูลพื้นฐาน หรือปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการนำแอนติเจนเหล่านี้ไปใช้ตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test คงต้องพิจารณาในแง่ของผลแทรกซ้อนร่วมด้วย

ปฏิกิริยาชนิด type I hypersensitivity reaction เกิดขึ้นในอาสาสมัครทั้งหมด 4 คน โดยพบว่าเกิดกับ *C. albicans* extract, *T. mentagrophytes* extract และ Tetanus toxoid ส่วนใหญ่เป็นเพียง

wheal และ flare เฉพาะบริเวณที่ฉีดแอนติเจนเท่านั้น มีเพียง 1 รายที่มี Urticaria (รูปที่ 7, ตารางที่ 11)

อุบัติการณ์ของ type I hypersensitivity reaction จากการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test จากการทบทวนบทความในอดีตพบว่ามีรายงานใน *T. mentagrophytes* extract และ Tetanus toxoid ดังนี้

Jones HE, 1973[44] ได้ทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ต่อ Trichophyton ในอาสาสมัครที่แข็งแรงดี อายุเฉลี่ยประมาณ 30.5 ปี พบว่ามีการตอบสนองต่อ Trichophyton แบบ Immediate type reaction 14% (n = 28/200) และใน 28 คนนี้เกิดทั้ง Immediate type และ Delayed-Type Hypersensitivity reaction จำนวน 17 คนจาก 28 คน (60%) จากข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ (ตารางที่ 11) พบว่า มีคนที่มี Immediate type reaction ต่อ Trichophyton 4 คน (4.2%) โดย 3 ใน 4 คนนี้พบว่ามี Delayed-type hypersensitivity reaction ร่วมด้วยที่ 48 ชั่วโมง

Facktor MA, 1973[45] ทำการศึกษาการตอบสนองทางผิวหนังต่อ Tetanus toxoid ในประชากร 70 คน ทุกคนเคยได้รับวัคซีนป้องกันบาดทะยักมาก่อน จากการวิจัยพบว่ามีอัตราการเกิด Immediate type reaction สูงถึง 62.7% และเกิด Delayed-type hypersensitivity reaction 74% จะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างจากงานวิจัยนี้มาก คือจากงานวิจัยนี้พบว่ามี Immediate type reaction ต่อ Tetanus toxoid 3 คน (3.2%) สาเหตุนอกจากความแตกต่างกันในส่วนของประชากรที่นำมาศึกษาแล้ว อีกส่วนหนึ่งอาจมาจากกระบวนการผลิตในสมัยนี้มีการผลิตวัคซีนที่มีความบริสุทธ์มากกว่าสมัยก่อน

ส่วนรายงาน Immediate type reaction จากการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test ด้วย *C. albicans* extract นั้นยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน

สำหรับพยาธิกำเนิดของการเกิด Immediate type reaction จากการทดสอบ Delayed-type hypersensitivity reaction นั้นมีผู้ศึกษาไว้ดังนี้

Dvorak HF, 1976[28, 46] ได้ตรวจตรวจชิ้นเนื้อที่ผิวหนังของอาสาสมัครจำนวน 22 คนหลังจากการทดสอบผิวหนังด้วย DNCB พบว่านอกจากตรวจพบว่ามี Lymphocyte และ Macrophage แล้ว ยังตรวจพบว่ามี Basophil และ Mast cell ที่บริเวณนั้นร่วมด้วย ซึ่งต่อมาก็ได้วิจัยเพิ่มเติมโดยตรวจดูการ degranulation ของ Basophil โดย Electron microscope ก็พบว่า การ degranulation ของ Basophil สามารถเกิดขึ้นตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกหลังจากที่ได้ทา DNCB[13]

**ตารางที่ 16** แสดงข้อมูลของผลการทดสอบ DTH skin test เฉพาะผู้ที่มี type I hypersensitivity reaction ร่วมด้วย

| Antigen | overall local type I reation* (n) | | type I positive , type IV negative (n) | | type I positive, type IV positive (n) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | % | n | % | n | % |
| PPD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Candida | 3 | 3.2 | 1 | 1.1 | 2 | 2.1 |
| Trichophyton | 4 | 4.2 | 1 | 1.1 | 3 | 3.2 |
| Tetanus vaccine | 3 | 3.2 | 0 | 0 | 3 | 3.2 |
| Hepatitis B vaccine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* only one subject with generalized urticaria

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**5. การเลือกแอนติเจนที่จะนำมาใช้ทดสอบ**

การเลือกชนิดของแอนติเจนที่จะนำมาทดสอบ DTH skin test นั้น คงจะต้องพิจารณาในปัจจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ประการแรก พิจารณาจากอัตราการตอบสนองในคนปกติ ซึ่งจากข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้พบว่าแอนติเจนที่ให้ผลบวกมากที่สุดคือ C. albicans Extract (92%) รองลงมา คือ Tetanus toxoid (83%)และ PPD-TRC (82%) ส่วน T. mentagrophytes Extract และ Hepatitis B vaccine มีการตอบสนองที่ค่อนข้างต่ำกว่ามาก คือ 50.5% และ 5.3% ดังนั้นแอนติเจน C. albicans Extract, Tetanus toxoid และ PPD-TRC จึงเป็นแอนติเจนที่เหมาะสมที่น่าจะนำไปทดสอบ DTH skin test ต่อไป

ประการที่สอง พิจารณาจากราคา และความสะดวกในการจัดซื้อแอนติเจนแต่ละชนิด จากข้อมูลดังตารางที่ 17 พบว่า C. albicans Extract, Tetanus toxoid และ PPD-TRC มีราคาถูกกว่า Engerix-B vaccine และ T. mentagrophytes Extract ส่วนการจัดหาแอนติเจนนั้น Tetanus toxoid มักจะมีอยู่ในโรงพยาบาลทั่วไปและ PPD-TRC สามารถสั่งซื้อได้โดยตรงจากสภากาชาดไทย แต่ C. albicans Extract นั้นต้องสั่งซื้อจากบริษัท Greer Lab ที่ประเทศอเมริกาโดยผ่านผู้แทนจำหน่ายในประเทศไทย

**ตารางที่ 17** เปรียบเทียบราคาของแอนติเจนแต่ละชนิดต่อการทดสอบ DTH skin test หนึ่งครั้ง

| Antigen | Inventor | Concentration | Price / Test (Bath) |
|---|---|---|---|
| PPD-TRC | Thai Red Cross | 10 i.u./0.1 ml | 4 |
| T. mentagrophytes Extract | Greer Lab | 1:20 w/v | 25 |
| Engerix-B vaccine | GlaxoSmithKline | 20 mcg / ml | 20 |
| Tetanus toxoid | Pasteur Mérieux | 40 i.u. / 0.5 ml | 4 |
| C. albicans Extract | Greer Lab | 1:500 w/v | 1 |

