Srinagarind Hosp Med J 1991 ; 6(2) : 125-129

การตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวม ที่เกิดจากไวรัสทางห้องปฏิบัติการ

ทิพยา เอกลักษณานันท์
แจ่มใส เพียรทอง

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โรคติดเชื้อไวรัสในระบบทางเดินหายใจเป็นโรคที่พบได้บ่อยทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ จัดเป็นโรคที่มีความสำคัญ เนื่องจากเป็นสาเหตุทำให้ผู้ป่วยต้องหยุดเรียน และหยุดทำงานได้หลายครั้งต่อปี ซึ่งมากกว่าโรคติดเชื้อชนิดอื่น (1) ในแต่ละปี ผู้ใหญ่จำนวน 1 ใน 3 คน และเด็ก 2 ใน 7 คน จะป่วยเนื่องจากการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ (2) ความรุนแรงของการเจ็บป่วยพบได้ตั้งแต่เป็นไข้หวัดธรรมดา ไปจนถึงโรคปอดบวมรุนแรง ในกลุ่มเด็กไวรัสมักเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง ขณะที่ในกลุ่มผู้ใหญ่การติดเชื้อไวรัสมักเกิดที่ระบบทางเดินหายใจส่วนบน การติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจทั้งสองส่วนนี้มีผลต่ออัตราการป่วยและอัตราการตายอย่างมีนัยสำคัญ

ปัจจุบันมียาสำหรับใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัสในระบบทางเดินหายใจ เช่น amantadine และ ribavirin ซึ่งมีความจำเพาะกับชนิดของไวรัส จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทราบชนิดของไวรัสที่เป็นสาเหตุ ประกอบกับความรู้ที่ได้จากการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยา และการระบาดของโรคในระบบทางเดินหายใจ ทำให้ผู้ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาผู้ป่วยสามารถตรวจรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในบทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวมที่เกิดจากไวรัสทางห้องปฏิบัติการซึ่งนิยมทำกันทั่วไป และวิธีการใหม่ ๆ ที่เพิ่งถูกพัฒนาขึ้นมา

ในสมัยก่อน การตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวมที่เกิดจากไวรัส ทำโดยอาศัยลักษณะอาการทางคลินิก บ่อยครั้งจะพบเป็นลักษณะของ "atypical pneumonia syndrome" ซึ่งเกิดจากจุลชีพได้หลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1. การพิจารณาหาสาเหตุของโรค จะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น ฤดูกาลในขณะนั้น, ความรู้เกี่ยวกับการระบาดที่เกิดขึ้นในชุมชนนั้น, อายุของผู้ป่วย, สภาวะของระบบภูมิคุ้มกัน, ลักษณะอาการไอ หรืออาการอื่น ๆ ที่พบในระบบทางเดินหายใจ และอาการที่เกิดขึ้นนอกระบบทางเดินหายใจขณะเจ็บป่วย เช่น การเกิดผื่นของโรคอีสุกอีใส และโรคหัด ถ้าเป็นผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติ ไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคปอดบวมจะต่างกับคนปกติ (ตารางที่ 2) ความก้าวหน้าของวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ และเทคโนโลยีในการผลิต monoclonal antibody ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวมที่เกิดจากไวรัส ทั้งในด้านความรวดเร็ว และความจำเพาะเป็นอย่างมาก

ตารางที่ 1 จุลชีพที่เป็นสาเหตุของ atypical pneumonia syndrome

Mycoplasma pneumoniae
Legionella pneumophila (Legionaires disease)
Chlamydia psittasi (Psittacosis)
Chlamydia trachomatis
Coxiella burnetii (Q fever)
Influenza A virus (Primary influenza A pneumonia)
Adenovirus
Measles virus
Varicella-zoster virus (VZV)
Respiratory syncytial virus (RSV)
Parainfluenza virus

ตารางที่ 2 ไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคปอดบวมในผู้ที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง

Cytomegalovirus (CMV)
Herpes simplex virus (HSV) type 1 และ 2
Adenovirus
Varicella-zoster virus
Respiratory syncytial virus
Parainfluenza virus
Measles virus

การตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวมที่เกิดจากไวรัสทางห้องปฏิบัติการ สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