ประการที่สาม พิจารณาจากผลแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้น โดยพบว่า Tetanus toxoid (29.5%) และ Candida (28.4%) มีผลข้างเคียงมากที่สุด รองลงมาคือ Trichophyton (21.1%) ส่วน PPD นั้นพบน้อยมาก (3.2%) แต่ถ้าหากพิจารณาเฉพาะผลข้างเคียงที่ค่อนข้างรุนแรงแล้วพบว่า ทั้ง Candida, Trichophyton และ Tetanus toxoid นั้นมีผลข้างเคียงไม่มาก คือ ไข้ ประมาณ 1.1-4.2%, Vesicle ประมาณ 4% (รูปที่ 9)

เมื่อประมวลปัจจัยทั้งสามดังที่กล่าวมา แอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบ DTH skin test จะประกอบด้วย PPD, C. albicans Extract และ Tetanus toxoid ส่วน *T. mentagrophytes* extract นั้นมีความเหมาะสมน้อยกว่าเนื่องจากทำให้มีการตอบสนองน้อยกว่า และยังมีราคาสูงกว่าอีกด้วย

สำหรับ Hepatitis B vaccine ไม่เหมาะสมที่จะนำไปทดสอบ DTH skin test เนื่องจากมีการตอบสนองค่อนข้างต่ำมากในประชากรตัวอย่าง

ส่วนจำนวนแอนติเจนและชุดของแอนติเจนที่จะนำมาใช้ทดสอบนั้น อาจพิจารณาจากการเลือกชุดของแอนติเจนที่ให้การตอบสนองในประชากรส่วนใหญ่ และมีผลข้างเคียงในจำนวนที่ไม่มาก ดังที่ได้แสดงการวิเคราะห์เพิ่มเติมไว้ดังรูปที่ 10 และรูปที่ 11

หากเลือกใช้แอนติเจนทดสอบ DTH skin test ทั้งหมด 2 ตัว จากแอนติเจนที่แนะนำไว้ข้างต้น คือ C. albicans Extract, Tetanus toxoid และ PPD-TRC พบว่า อัตราการตอบสนองของชุดแอนติเจน C. albicans Extract ร่วมกับ Tetanus toxoid จะมีอัตราการตอบสนองมากกว่า โดยมีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนอย่างน้อย 1 ตัวเท่ากับ 100% และอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนทั้งสองตัวเท่ากับ 75.8% รองลงมาคือ ชุดแอนติเจน PPD-TRC ร่วมกับ C. albicans Extract มีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนอย่างน้อย 1 ตัวเท่ากับ 100% และอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนทั้งสองตัวเท่ากับ 74.7% ส่วนลำดับสุดท้ายคือ ชุดแอนติเจน PPD-TRC และ Tetanus toxoid มีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนอย่างน้อย 1 ตัวเท่ากับ 96.8% และมีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนทั้งสองตัวเท่ากับ 68.4% (รูปที่ 10)

สำหรับผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นนั้น ชุดแอนติเจน PPD-TRC และ Tetanus toxoid จะมีผลข้างเคียงน้อยกว่าคือ ผลข้างเคียงเฉพาะที่ 31.6% ซึ่งส่วนใหญ่มีอาการไม่รุนแรงดังที่ได้กล่าวไว้ในข้างต้น ส่วนผลข้างเคียงที่รุนแรงได้แก่ vesicle 3.2%, อาการไข้ 1.1% และ type I reaction 3.2% เปรียบเทียบกับ ชุดแอนติเจน C. albicans Extract ร่วมกับ Tetanus toxoid พบว่ามี vesicle 7.4%, อาการไข้ 4.2% และ type I reaction 3.2% ส่วนชุดแอนติเจน PPD-TRC ร่วมกับ C. albicans Extract นั้นพบว่ามี vesicle 4.2%, อาการไข้ 4.2% และ type I reaction 3.2% สรุปว่าหากเปรียบเทียบผลข้างเคียงที่รุนแรงแล้วพบว่า ชุดแอนติเจน PPD-TRC และ Tetanus toxoid มีผลข้างเคียงน้อยกว่า ชุดแอนติเจน PPD-TRC ร่วมกับ C. albicans Extract หรือ ชุดแอนติเจน C. albicans Extract ร่วมกับ Tetanus toxoid (รูปที่ 10)

หากเลือกใช้แอนติเจนมาทดสอบ DTH skin test ทั้งหมด 3 ตัวโดยเลือกใช้ C. albicans Extract, PPD-TRC และ Tetanus มีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนอย่างน้อย 1 ตัวเท่ากับ 100% และมีอัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนอย่างน้อยสองตัวเท่ากับ 96.8% โดยที่มีผลข้างเคียงที่รุนแรง ได้แก่ vesicle 7.4%, อาการไข้ 4.2% และ type I reaction 3.2% (รูปที่ 11)

จากข้อมูลข้างต้นเห็นว่า หากเลือกใช้แอนติเจนทั้งหมด 3 ตัว จะมีอัตราการตอบสนองที่ดีกว่าการเลือกแอนติเจนมาทดสอบ DTH skin test ครั้งละ 2 ตัว โดยที่ผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นนั้นจะมากกว่าการใช้ PPD-TRC ร่วมกับ Tetanus toxoid หรือ PPD-TRC ร่วมกับ C. albicans Extract ในปริมาณที่ไม่มากนัก ดังข้อมูลที่ได้กล่าวไว้ในข้างต้น แต่หากเปรียบเทียบกับชุดแอนติเจนที่ใช้ C. albicans Extract ร่วมกับ Tetanus toxoid พบว่ามีผลข้างเคียงเท่ากับการใช้แอนติเจนทั้งสามตัวพร้อม ๆ กัน ดังนั้นหากพิจารณาจากผลการตอบสนองและผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นแล้ว ในการทดสอบ DTH skin test ควรพิจารณาใช้ PPD-TRC, Tetanus toxoid และ C. albicans Extract ในการทดสอบทั้งสามตัว