การแยกและพิสูจน์เชื้อ

ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา เชื่อว่าเชื้อไวรัสที่ถูกแยกได้จากระบบทางเดินหายใจส่วนบนของผู้ป่วยโรคปอดบวม คือ เชื้อสาเหตุ ดังนั้น throat swab, nasopharyngeal swab และ nasopharyngeal aspirate จึงเป็นสิ่งส่งตรวจสำหรับ การตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคปอดบวมได้แต่เนื้อเยื่อปอด และ bronchial washing จัดเป็นสิ่งส่งตรวจที่เหมาะกว่าสำหรับการตรวจแยกเชื้อไวรัส swab ที่ใช้เก็บสิ่งส่งตรวจควรเป็น cotton, dacron หรือ rayon ถ้าเป็น olginate อาจจะยับยั้งการ

เจริญเติบโตของเชื้อไวรัสบางชนิด จึงไม่นิยมนำมาใช้ (3) สิ่งส่งตรวจที่เก็บโดย swab หรือเนื้อเยื่อควรเก็บใส่ใน transport medium สำหรับไวรัสในภาชนะที่ปราศจากเชื้อ ส่วนสิ่งส่งตรวจที่เป็น body fluid เช่น pleural fluid หรือ bronchial washing อาจไม่จำเป็นต้องใส่ใน transport medium ภายหลังจากเก็บสิ่งส่งตรวจ จะต้องแช่ภาชนะที่ใส่สิ่งส่งตรวจไว้ในน้ำแข็งตลอดเวลาและนำส่งห้องปฏิบัติการทันที การเก็บสิ่งส่งตรวจควรเก็บในระยะแรก ๆ ของการเจ็บป่วย เพราะในระยะนี้มีการปล่อยไวรัสออกมามากที่สุด

เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้สำหรับการตรวจแยกไวรัสมีอยู่หลายชนิด ได้แก่ primary monkey kidney cell, primary human embryonic kidney cell, human diploid cell และ continuous human epithelial cell เซลล์เพาะเลี้ยงเหล่านี้สามารถเจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด minimal essential media โดยมี fetal calf serum และยาปฏิชีวนะอยู่ด้วย เซลล์เพาะเลี้ยงแต่ละชนิดจะเหมาะสำหรับการแยกเชื้อไวรัสต่างชนิดกัน

สิ่งส่งตรวจที่มี mucous จะต้องทำให้ mucous แตกตัวก่อนใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยง ซึ่งวิธีการเตรียมสิ่งส่งตรวจก่อนใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยงของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งจะแตกต่างกัน ระยะเวลาของการอ่านผลในการแยกเชื้อไวรัสจะขึ้นอยู่กับชนิดของไวรัส, วิธีการเก็บและเตรียมสิ่งส่งตรวจ, ปริมาณของไวรัสในสิ่งส่งตรวจที่ใส่ลงในเซลล์และชนิดของเซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้

วิธีการตรวจดูว่ามีไวรัสจากสิ่งส่งตรวจเข้าไปเพิ่มจำนวนอยู่ในเซลล์เพาะเลี้ยงหรือไม่ ทำได้โดยการสังเกตดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (cytopathic effect หรือ CPE) และการตรวจสอบว่า ถ้าใส่เม็ดเลือดแดงของหนูตะเภาลงในเซลล์จะมีเม็ดเลือดแดงจับอยู่บนผิวเซลล์หรือไม่ (hemadsorption test) ถ้าพบว่ามีไวรัสเพิ่มจำนวนอยู่ในเซลล์เพาะเลี้ยงจึงจะทำการพิสูจน์ต่อไปว่าเป็นไวรัสชนิดใด ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีโดยการใช้แอนติบอดีต่อไวรัสที่สงสัยมาทดสอบ เช่น การทำ immunofluorescence test (IF) และ hemadsorption inhibition test ปัจจุบันมีการผลิต monoclonal antibody สำหรับการทำ IF test ก่อนที่เซลล์เพาะเลี้ยงจะเกิด CPE ขึ้น

การตรวจหาแอนติเจนของไวรัส

สิ่งส่งตรวจที่มีเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจ เช่น nasopharyngeal secretion, bronchial washing และ bronchoalveolar lavage fluid สามารถตรวจหาแอนติเจนของไวรัสในเซลล์ที่ติดเชื้อ ซึ่งเป็นเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจได้โดยวิธี IF (4) นอกจากนี้อาจใช้สิ่งส่งตรวจที่ได้จาก autopsy และ biopsy ที่เป็น frozen section หรือ touch preparation การทำ touch preparation จะทำได้ง่ายและมีคุณภาพดีสำหรับการทดสอบโดยวิธี IF เพราะจะได้แผ่นชิ้นเนื้อที่บางกว่าการทำ frozen section และมีการติดสีที่ไม่จำเพาะน้อยกว่า