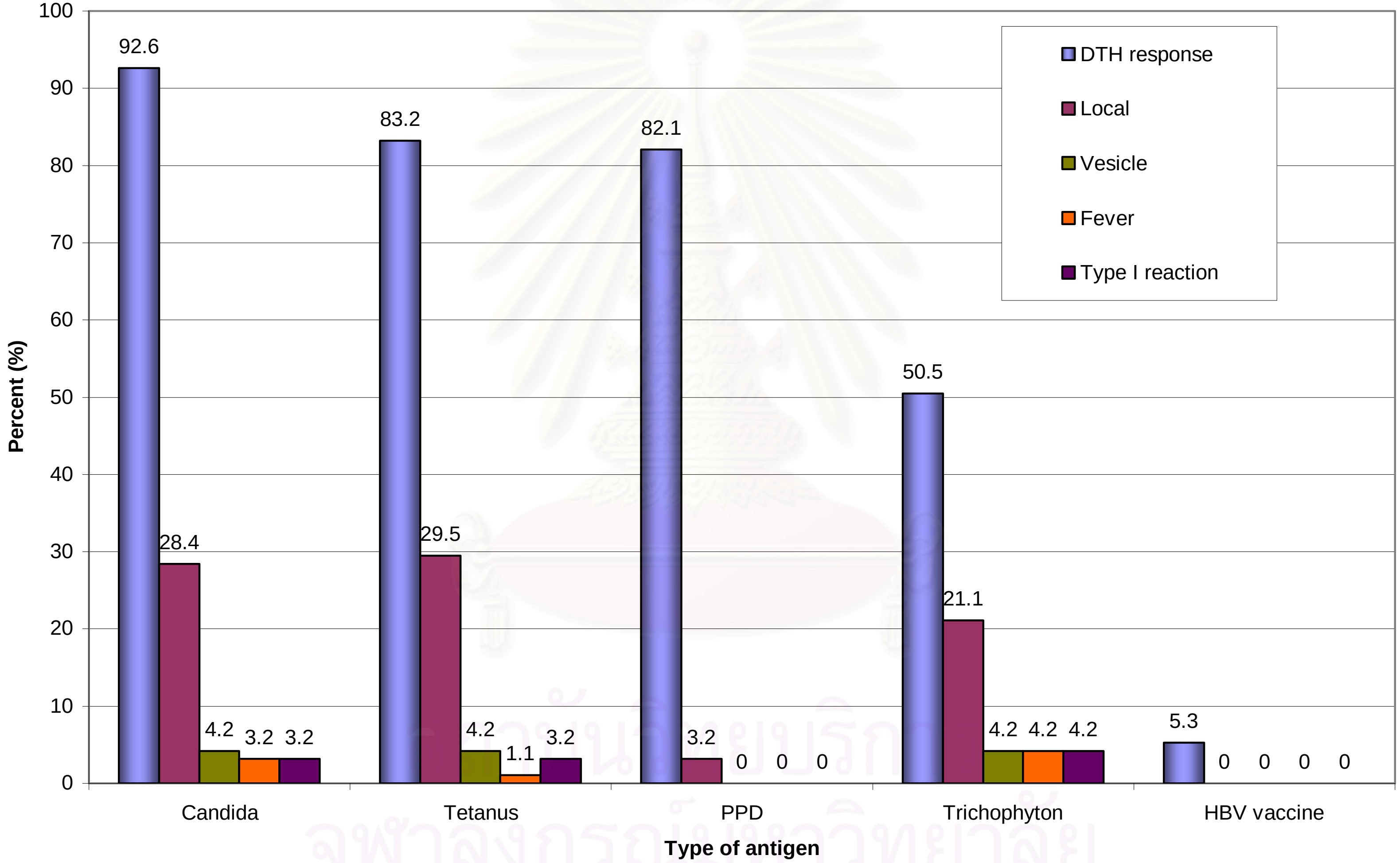
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แต่อย่างไรก็ดีในโรงพยาบาลทั่วไปในเมืองไทยนั้นอาจมีปัญหาในการสั่งซื้อ C. albicans Extract ก็อาจใช้ PPD คู่กับ Tetanus toxoid เป็นแอนติเจนที่ใช้ทดสอบ DTH skin test แทนก็ได้ เนื่องจากแอนติเจนทั้งสองตัวนี้สามารถหาซื้อได้ง่ายและมีอยู่แล้วในโรงพยาบาลส่วนใหญ่ ร่วมกับข้อมูลจากการวิจัยนี้พบว่า ในประชากรตัวอย่างก็ให้ผลบวกต่อแอนติเจนตัวใดตัวหนึ่งถึง 96.8% ให้ผลบวกต่อแอนติเจนทั้งสองตัวเท่ากับ 68% โดยที่มีผลข้างเคียงเพียง 31.6% ซึ่งส่วนใหญ่มีอาการไม่รุนแรงดังที่ได้กล่าวไว้ในข้างต้น ส่วนผลข้างเคียงที่รุนแรงได้แก่ vesicle 3.2%, อาการไข้ 1.1% และ type I reaction 3.2% (รูปที่ 10)

ทั้งนี้ในการนำแอนติเจนไปทดสอบ DTH skin test คงต้องใช้สิ่งอื่น ๆ เข้าช่วยในการตัดสินใจเลือกใช้ เช่น ความแตกต่างจากประชากรตัวอย่างในการวิจัยนี้กับคนไข้ที่จะทดสอบ และ ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการตอบสนองของแอนติเจนชนิดต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว มาช่วยในการตัดสินใจเลือกใช้แอนติเจนที่จะมาทดสอบต่อไป

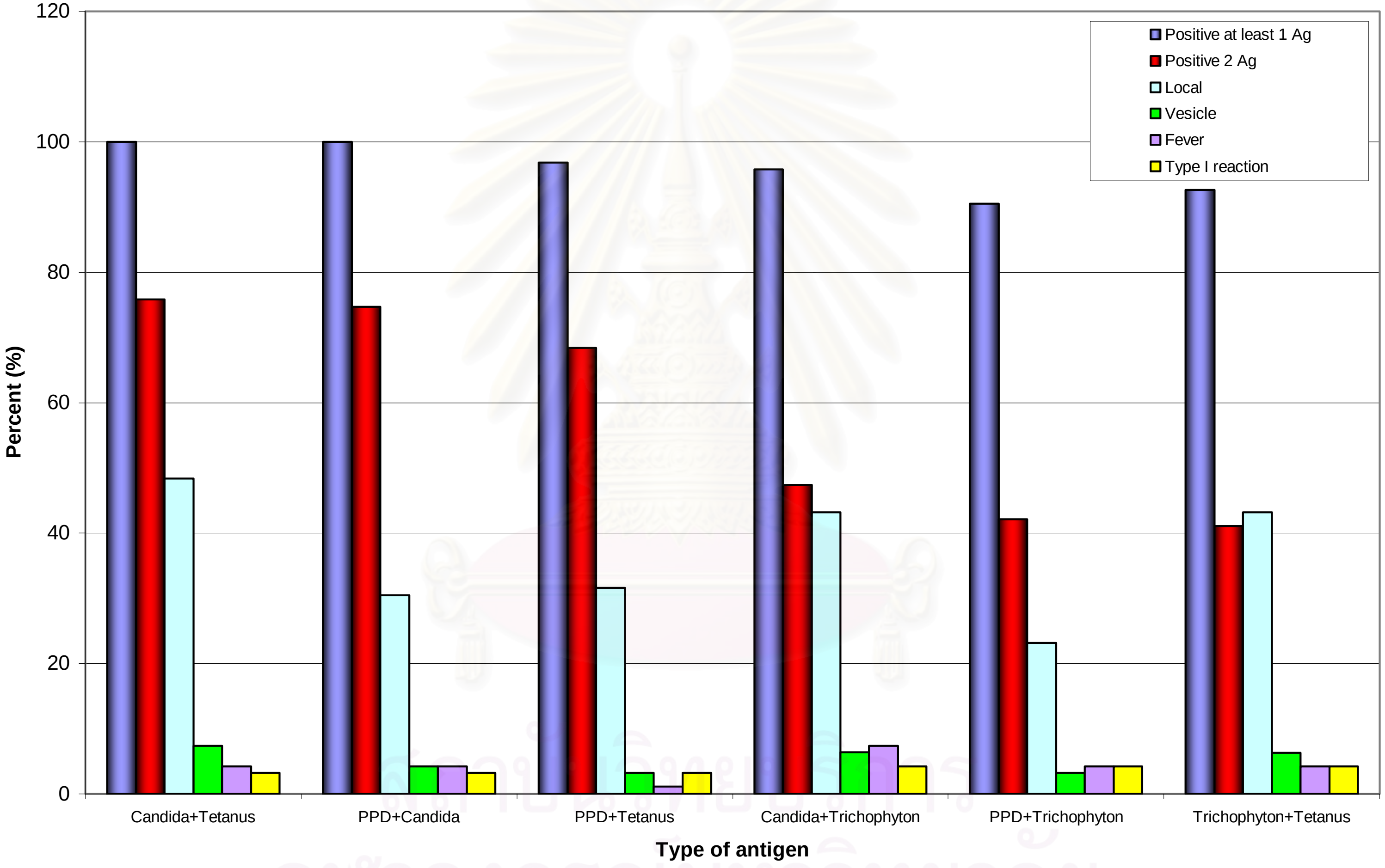
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**รูปที่ 9** แผนภูมิแสดงอัตราการตอบสนอง DTH skin test และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น จากการทดสอบด้วยแอนติเจนแต่ละชนิด

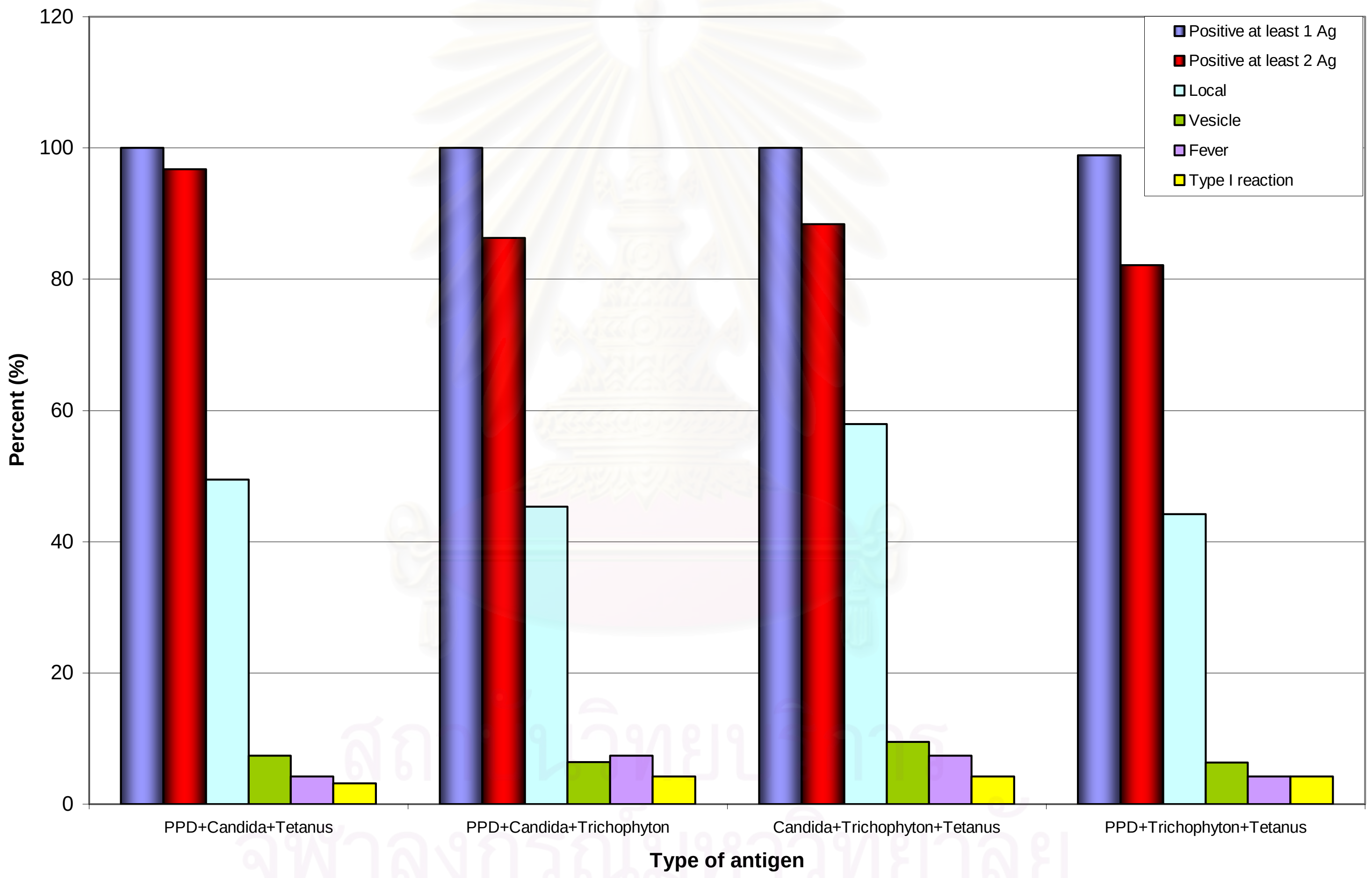



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**รูปที่** 10 แผนภูมิแสดงอัตราการตอบสนอง DTH skin test และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น หากเลือกใช้แอนติเจนครั้งละ 2 ตัว



**รูปที่ 11** แผนภูมิแสดงอัตราการตอบสนอง DTH skin test และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น หากเลือกใช้แอนติเจนครั้งละ 3 **ตัว**



# บทที่ 7

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 1. สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณา แบบ Cross-sectional เพื่อศึกษาถึงการตอบสนองต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี Delayed-type hypersensitivity skin test

ผลการวิจัยปรากฏว่า อัตราการตอบสนองต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ เมื่อตรวจ Delayed-type hypersensitivity skin test แล้วพบว่า *C. albicans* extract ให้ผลบวกมากที่สุด (92.6%) รองลงมาคือ Tetanus toxoid (83.2%), PPD (82.1%),*T. mentagrophytes* extract (50.5%) และ Hepatitis B vaccine (5.3%)

ปัจจัยที่ผลต่อการตอบสนองของ Delayed-type hypersensitivity skin test ได้แก่ Health care personnel (PPD), ประวัติการฉีดวัคซีนบาดทะยักมาก่อน (Tetanus toxoid) และ เพศชาย (*T. mentagrophytes* extract)

ผลข้างเคียงเกิดขึ้น 58.9% ส่วนใหญ่เป็นผลข้างเคียงเฉพาะที่และอาการไม่รุนแรง ส่วนอาการไข้ หรือ ผลข้างเคียงเฉพาะที่ที่รุนแรง คือ Vesicle พบได้ประมาณ 7.4-9.5% แอนติเจนที่ทำให้เกิดอาการได้บ่อย คือ *T. mentagrophytes* extract, *C. albicans* extract และ Tetanus toxoid