IF เป็นวิธีที่นำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจาก influenza virus, parainfluenza virus, RSV, adenovirus, measles virus, rubella virus, coronavirus และ herpesvirus แต่จะไม่นิยมใช้วิธีนี้สำหรับการตรวจหาแอนติเจนของ rhinovirus และ enterovirus เพราะไวรัสเหล่านี้มีหลายซีโรทัยป์ และไม่มีแอนติเจนร่วมกันในกลุ่ม (common antigen) การตรวจหาแอนติเจนโดยวิธี IF นี้ จะเชื่อถือได้เมื่อมีกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบ การอ่านผลจะต้องอาศัยผู้ตรวจที่มีประสบการณ์และควรจะเปรียบเทียบผลที่ได้ กับผลของการตรวจแยกเชื้อ

ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) สำหรับตรวจหาแอนติเจนของไวรัสในสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจ (5) ประโยชน์ของวิธี ELISA นี้อยู่ที่ความไว (sensitivity) ของการทดสอบ โดยพบว่าจะตรวจพบแอนติเจนได้ ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณเพียง 1 picogram วิธีนี้นิยมใช้ในการตรวจหาแอนติเจนของ parainfluenza virus, RSV, HSV, influenza virus และ adenovirus

การตรวจหาแอนติเจนของไวรัสโดยวิธี ELISA และ IF สามารถตรวจวินิจฉัยโรคได้รวดเร็ว และสามารถทำได้ในระยะที่ไม่สามารถตรวจแยกเชื้อไวรัสได้

การตรวจหาจีโนมของไวรัส

การตรวจหาจีโนมของไวรัสในสิ่งส่งตรวจโดยวิธี nucleic acid hybridization เป็นวิธีใหม่ซึ่งสามารถบอกตำแหน่งของการติดเชื้อได้อย่างถูกต้อง การทำ in situ hybridization สามารถทำได้โดย hybridize ส่วนของ nucleic acid probe เข้ากับ nucleic acid เป้าหมายที่จำเพาะซึ่งอยู่ภายในเซลล์บนสไลด์ หรืออยู่ใน tissue section ปัจจุบันนี้ มีการนำวิธี hybridization มาใช้ ทั้งในด้านการตรวจวินิจฉัยอย่างรวดเร็ว และการศึกษาขบวนการเกิดโรคของไวรัส วิธีนี้ใช้ตรวจได้ทั้ง DNA และ RNA ของไวรัส และในกรณีของไวรัสบางชนิดที่ทำให้ติดเชื้อแบบเรื้อรัง หรือแอบแฝง ก็สามารถตรวจพบได้ แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อเสียอยู่ที่ ต้องใช้เครื่องมือพิเศษซึ่งไม่มีในห้องปฏิบัติการทั่วไป และต้องอาศัยเวลาพอสมควร นอกจากนี้ยังไม่สามารถผสม probe ของไวรัสหลาย ๆ ชนิด เพื่อใช้งานร่วมกันได้ probe ที่ใช้จะถูกติดฉลากด้วยสาร radioactive หรือ biotin แต่การติดฉลากด้วยสาร radioactive จะมีความไวมากกว่า ไวรัสที่สามารถตรวจวินิจฉัยโดยวิธีนี้ ได้แก่ CMV, VZV, HSV และ adenovirus คาดว่าในอนาคต เมื่อสามารถดัดแปลงวิธีการให้สามารถทำได้สะดวกและรวดเร็วมากขึ้นแล้ว in situ hybridization จะเป็นวิธีที่มีประโยชน์ ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการได้อย่างรวดเร็ว แต่ในปัจจุบันนี้ การตรวจแยกเชื้อไวรัสยังคงเป็นวิธีที่ดีที่สุดของการตรวจหาเชื้อไวรัส

การตรวจทางเซลล์วิทยาและเนื้อเยื่อวิทยา

การศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ และการศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ ในปัจจุบันนี้พบว่ามีประโยชน์สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสมาก โดยเฉพาะในกรณีที่ไม่สามารถตรวจแยกเชื้อไวรัสได้ การตรวจสอบทางเนื้อเยื่อควบคู่ไปกับการตรวจหาแอนติเจนของไวรัส อาจเป็นการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสอย่างจำเพาะได้ ตัวอย่างเช่น ในผู้ป่วยโรคปอดอักเสบที่เกิดจากเชื้อ CMV จะตรวจพบ inclusion ได้ในเซลล์ของถุงลม, ใน macrophage และบางครั้งใน endothelial cell ดังนั้นสิ่งส่งตรวจ เช่น transbronchial lung biopsy หรือ autopsy จะเป็นสิ่งส่งตรวจที่ดีมาก การติดเชื้อ RSV จะทำให้เกิด intracytoplasmic inclusion ใน bronchial epithelial cell แต่จะไม่ทำให้เกิด intranuclear inclusion ซึ่งการตรวจพบนี้อาจจะช่วยแปลผลได้อย่างมั่นใจยิ่งขึ้นในกรณีที่การตรวจแยกเชื้อให้ผลลบ ขณะที่ตรวจพบแอนติเจนของ RSV ได้โดยวิธี IF (6)