จากการศึกษาวิจัยนี้พบว่า แอนติเจนที่เหมาะสมที่จะนำไปทดสอบ DTH skin test คือ PPD, Tetanus toxoid และ *C. albicans* extract และควรเลือกใช้แอนติเจนทั้ง 3 ชนิดในการทดสอบ ซึ่งจะให้ผลบวกอย่างน้อย 1 แอนติเจนเท่ากับ 100% ให้ผลบวกอย่างน้อย 2 แอนติเจนเท่ากับ 96.8% ถ้าหากใช้เพียง PPD-TRC ร่วมกับ Tetanus toxoid ซึ่งจะให้ผลบวก อย่างน้อย 1 แอนติเจนเท่ากับ 100% ให้ผลบวก 2 แอนติเจนเท่ากับ 68.4%

## 2. ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยนี้พบว่าการทำ Delayed-type hypersensitivity skin test ควรเลือกแอนติเจนมาทดสอบครั้งละ 3 ตัว แอนติเจนที่แนะนำให้เลือกใช้เป็น PPD-TRC, Tetanus toxoid และ *C. albicans* extract ในกรณีที่มีปัญหาในการจัดหา C. albicans Extract อาจทำการทดสอบ DTH skin test โดยใช้ PPD-TRC ร่วมกับ Tetanus toxoid แต่ก็จะทำให้มีความไวในการทดสอบลดลง

นอกจากนี้อาจนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์เพื่อทดสอบ Delayed-type hypersensitivity skin test ในประชากรทั่วไป ที่สามารถเป็นตัวอย่างที่ดีของคนไทยทั่วไปต่อไป

# รายการอ้างอิง

1. Yate AB, deShazo RD. Delayed Hypersensitivity Skin Testing. **Immunol Allergy Clin North** Am 2001;21(2):383-97.
2. Brown DL. The Interpretation of Tests of T Cell and Natural Killer Cell Function in Man. In: Walport MJ, editor. **Clinical Aspects of Immunology**. 5 ed. Boston: Blackwell Scientific 1993:854-5.
3. Pacheco SE, Shearer WT. Laboratory Aspect of Immunology. **Pediatric Clinics of North America** 1994;41(4):623-55.
4. Keystone EC, Demerieux P, Gladman D, Poplonski L, Piper S, Buchanan R. Enhanced delayed hypersensitivity skin test reactivity with serial testing in healthy volunteers. **Clin Exp Immunol** 1980;40(1):202-5.
5. Palmer DL, Reed WP. Delayed Hypersensitivity Skin Testing.Response Rates in a Hospitalized Population. **J Infect Di**s 1974;130(2):132-7.
6. Frazer IH, Collins EJ, Fox JS, Jones B, Oliphant RC, Mackay IR. Assessment of Delayed-Type Hypersensitivity in Man: A Comparison of the "Multitest" and Conventional Intradermal Injection of Six Antigens. **Clin Immunol Immunopath** 1985;35:182-90.
7. Bates SE, Suen JY, Tranum BL. Immunological skin testing and interpretation: a plea for uniformity. **Cancer** 1979;43(6):2306-14.
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. The Immune Response: A Summary. In: **Cellular and Molecular Immunology**. 4 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company 2000:335-9.
9. Buckley RH. Primary Immunodeficiency Diseases. In: Simmons FE, editor. **Allergy Principle & Practice**. 6 ed. Philadelphia: Mosby; 2003. p. 1015-1042.
10. Ahmed AR, Blose DA. Delayed-type hypersensitivity skin testing. A review. **Arch Dermatol** 1983;119(11):934-45.
11. Buckley RH. Primary cellular immunodeficiencies. **J Allergy Clin Immunol** 2002;109:747-57.
12. ตีระวัฒนพงษ์ ส. **การตรวจหาภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์**. ใน: รัตวรารักษ์ ห, บรรณาธิการ. วิทยาภูมิคุ้มกันพื้นฐานและคลินิก พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2543:151-80.

13 Dvorak AM, Mihm MC, Jr., Dvorak HF. Degranulation of basophilic leukocytes in allergic contact dermatitis reactions in man. **J Immunol** 1976;116(3):687-95.

14. Zweiman B. Cell-Mediated Immunity in Health and Disease. In: Simmons FE, editor. **Allergy Principle & Practice**. Philadelphia: Mosby; 2003. p. 973-995.
15. Palmer DL, Reed WP. Delayed hypersensitivity skin testing. I. Response rates in a hospitalized population. **J Infect Dis** 1974;130(2):132-7.
16. Noroski LM, Shearer WT. Screening for Primary Immunodeficiencies in the Clinical Immunology Laboratory. **Clin Immunol Immunolpatho** 1998;86(3):237-45.
17. Heiss LI, Palmer DL. Anergy in patients with leukocytosis. **Am J Med** 1974;56(3):323-32.
18. Blatt SP, Hendrix CW, Butzin CA, Freeman TM, Ward WW, Hensley RE, et al. Delayed-type hypersensitivity skin testing predicts progression to AIDS in HIV-infected patients. **Ann Intern Med** 1993;119(3):177-84.
19. Sokal JE. Editorial: Measurement of delayed skin-test responses. **N Engl J Med** 1975;293(10):501-2.
20. Corriel RN, Kniker WT, McBryde JL, Lesourd BM. Cell-mediated immunity in schoolchildren assessed by multitest skin testing. Normal values and proposed scoring system for healthy children. **Am J Dis Child** 1985;139(2):141-6.
21. Kniker WT, Anderson CT, McBryde JL, Roumiantzeff M, Lesourd B. Multitest CMI for standardized measurement of delayed cutaneous hypersensitivity and cell-mediated immunity. Normal values and proposed scoring system for healthy adults in the U.S.A. **Ann Allergy** 1984;52(2):75-82.
22. Brown AE, Nitayaphan S, Sukwit S, Leelasupasri S, Markowitz L, Morgan P, et al. DTH Responsiveness of HIV-Infected Thai Adults. **J Med Assoc Thai** 2000;83(6):633-9.
23. Cainzos M, Culebras JM, Lozano F, Alcaraz P, Balibrea JL, Bouza E, et al. A study of the delayed hypersensitivity response in healthy people in Spain: Spanish National Tables. National Surgical Infection Committee of the Association of Spanish Surgeons. **JPEN J Parenter Enteral Nutr** 1993;17(5):454-7.
24. Battershill JH. Cutaneous testing in the elderly patient with tuberculosis. **Chest** 1980;77(2):188-9.
25. Kniker WT, Lesourd BM, McBryde JL, Corriel RN. Cell-mediated immunity assessed by Multitest CMI skin testing in infants and preschool children. **Am J Dis Child** 1985;139(8):840-5.
26. Maas JJ, Roos MT, Keet IP, Mensen EA, Krol A, Veenstra J, et al. In vivo delayed-type hypersensitivity skin test anergy in human immunodeficiency virus type 1 infection

is associated with T cell nonresponsiveness in vitro. **J Infect Dis** 1998;178(4):1024-9.

27. Park SK, Brody JI, Wallace HA, Blakemore WS. Immunosuppressive effect of surgery. **Lancet** 1971;1(7689):53-5.
28. Dvorak HF, Mihm MC, Jr., Dvorak AM, Johnson RA, Manseau EJ, Morgan E, et al. Morphology of delayed type hypersensitivity reactions in man. I. Quantitative description of the inflammatory response. **Lab Invest** 1974;31(2):111-30.
29. Dvorak HF, Simpson BA, Bast RC, Jr., Leskowitz S. Cutaneous basophil hypersensitivity. 3. Participation of the basophil in hypersensitivity to antigen-antibody complexes, delayed hypersensitivity and contact allergy. Passive transfer. **J Immunol** 1971;107(1):138-48.
30. Hunziker N, Brun R. Lack of delayed reaction in presence of cell-mediated immunity in trichophytin hypersensitivity. **Arch Dermatol** 1980;116(11):1266-8.
31. Perez-Blas M, Regueiro JR, Ruiz-Contreras JR, Arnaiz-Villena A. T lymphocyte anergy during acute infectious mononucleosis is restricted to the clonotypic receptor activation pathway. **Clin Exp Immunol** 1992;89(1):83-8.
32. Queen Saovabha Memorial Institute TRCS, inventor Liquid Tuberculin (Purified Protein Derivative) for Mantoux test.
33. Edward JE. Candida Species. In: Dolin R, editor. Principles and Practice of Infectious Disease. 5 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2000:2656-73.
34. Millis J. Viral Infections. In: Imboden JB, editor. Medical Immunology. 10 ed. New York: LANGE 1997:617-36.
35. Ervucharavarakul P, Louivisirirotchanakul S, Surachaka M, Nirapik S, Wasi C. Experience in Hepatitis B Vaccination in General Population. **Siriraj Hosp Gaz** 1989;41(3):137-45.
36. Sanyanusin P, Janvanichsathaporn K, Serirodom S. Prevalence of Hepatitis B Infection in Suratthani Hospital Personnels. **Reg 8 Med J** 1990;4(1):5-10.
37. ห่อหริตานนท์ ส, พัวพัฒนกุล ป, ดีสุวรรณ ม. การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในเจ้าหน้าที่โรงพยาบาลสมุทรสาคร. **วารสารโรงพยาบาลสมุทรสาคร** 2533; 1: 8-19.
38. จิรถาวร จ. ไวรัสเอสไอวี และโรคเอดส์. ใน: รัตวรารักษ์ ห, บรรณาธิการ. **วิทยาภูมิคุ้มกันพื้นฐานและคลินิก** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2543:341-53.
39. Reynolds JEF. Martindale. The Extra Pharmacopoeia: Info Access & Distribution 1994.

40. Bharnthong T, Wilde H, Saikasem A, Caroenwai S, Premchaiporn P, Kongwatana C. A comparison of PPD-S and PPD from the Thai Red Cross Institute. **Thai J Tuberc Chest Dis** 1993;14(4):201-7.

41. Long ER, Hopkins FD. History of Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis of the National Tuberculosis Association. **Am Rev Tuberc** 1952;65(4):494-504.

42. Rathbun W. The Classicfication of Pulmonary Tuberculosis. **Am Rev Tuberc** 1917;1:1-15.

43. Assamongkol M, Tuchinda M, Geadssomnuig S, Arunyanark N. Delayed Type Hypersensitivity Skin Testing to Tetanus Toxoid in Thai Children. **Siriraj Hosp Gaz** 1993;45(9):604-10.

44. Jones HE, Reinhardt JH, Rinaldi MG. A Clinical, Mycological, and Immunological Survey for Dermatophytosis. **Arch Dermatol** 1973;108:61-5.

45. Facktor MA, Bernstein RA, Fireman P. Hypersensitivity to tetanus toxoid. **J Allergy Clin Immunol** 1973;52(1):1-12.

46. Dvorak HF, Mihm MC, Jr., Dvorak AM. Morphology of delayed-type hypersensitivity reactions in man. **J Invest Dermatol** 1976;67(3):391-401.


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก ก

## ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Consent Form)
## การศึกษาเพื่อหาแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับตรวจภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์โดยการทดสอบทางผิวหนัง

### 1. คำชี้แจงเกี่ยวกับการทดสอบทางผิวหนัง

การตรวจภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์โดยการทดสอบทางผิวหนัง ด้วยวิธี Delayed-type hypersensitivity skin test (DTH skin test) เป็นการทดสอบการทำงานของภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ด้วยการฉีดแอนติเจน (สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน) ไปใต้ผิวหนัง ซึ่งจะสามารถบอกถึงการทำงานของภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังอาจนำไปใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อบางอย่างได้เช่น วัณโรค

การทดสอบทางผิวหนัง DTH skin test อาจมีผลข้างเคียงได้แต่พบได้น้อย มักเป็นบริเวณที่ฉีดแอนติเจน ส่วนผลข้างเคียงที่รุนแรง เช่น Anaphylaxis มีโอกาสเกิดได้ตามทฤษฎี แต่ยังไม่มีรายงานจากการศึกษาในต่างประเทศมาก่อน

ในการศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อหาชนิดและจำนวนของแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับนำมาทดสอบ DTH skin test ผลการศึกษาที่ได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการดูแลผู้ป่วยต่อไป

### 2. คำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอน, วิธีการ, ผลข้างเคียง และการปฏิบัติตัวหลังการทดสอบทางผิวหนัง

ผู้ร่วมการศึกษาจะทำการกรอกแบบสอบถาม และ สามารถซักถามถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นรวมทั้งวิธีการปฏิบัติขณะร่วมการศึกษา หลังจากที่ยินยอมร่วมการศึกษาแล้วจะทำการทดสอบทางผิวหนังด้วยวิธี DTH skin test โดยการฉีดแอนติเจนปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ด้วยเข็มเบอร์ 27 บริเวณท้องแขน จำนวน 5 ชนิด (PPD, Candida Extract, Trichophyton Extract, Tetanus Vaccine, Hepatitis B vaccine) ไปในชั้นใต้ผิวหนัง นัดมาดูผลการทดสอบที่ 48 ชั่วโมง

ผลแทรกซ้อนจากการทดสอบ DTH skin test พบได้น้อย โดยมากมักเป็นปฏิกิริยาเฉพาะที่ซึ่งส่วนมากมักจะหายได้เอง แต่ในบางรายอาจเป็นรุนแรงโดยมีตุ่มน้ำ หรือ มีการทำลายของผิวหนังบางส่วน การใช้ยา Corticosteroids จะทำให้อาการดีขึ้นได้

ผลแทรกซ้อนที่รุนแรง เช่น Anaphylaxis (อะนาไฟแล็กซีส) อาจมีได้ตามทฤษฎี มักเกิด 20 นาทีแรกหลังการทดสอบทางผิวหนัง อาการที่พบคือ หายใจลำบาก มีผื่นนูนแดงคันกระจายทั่วไป อาจมีอาการคลื่นไส้อาเจียนร่วมด้วย ในกรณีที่มีอาการรุนแรงอาจมีอาการหน้ามืด เป็นลม หรือ หมดสติได้จากการที่มีความดันโลหิตต่ำ ซึ่งในกรณีนี้อาจเป็นอันตรายต่อชีวิตได้ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของอาสาสมัคร อาสาสมัครจึงควรอยู่ให้ผู้วิจัยได้สังเกตอาการใน 20 นาทีแรกหลังการทดสอบ หากมีอาการที่สงสัยอะนาไฟแล็กซีส จะได้ให้การรักษาอย่างทันท่วงที แต่อย่างไรก็ดีจากการทบทวนรายงานในต่างประเทศยังไม่มีรายงานการเกิดอะนาไฟแล็กซีสจากการตรวจ DTH skin test มาก่อน