การตรวจหาแอนติบอดี

การตรวจวินิจฉัยทางน้ำเหลืองของการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ จะถูกนำมาใช้ได้อย่างมีขอบเขตจำกัด (3) เนื่องจากเชื้อไวรัสที่เป็น

สาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบนี้มีมากมายหลายชนิด จึงไม่สามารถตรวจวินิจฉัยหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสทุกชนิดได้โดยวิธีนี้ และไม่สามารถนำมาใช้กับผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติ เพราะในผู้ป่วยเหล่านี้จะไม่มีการสร้างแอนติบอดีเพื่อตอบสนองการติดเชื้อ อย่างไรก็ตามการตรวจหาแอนติบอดี อาจจะมีประโยชน์สำหรับ การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสที่เพาะเลี้ยงได้ยาก เช่น measles virus ในกรณีนี้ ควรเจาะเลือดทันทีเมื่อเริ่มมีอาการป่วย (acute serum) แล้วแยกซีรั่มเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C และเจาะเลือดเก็บซีรั่มอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 2-3 (convalescent serum) นำซีรั่มที่เก็บได้ทั้งสองครั้งมาตรวจหาระดับแอนติบอดีพร้อมกัน การอ่านผลทำได้โดยเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีในซีรั่มทั้งสอง ถ้าระดับแอนติบอดีในซีรั่มครั้งที่สองสูงกว่าในซีรั่มครั้งแรก 4 เท่าหรือมากกว่า (4-fold rising) แสดงว่ามีการติดเชื้อ

สรุป

ในช่วงเวลาไม่กี่ปีมานี้ การตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวมที่เกิดจากเชื้อไวรัสได้เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากการดูลักษณะอาการทางคลินิกเพียงอย่างเดียว มาสู่การตรวจวินิจฉัยร่วมกันระหว่าง การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ และการดูลักษณะอาการทางคลินิก ปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจมีส่วนร่วมในการวินิจฉัยโรค atypical pneumonia ในคนปกติ และ viral pneumonitis ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันผิดปกติ ได้แก่ อายุ, สภาวะภูมิคุ้มกัน, ฤดูกาล, ความเจ็บป่วยของสมาชิกภายในครอบครัว, การระบาดในชุมชน, การเกิดโรค, ระยะเวลาที่เกิดโรค, ความรุนแรง และลักษณะผื่นที่ปรากฏ อย่างไรก็ตาม วิวัฒนาการทางด้านไวรัสวิทยาได้ก้าวหน้าไปมาก นอกจากการใช้วิธีการตรวจแยกเชื้อไวรัสซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุดแล้ว วิธี IF และวิธี ELISA ซึ่งเป็นวิธีที่มีทั้ง ความไว, ความจำเพาะ และความรวดเร็ว ได้ถูกนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยโรคปอดบวมได้อย่างกว้างขวาง และในอนาคตนี้ วิธี nucleic acid hybridyzation ก็จะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคจากสิ่งส่งตรวจอย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

1. Douglas RG, Hudson LD, Root RK, eds. Contemporary issues in infectious diseases. vol 5. New York : Churchill-Livingstone, 1986 : 25-47.
2. Anderson LJ, et al. Viral respiratory illnesses. Med Clin North Am 1983;67:1009-1030.
3. Friedman H, Forrer CV. Diagnosis of viral respiratory infection in the 1980s. Clin Lab Med 1982; 2:383-391.
4. McIntosh K. Immunofluorescence in diagnostic virology. Ann NY Acad Sci 1982; 240:376-380.
5. Yoklen RH, et al. Enzyme immunoassays for the diagnosis of viral infection. Ann NY Acad Sci 1982; 420:381-390.
6. Smith RD, Sutherland K. The cytopathology of virus infections In : Spector S, Lancz GJ, eds. Clinical virology manual. New York:Elsevier 1986: 53-69.