หากท่านตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษา จะมีข้อปฏิบัติร่วมดังนี้

- ควรนั่งพักสังเกตอาการหลังการทดสอบผิวหนัง DTH skin test อย่างน้อย 20 นาที

- หลังทำการทดสอบผิวหนังใน 48 ชั่วโมงแรก จะต้องไม่ทายา หรือ สารอื่น ๆ ในบริเวณที่ทำการทดสอบ เนื่องจากจะทำให้ผลการทดสอบคลาดเคลื่อนได้
- แพทย์ผู้วิจัยจะนัดมาดูผลหลังการทดสอบทางผิวหนัง 48 ชั่วโมง
- หากมีอาการข้างเคียงที่รุนแรงกรุณาติดต่อแพทย์ผู้วิจัย (ดูข้อมูลในตอนท้าย)

3. **ประโยชน์ที่จะได้รับจากการทดสอบทางผิวหนัง** DTH skin test

ผู้ร่วมการศึกษาจะทราบการทำงานของภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์ในร่างกายได้ จากการทดสอบทางผิวหนังด้วยวิธีข้างต้น หากผลการทดสอบเป็นลบต่อแอนติเจนทุกตัว ผู้ร่วมการศึกษาจะได้รับการตรวจเลือดเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลการตรวจโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ทั้งนี้เป็นไปตามความสมัครใจของผู้ร่วมการศึกษา

4. **คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของผู้ร่วมการศึกษา**

เนื่องจากการทดสอบทางผิวหนัง DTH skin test ในครั้งนี้ ผลการทดสอบจะนำไปใช้ในการวิจัยของหน่วยโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันวิทยาทางคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ดังนั้นผู้ร่วมการศึกษาจะไม่เสียค่าใช้จ่ายใด ๆ ในกรณีที่เกิดผลแทรกซ้อนจากการทดสอบทางผิวหนัง DTH skin test และหากเกิดอะนาไฟแล็กซีส จะรักษาแบบผู้ป่วยในของ รพ.จุฬาลงกรณ์โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใด ๆ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเก็บไว้เป็นความลับ ไม่เปิดเผยชื่อท่านต่อสาธารณะ นอกจากนี้ผู้ร่วมการศึกษาสามารถปฏิเสธการตรวจ DTH skin test ได้โดยจะไม่มีผลกระทบใด ๆ ต่อผู้ร่วมการศึกษา

ถ้ามีความผิดปกติหรือข้อสงสัยอันเกี่ยวกับการวิจัย ผู้ร่วมการศึกษาสามารถมาพบหรือติดต่อได้ที่นายแพทย์ กฤตเตโช สิริภัสสร หน่วยโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันวิทยาทางคลินิก ตึกว่องวานิช ชั้น 2 ห้อง 203 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โทรศัพท์ 02-256-4579 (ในเวลาราชการ) หรือ 01-8907010 หรือ วิทยุติดตามตัว (162) เรียก 192420(นอกเวลาราชการ)

5. **คำยินยอมของผู้ร่วมการศึกษา**

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจข้อความในใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ทั้งนี้ข้าพเจ้ายินยอมที่จะรับการทดสอบทางผิวหนังด้วยวิธี DTH skin test ด้วยความสมัครใจ โดยไม่มีการบังคับใด ๆ

วันที่ ......................................................

ลงนาม ………………………………………………………… ผู้ร่วมการศึกษา
(………………………………………………………)

ลงนาม ………………………………………………………... พยาน
(………………………………………………………)

ลงนาม ………………………………………………………... แพทย์ผู้ทำการวิจัย
(………………………………………………………)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก ข

## แบบสอบถาม

แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของการวิจัยเรื่อง *การศึกษาเพื่อหาแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับตรวจภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์โดยการทดสอบทางผิวหนัง(DTH skin test)* **ข้อมูลของท่านจะได้รับการปกปิดเป็นความลับอย่างดี และ ในการวิเคราะห์ แสดงผลการวิจัยจะไม่เปิดเผยตัวผู้ตอบทุกกรณี**

***<u>หมวดที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของอาสาสมัคร</u>***

1. ชื่อ______________________ นามสกุล_____________________________
2. อายุ _________ ปี — *id* [ ]
3. ท่านเป็น ☐ ชาย ☐ หญิง — *age* [ ]
4. ที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่______________หมู่ที่___________ถนน_____________ — *sex* [ ]
   ซอย______________________ ตำบล_________________________ — *cadd* [ ]
   เขต/อำเภอ________________ จังหวัด___________________
   รหัสไปรษณีย์_______________
5. ที่ทำงานปัจจุบัน แผนก __________________ ภาควิชา _____________________
   ห้อง _________________ ตึก_______________________
   เวลาที่ติดต่อได้สะดวก____________________________________
   *(อื่น ๆ)*_________________________________________________
6. เบอร์โทรศัพท์ บ้าน _________________________________
   ที่ทำงาน ______________________________
   มือถือ ________________________________
7. ภูมิลำเนา เขต/อำเภอ________________ จังหวัด___________________
8. ท่านจบการศึกษาสูงสุดในระดับใด — *oadd* [ ]
   ☐ ต่ำกว่าประถมศึกษาตอนต้น (ป.4)
   ☐ ประถมศึกษาตอนต้น (ป.4) ☐ ประถมศึกษาตอนปลาย — *educat* [ ]
   ☐ มัธยมศึกษาตอนต้น ☐ มัธยมศึกษาตอนปลาย
   ☐ ประกาศนียบัตรวิชาชีพ ☐ อนุปริญญา, ปวส, ปวท
   ☐ ปริญญาตรี ☐ สูงกว่าปริญญาตรี

9. สถานภาพปัจจุบันของท่าน

☐ แพทย์ status [ ]

☐ พยาบาล ☐ ผู้ช่วยพยาบาล

☐ นักศึกษา คณะ____________________ ปีที่_______

☐ เจ้าหน้าที่ที่ทำงานในห้อง Lab

ห้อง Lab ที่ทำงานประจำอยู่ในภาควิชา ______________________

งานที่ท่านทำประจำเกี่ยวกับ________________________________

☐ เจ้าหน้าที่ธุรการ / เลขานุการ

☐ โภชนาการ ☐ รักษาความปลอดภัย

☐ อื่นๆ ___________________________________

***<u>หมวดที่ 2 ประวัติส่วนตัวของอาสาสมัคร</u>***

10. ประวัติการติดเชื้อที่รุนแรงในอดีต *(เลือกตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)* sinf [ ]

☐ ไม่เคย pneum [ ]

☐ ปอดบวม จำนวน_________ครั้ง นอนโรงพยาบาล_________ครั้ง fpneum [ ]

☐ วัณโรคปอด admpneu [ ]

เคยเป็นเมื่อ ☐ น้อยกว่า 1 ปี ☐ 1 – 5 ปี ☐ มากกว่า 5 ปี pultb [ ]

☐ วัณโรคระบบอื่น ๆ *(โปรดระบุ)*___________________________________ durpultb [ ]

เคยเป็นเมื่อ ☐ น้อยกว่า 1 ปี ☐ 1 – 5 ปี ☐ มากกว่า 5 ปี otb [ ]

☐ อื่น ๆ ______________________________________________________ otb1 [ ]

11. ท่านเคยได้รับการทดสอบทางผิวหนังโดยการฉีดสารเข้าไปในชั้นใต้ผิวหนังมาก่อนหรือไม่ durotb [ ]

☐ ไม่เคย osinf [ ]

☐ เคย เมื่อ ☐ น้อยกว่า 1 ปี ☐ 1 – 5 ปี ☐ มากกว่า 5 ปี

12. ประวัติยาที่ท่านเคยใช้ในช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา *(เลือกตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)* prevst [ ]

☐ ไม่มี durpst [ ]

☐ ยาสเตียรอยด์ชนิดรับประทาน

☐ ยากดภูมิคุ้มกัน ชื่อ______________________________________________ med [ ]

☐ ยาลูกกลอน หรือ ยาหม้อ nomed [ ]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

13. ประวัติเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน**ในปัจจุบัน**

| | ไม่มี | มี | รายละเอียด | |
|---|---|---|---|---|
| –โรคประจำตัว | ☐ | ☐ | ________________ | *dis* [ ] |
| –มะเร็ง | ☐ | ☐ | ________________ | *cancer* [ ] |
| –การผ่าตัดในช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา | ☐ | ☐ | ________________ | *surg* [ ] |
| –เจ็บป่วยในช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา | ☐ | ☐ | ________________ | *illness* [ ] |
| –ตั้งครรภ์ | ☐ | ☐ | ________________ | *preg* [ ] |
| –ไข้ติดต่อกันนาน 1 เดือน | ☐ | ☐ | ________________ | *fuo* [ ] |
| –น้ำหนักตัวลดลงมากกว่า 5 กก. | ☐ | ☐ | ________________ | *wtloss* [ ] |

*(ข้อที่ 14-16 ท่านอาจข้ามไป หากไม่ต้องการตอบ* ***แต่ข้อมูลที่ท่านกรอกจะได้รับการปกปิดอย่างดี และ ในการวิเคราะห์แสดงผลการวิจัย จะไม่มีการเปิดเผยตัวผู้ตอบ****)*

14. ท่านเคยตรวจได้รับการตรวจหาเชื้อเอชไอวี (antiHIV) มาก่อนหรือไม่

☐ ไม่เคย

☐ เคย ตรวจจาก ☐ เลือด ☐ น้ำลาย

ผลการตรวจ ☐ บวก ☐ ลบ

ได้รับการตรวจเมื่อ____________________

*hiv* [ ]

*hivreslt* [ ]

15. ท่านเคยไปใช้บริการทางเพศหรือไม่

☐ ไม่เคย ☐ เคย

*cprostt* [ ]

16. ท่านเคยใช้สิ่งเสพติดด้วยวิธีฉีดหรือไม่

☐ ไม่เคย ☐ เคย

*ivdu* [ ]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

***หมวดที่ 3 ประวัติการสัมผัสต่อแอนติเจนในอดีต***

17. ท่านเคยได้รับการฉีดวัคซีนดังต่อไปนี้หรือไม่ เมื่อใด

| | | น้อยกว่า 1 ปี | 1 - 5 ปี | มากกว่า 5 ปี |
|---|---|---|---|---|
| —วัคซีน บีซีจี | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |
| —วัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบ บี | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |
| —วัคซีนป้องกันบาดทะยัก | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |

*bcg* [ ]
*durbcg* [ ]
*hbvvac* [ ]
*durhbvv* [ ]
*ttvacc* [ ]
*durttv* [ ]

18. ท่านเคยมีการติดเชื้อราในบริเวณต่าง ๆ ดังต่อไปนี้หรือไม่ เมื่อใด

| | | น้อยกว่า 1 ปี | 1 - 5 ปี | มากกว่า 5 ปี |
|---|---|---|---|---|
| —ในช่องปาก | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |
| —ในช่องคลอด | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |
| —ที่ใบหน้า / ลำตัว | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |
| —ที่ง่ามนิ้ว / ขาหนีบ / ใต้ราวนม | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |
| —ที่เล็บ | ☐ ไม่เคย ☐ เคย | ☐ | ☐ | ☐ |

*cand* [ ]
*durcand* [ ]
*dermtp* [ ]
*durderm* [ ]
*bothf* [ ]
*bothfdur* [ ]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

19. ประวัติการเป็นโรคไวรัสตับอักเสบ บี

☐ ไม่เคยเป็น

☐ เคยเป็นตับอักเสบเฉียบพลันจากเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี

เมื่อใด ☐ น้อยกว่า 1 ปี ☐ 1 – 5 ปี ☐ มากกว่า 5 ปี

☐ เป็นพาหะของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

☐ เป็นโรคตับอักเสบเรื้อรังจากไวรัสตับอักเสบ บี

*hbvdis* [ ]
*durachbv* [ ]

20. (**เฉพาะผู้ที่ตอบว่า** ***"ไม่เคยเป็น"*** **จากข้อที่** 19)

ท่านเคยรับการตรวจเลือด เพื่อหาเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี หรือไม่

☐ ไม่เคย ☐ เคย ตรวจเมื่อ_____ปี _____ เดือน มาแล้ว

ผลการตรวจ ☐ มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบบี *labhbv* [ ]

☐ ไม่ได้เป็นพาหะ และยังไม่มีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบ บี *durlabhb* [ ]

☐ อื่น ๆ ______________________________ *labhbvre* [ ]

21. ท่านเคยเป็นโรคบาดทะยักมาก่อนหรือไม่ *olabhbv*[ ]

☐ ไม่เคย

☐ เคย เมื่อใด ☐ น้อยกว่า 1 ปี ☐ 1 – 5 ปี ☐ มากกว่า 5 ปี *tetanus* [ ]

22. บุคคลที่อาศัยอยู่ในบ้านเดียวกับท่าน เคยมีใครเป็นวัณโรคหรือไม่ *durtetns* [ ]

☐ ไม่มี

☐ เคยมีคนในบ้านเป็นวัณโรค

เมื่อใด ☐ น้อยกว่า 1 ปี ☐ 1 – 5 ปี ☐ มากกว่า 5 ปี *conttb* [ ]

*durcontb* [ ]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นาย กฤตเตโช สิริภัสสร เกิดวันที่ 21 ธันวาคม 2515 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีแพทย์ศาสตร์บัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2538 ได้รับประกาศนียบัตรวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์คลินิก (สาขาอายุรศาสตร์) ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2544 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาอายุรศาสตร์) คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2545

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย