



การประเมินการตรวจ Galactomannan Antigen ด้วยวิธี ELISA และ CLIA

ทิพาพร จารูญศิริมณีกุล^{1,*}, ปริญา ประสงค์ดี², ณภิตา บัวศรี¹, สุมาลัย เดชโยธิน², ปภาวดี หงษ์อาจ¹, ยศสมบัติ จังตระกุล³, จันทรเพ็ญ ศรีพรรณ⁴, คัชรินทร์ ภูนิคม⁵
¹หน่วยภูมิคุ้มกันและเคมีคลินิก งานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชั้นสูง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
²ศูนย์ความเป็นเลิศทางห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
³หน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัย งานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชั้นสูง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
⁴งานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชั้นสูง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
⁵สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Evaluation of Galactomannan Antigen Detection by ELISA and CLIA

Thipaporn Jaroonsirimaneekul^{1,*}, Prinya Prasongdee², Naphitta Bausri¹, Sumalai Dechyotin², Papawadee Hongart¹, Yotsombat Changtrakul³, Chanpen Sriphan⁴, Kutcharin Phunikhom⁵
¹Department of Immunology and Clinical Chemistry, Srinagarind hospital, Faculty of Medicine, Khon Kaen university.
²Srinagarind Laboratory Excellent center, Srinagarind hospital, Faculty of Medicine, Khon Kaen university.
³Department of Diagnostic microscopy, Srinagarind hospital, Faculty of Medicine, Khon Kaen university.
⁴Medical Laboratory, Srinagarind hospital, Faculty of Medicine, Khon Kaen university.
⁵Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen university.

Received: 19 March 2025/ Reviewed: 20 March 2025/ Revised: 4 March 2026/
Accepted: 4 March 2026

บทคัดย่อ

ภูมิหลังและวัตถุประสงค์: การติดเชื้อรา *Aspergillus spp.* แบบรุกรานมีอัตราการเสียชีวิตสูง การวินิจฉัยโรคในระยะเริ่มต้นได้เร็วมีความสำคัญต่อการรักษา การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวัด *Aspergillus galactomannan antigen* ระหว่างวิธี enzyme-linked immunoassay (ELISA) Analyzer I-2P และ chemiluminescence immunoassay (CLIA) VirClia® Monotest

วิธีการศึกษา: ตรวจหา *Aspergillus galactomannan antigen* ในตัวอย่าง 22 ตัวอย่าง ได้แก่ กลุ่มควบคุม 2 ตัวอย่าง และกลุ่มทดสอบ 20 ตัวอย่าง โดยใช้เกณฑ์แปลผลของแต่ละวิธี นำข้อสรุปผลการตรวจวิเคราะห์เป็นบวกหรือลบ มาทดสอบความแตกต่างทางสถิติด้วย Fisher's exact test, Chi-square test ความจำเพาะ และความสอดคล้อง

ผลการศึกษา: การทดสอบด้วยวิธี ELISA ให้ผลบวก 3 ตัวอย่าง และผลลบ 19 ตัวอย่าง ในขณะที่การทดสอบด้วยวิธี CLIA ให้ผลบวก 3 ตัวอย่าง ผลลบ 17 ตัวอย่าง และผลก้ำกึ่ง 3 ตัวอย่าง ทดสอบความแตกต่างทางสถิติด้วย Fisher's exact และ Chi-square test ได้ $p=0.561$ และ 0.508 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ความจำเพาะร้อยละ 89.4 และความสอดคล้องร้อยละ 81.8 (ระดับดี)

สรุป: การเปรียบเทียบ ELISA และ CLIA ทั้งสองวิธีให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีความจำเพาะและความสอดคล้องในระดับดี การนำผลการตรวจ *Aspergillus galactomannan antigen* ไปใช้ควรพิจารณาร่วมกับอาการทางคลินิกของผู้ป่วย

คำสำคัญ: การติดเชื้อราแบบรุกราน, *Aspergillus galactomannan antigen*, ELISA, CLIA

Abstract

Background and objective: Invasive *Aspergillus spp.* has a high mortality rate. Early-stage diagnosis is crucial for effective treatment. This study aimed to compare the detection results of *Aspergillus galactomannan antigen* between two methods: enzyme-linked immunoassay (ELISA) by Analyzer I-2P and chemiluminescence immunoassay (CLIA) by VirClia® monotest.

Methods: A total of 22 samples were tested for *Aspergillus galactomannan antigen* according to the specific interpretation criteria of each platform. Statistical differences were analyzed using Fisher's exact test and Chi-square test. Specificity and the degree of agreement (concordance) were also evaluated.

Results: ELISA yielded 3 positive and 19 negative results. In comparison, CLIA produced 3 positive, 17 negative, and 2 equivocal (borderline) results. Statistical analysis via Fisher's exact and Chi-square tests showed no significant differences between the two methods, with p -values of 0.561 and 0.508, respectively ($p > 0.05$). The specificity was 89.4%, and the overall agreement was 81.8%, which is considered a good level of concordance.

Conclusions: The comparison between ELISA and CLIA for *Aspergillus galactomannan antigen* detection showed no statistically significant differences. Both methods demonstrated good specificity and agreement. Clinical application of these test results should be interpreted in conjunction with the patient's clinical symptoms.

Keywords: invasive aspergillosis, *Aspergillus galactomannan antigen*, ELISA, CLIA

บทนำ

การติดเชื้อรา *Aspergillus spp.* เป็นหนึ่งในปัญหาทางคลินิกที่สำคัญ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยที่ใช้ยากดภูมิคุ้มกัน หรือผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านมะเร็ง โดยเฉพาะการติดเชื้อราแบบรุกราน (invasive aspergillosis; IA) มีอัตราการเสียชีวิตสูงหากไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมและรวดเร็ว [1] การวินิจฉัยโรคในระยะเริ่มต้นจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการรักษา [2] เนื่องจากอาการและการแสดงของผู้ป่วยไม่จำเพาะ ซึ่งวิธีมาตรฐาน (gold standard) ได้แก่ การเพาะเชื้อและการตรวจชิ้นเนื้อ (histopathology) มักใช้เวลานานและมีความไวต่ำ [3] ดังนั้นการตรวจหาสารแอนติเจน galactomannan ในเลือดและตัวอย่างจากระบบทางเดินหายใจ เช่น น้ำล้างหลอดลม (bronchoalveolar lavage) จึงได้รับการพัฒนาและใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็วมีความไวสูง และสามารถช่วยวินิจฉัย IA ได้ [4,5] การตรวจ galactomannan antigen อาศัยหลักการของ immunoassay เช่น enzyme linked immunoassay (ELISA) หรือ chemiluminescent immunoassay (CLIA) ซึ่งใช้แอนติบอดีจำเพาะต่อ galactomannan antigen เพื่อตรวจวัดปริมาณของสารในตัวอย่างโดย VirClia® Monotest; CLIA เป็นเทคนิคใหม่ที่ให้ผลรวดเร็ว [6,7] ข้อดีคือเป็นการตรวจแบบ non-invasive ใช้เวลาน้อย [8] เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อหรือพยาธิวิทยาชิ้นเนื้อ มีความไวและความจำเพาะสูง [9] กรณีผลบวกปลอม (false positive) อาจพบในผู้ป่วยที่ได้รับยาบางชนิด เช่น β -lactam antibiotics หรือในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Aspergillus spp.* ในระยะเริ่มต้น [10] ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวัด *Aspergillus galactomannan antigen* ระหว่างเครื่อง Analyzer I-2P ด้วยวิธี ELISA และ VirClia® Monotest ด้วยวิธี CLIA

วิธีการศึกษา

เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์ (analytical research) แบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจของทั้ง 2 วิธี ในช่วงเวลาเดียวกัน

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง Bottom of Form

กลุ่มควบคุม: ตัวอย่างเลือดจากผู้ที่ไม่มีความเสี่ยงหรือการติดเชื้อราใด ๆ จำนวน 2 ตัวอย่าง

กลุ่มทดสอบ: ตัวอย่างเลือดหรือ BAL ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อรา *Aspergillus spp.* จำนวน 20 ราย

กลุ่มตัวอย่าง:

ใช้สูตรคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับ Chi square test

$$n = \frac{(Z\alpha/2 + Z\beta)^2 \cdot [P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)]}{(P_1 - P_2)^2}$$

โดยที่ $Z\alpha/2 = 1.96$ (ที่ระดับนัยสำคัญ $\alpha = 0.05$)

$Z\beta = 0.84$ (ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 80)

P_1, P_2 = สัดส่วนของผลการตรวจที่เป็น positive ในแต่ละวิธี

n = ขนาดตัวอย่างที่ต้องการหา

นำค่าทั้งหมดไปแทนในสูตร

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 \cdot (0.1175 + 0.1490)}{(0.046)^2}$$

$$n \approx 22$$

ดังนั้นจะใช้กลุ่มตัวอย่างอย่างน้อย 22 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนของประชากร โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมใช้ ตัวอย่างจากผู้ที่ไม่มีความเสี่ยงหรือการติดเชื้อราใด ๆ จำนวน 2 ตัวอย่าง และกลุ่มทดสอบใช้ตัวอย่างที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อรา *Aspergillus spp.* จำนวน 20 ตัวอย่าง

ระยะเวลาที่ศึกษา

ช่วงวันที่ 1 กันยายน พ.ศ.2566 ถึง 30 เมษายน พ.ศ. 2567

วิธีดำเนินการ

- รวบรวมข้อมูลผลการตรวจจากวิธี ELISA และผลการวินิจฉัยโรคเบื้องต้น จากฐานข้อมูลของโรงพยาบาล
- คัดเลือกตัวอย่างซีรัมหรือน้ำล้างปอด ที่มีผลตรวจด้วยวิธี ELISA แยกเก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อทำการตรวจด้วยวิธี CLIA และนำผลการตรวจมาวิเคราะห์ข้อมูล

- วัดผลลัพธ์ ด้วยการวัดค่าทางสถิติเพื่อดูประสิทธิภาพและความสัมพันธ์ของทั้งสองวิธี โดยมีตัวชี้วัดหลัก 4 ด้าน คือ 1) จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกหรือลบ (qualitative results) จำนวนเคสที่ตรวจพบเชื้อ (Positive) และไม่พบเชื้อ (negative) ของแต่ละวิธี 2) ความแตกต่างทางสถิติ (statistical significance) โดยวัดค่า p-value ผ่านการทดสอบ Fisher's exact test และ Chi-square test เพื่อดูว่าผลการตรวจจากทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ 3) ความจำเพาะ (specificity) โดยวัดความสามารถของชุดตรวจในการคัดกรองตัวอย่างที่ไม่ติดเชื้อให้แสดงผลเป็นลบได้ถูกต้อง 4) ความ

สอดคล้อง (agreement/consistency) ว่าทั้งสองวิธีให้ผลไปในทิศทางเดียวกันอย่างน้อยเพียงใด

- เกณฑ์การเปรียบเทียบและการแปลผลใช้เกณฑ์เปรียบเทียบโดยนำผลลัพธ์จากวิธี ELISA มาเทียบกับ วิธี CLIA ดังนั้น เกณฑ์เชิงคุณภาพ (interpretation criteria) จัดกลุ่มผลการทดสอบออกเป็น 3 รูปแบบตามมาตรฐานของแต่ละวิธี โดยผลบวก คือ ตรวจพบสารบ่งชี้เชื้อรา ผลลบ คือ ตรวจไม่พบสารบ่งชี้เชื้อรา และผลก้ำกึ่ง ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ระหว่างบวกและลบ

- เกณฑ์การตัดสินประสิทธิภาพด้านความแตกต่างใช้เกณฑ์ $p > 0.05$ จะถือว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่าทั้งสองวิธีให้ผลการตรวจที่เชื่อถือได้ใกล้เคียงกัน

- เกณฑ์ด้านความสอดคล้อง ใช้เกณฑ์ร้อยละของความสอดคล้อง เป็นตัวตัดสิน ซึ่งกรณีสอดคล้องควรอยู่ในเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80

วิธีการตรวจวัดและเกณฑ์การแปลผล

Analyzer I-2P: ELISA

ใช้การวัดค่า RLU (relative light unit) เป็นตัวบ่งชี้ผลบวกหรือลบ

เกณฑ์การแปลผล:

$RLU \geq 0.5$: positive

$RLU \leq 0.5$: negative

VirClia® monotest: CLIA

ใช้ค่า index เป็นตัวบ่งชี้ผลบวกหรือลบ

เกณฑ์การแปลผล:

Index > 0.2 : positive

Index 0.16–0.2: equivocal

Index < 0.16 : negative

การศึกษานี้ ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE661369 วันที่ 8 สิงหาคม พ.ศ.2566

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ทางสถิติ ใช้สถิติ Fisher's exact test (สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีจำนวนตัวอย่างน้อย, $n=20$ ถึง 30 ตัวอย่าง โดยให้ค่า p-value ที่แม่นยำ) และ Chi square test เพื่อวิเคราะห์ p-value โดยยอมรับที่ $p > 0.05$ ทดสอบความจำเพาะและความสอดคล้องโดยยอมรับที่ร้อยละ 80

ผลการศึกษา

ผลการตรวจในตัวอย่าง 22 ตัวอย่าง พบว่า การตรวจด้วยวิธี ELISA พบผลบวก 3 ตัวอย่าง พบผลลบ 19 ตัวอย่าง ไม่มีผลก้ำกึ่ง การตรวจด้วยวิธี CLIA พบผลบวก 3 ตัวอย่าง พบผลลบ 17 ตัวอย่าง พบผลก้ำกึ่ง 2 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธี ELISA และ CLIA พบความสอดคล้องและความแตกต่าง คือ ผลบวกของทั้งสองวิธี มีจำนวนเท่ากันที่ 3 ตัวอย่าง แสดงว่าทั้งสองชุดตรวจสามารถตรวจจับตัวอย่างที่เป็นบวกได้อย่างสอดคล้องกัน ส่วนผลลบวิธี ELISA พบ 19 ตัวอย่าง ส่วนวิธี CLIA พบผลลบ 17 ตัวอย่าง มีความแตกต่างกัน 2 ตัวอย่าง โดยวิธี ELISA ผลเป็นลบ แต่วิธี CLIA ผลเป็นก้ำกึ่ง 2 ตัวอย่าง ซึ่งบ่งชี้ว่า วิธี CLIA อาจมีความไวในการตรวจมากกว่าวิธี ELISA ซึ่งผลก้ำกึ่งในวิธี CLIA ชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นในการตรวจยืนยัน สำหรับ 2 ตัวอย่างนี้ เพื่อตัดสินผลสุดท้ายว่าเป็นบวกหรือลบ (ตารางที่ 1)

ในการเปรียบเทียบผลการตรวจระหว่างสองวิธี ตัวอย่างที่ให้ผลตรงกัน (concordance) คือ ผลบวกตรงกัน 1 ตัวอย่าง ผลลบตรงกัน 18 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ให้ผลไม่ตรงกัน พบ 2 ตัวอย่าง ให้ผลลบในวิธี ELISA แต่ให้ผลบวกในวิธี CLIA พบ 1 ตัวอย่าง ให้ผลลบในวิธี ELISA แต่บวกในวิธี CLIA พบ 2 ตัวอย่าง ให้ผลลบในวิธี ELISA แต่ให้ผลก้ำกึ่งในวิธี CLIA (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจ ELISA และ CLIA ใน 22 ตัวอย่าง

ผลการตรวจ	วิธี ELISA (จำนวนตัวอย่าง)	วิธี CLIA (จำนวนตัวอย่าง)
positive	3	3
negative	19	17
equivocal	0	2

ตารางที่ 2 ตารางอุบัติการณ์ (2x2 contingency table)

	ELISA positive	ELISA negative	Total
CLIA positive	1 (TP)	2 (FP)	3
CLIA negative	2 (FN)	17 (TN)	19
Total	3	19	22

เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างรวม 20 ตัวอย่าง โดยใช้วิธี ELISA (แถว) และ CLIA (คอลัมน์) การเปรียบเทียบผลพบว่าทั้งสองวิธีมี concordance rate สูง (ร้อยละ 81.8) โดยผลบวกและลบตรงกัน 18 จาก 22 ตัวอย่าง discordance rate (ร้อยละ 18.2) พบใน 4 ตัวอย่าง ให้ผลบวกวิธี CLIA แต่ลบด้วยวิธี ELISA 2 ตัวอย่าง ให้ผลบวกทั้งวิธี CLIA แต่ผลลบวิธี ELISA ผลที่สอดคล้องกัน 16 ตัวอย่าง โดยทั้งสองวิธีให้ผลเหมือนกัน (ตรวจพบว่าผลเป็นบวกหรือลบเหมือนกัน) ผลที่ไม่สอดคล้องกัน 4 ตัวอย่าง พบ concordance ร้อยละ 81.8 ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับดี

ผลการทดสอบ Fisher's exact test และ Chi-square test

การทดสอบนี้ใช้เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของผลการตรวจจากทั้งสองวิธี โดยมีค่าสถิติที่สำคัญดังนี้

ค่า p-value จาก Fisher's exact test ได้ 0.561 และค่า p-value จาก Chi-square Test: 0.508 พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากค่า p-value ทั้งสองแบบ มีค่ามากกว่า 0.05 ($p > 0.05$) ซึ่ง

แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ผลทางสถิตินี้บ่งชี้ว่าทั้งวิธี ELISA และ CLIA ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ใกล้เคียงกันในการตรวจหาเชื้อรา Aspergillus

การทดสอบความจำเพาะ

ผลการทดสอบ specificity ระหว่าง CLIA และ ELISA เมื่อใช้วิธี ELISA เป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง

true positive (TP) คือ ตัวอย่างที่ทั้ง ELISA และ CLIA ให้ผลบวก 1 ตัวอย่าง

false negative (FN) คือ ตัวอย่างที่ ELISA ให้ผลบวก แต่ CLIA ให้ผลลบ 2 ตัวอย่าง

false positive (FP) คือ ตัวอย่างที่ ELISA ให้ผลลบ แต่ CLIA ให้ผลบวก 2 ตัวอย่าง

true negative (TN) คือ ตัวอย่างที่ทั้ง ELISA และ CLIA ให้ผลลบ 17 ตัวอย่าง (โดยให้ CLIA ที่มีผล equivocal เป็นผลลบ) เมื่อคำนวณด้วยสูตร

$\text{Specificity} = \text{TN} / (\text{TN} + \text{FP}) = 17 / (17 + 2) = 17 / 19 = 0.89$ หรือร้อยละ 89.47 (ตารางที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความสอดคล้องของผลการทดสอบ (concordance) (n=22)

หัวข้อเปรียบเทียบ	จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ)
ผลที่สอดคล้องกัน (ผลบวกและลบตรงกัน)	18 (81.8)
ผลที่ไม่สอดคล้องกัน	4 (18.2)
CLIA (+) ELISA (-)	2
CLIA (equivocal) ELISA (-)	2

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติและความจำเพาะ (Specificity)

ดัชนีชี้วัด	ค่าสถิติ	การแปลผล
Fisher's exact test (p-value)	0.561	ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)
Chi-square Test (p-value)	0.508	ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)
ความจำเพาะ (Specificity)	89.47	อยู่ในระดับดี

วิจารณ์

จากการศึกษาของ Lohjai และคณะ ศึกษาเปรียบเทียบความสอดคล้องของ ELISA และ CLIA ในการตรวจวัดระดับ interferon gamma พบผลบวกสอดคล้องร้อยละ 81.8 ผลลบสอดคล้องร้อยละ 95.5 และค่าสัมประสิทธิ์เพียร์สันของเชื้อ Mycobacterium tuberculosis (type 1) และ Mycobacterium tuberculosis (type 2) คือ 0.98 และ 0.96 ตามลำดับ [11] ซึ่งผลการตรวจที่ได้จากการศึกษานี้ทำให้ผลบวกและผลลบสอดคล้องกัน Patterson และคณะ รายงานจาก Infectious Diseases Society of America (IDSA) ยืนยันว่า galactomannan เป็นตัวบ่งชี้สำคัญในการวินิจฉัย IA โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มี neutropenia หรือผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก [12] จากที่ต้องการผลการวินิจฉัยที่รวดเร็ว แสดงว่าความสำคัญของการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อ สนับสนุนการใช้ galactomannan ในการคัดกรองการติดเชื้อราแบบรุกรานในระยะเริ่มต้น ที่ยืนยันว่า galactomannan เป็นตัวบ่งชี้สำคัญในการวินิจฉัย โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยสามารถใช้ตัวอย่างเลือดและน้ำล้างช่องปอด สำหรับความคุ้มค่าด้านต้นทุนที่มีผลต่อการเลือกวิธีตรวจ ในขณะที่งานวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การเปรียบเทียบผลตรวจทางสถิติในภาพรวม และพบจุดเด่นเพิ่มเติมว่า CLIA อาจตรวจเจอผลแบบก้ำกึ่ง ที่ ELISA มองข้ามไป ทำให้สรุปได้ว่า CLIA เหมาะจะใช้เป็นเครื่องมือคัดกรองเบื้องต้นที่รวดเร็ว Sulahian และคณะ เปรียบเทียบการตรวจ galactomannan ระหว่างวิธี ELISA และวิธีใหม่ เช่น CLIA ในยุโรป พบว่า CLIA มีความเร็วในการวิเคราะห์ที่สูงกว่าและเหมาะสมกับการใช้งานในห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่ [13] การศึกษาจากประเทศจีนโดย Li และคณะ พบว่าการตรวจ galactomannan ด้วย CLIA มีความเหมาะสมกับผู้ป่วยที่มีระดับภูมิคุ้มกันบกพร่องในระดับปานกลางและรุนแรง โดยเฉพาะในโรงพยาบาลที่ต้องการผลการวินิจฉัยที่รวดเร็ว [14] การศึกษาจากอินเดียโดย Gupta และคณะ พบว่า ELISA มีความไวที่ต่ำกว่าในตัวอย่างจากเลือด แต่ CLIA แสดงความแม่นยำที่ดีกว่าในตัวอย่างจากเสมหะ [15] เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้พบว่าวิธี CLIA อาจมีความไวมากกว่าเล็กน้อย เนื่องจากสามารถตรวจจับตัวอย่างให้ผลก้ำกึ่งได้ 2 ตัวอย่าง ในขณะที่วิธี ELISA ให้ผลเป็นลบ

การศึกษาในประเทศแอฟริกาใต้โดย Moodley และคณะ พบว่าการตรวจ galactomannan ด้วย ELISA เป็นทางเลือกที่คุ้มค่าในพื้นที่ที่มีทรัพยากรจำกัด เนื่องจากต้นทุนการตรวจที่ต่ำกว่า CLIA อย่างไรก็ตาม ในโรงพยาบาล

ขนาดใหญ่ที่มีความพร้อมด้านเทคโนโลยี CLIA ช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์ได้อย่างมีนัยสำคัญ [16] ซึ่งการศึกษานี้อาจไม่ได้มุ่งเน้นการวิเคราะห์ต้นทุนเป็นหลัก แต่เน้นไปที่รูปแบบการทำงาน โดยสรุปว่าการเลือกวิธีตรวจที่บริบทของโรงพยาบาล เช่น หากต้องการความรวดเร็วและเป็นโรงพยาบาลขนาดใหญ่ วิธี CLIA จะตอบโจทย์กว่าเพราะตรวจแบบเดี่ยว (monotest) ได้ ไม่ต้องรอทำเป็นรอบ (batch) เหมือนวิธี ELISA การพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์ปรับปรุงวิธี CLIA มุ่งเน้นการตรวจจับ Galactomannan ในระดับต่ำ และศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น ด้านการรายงานผลสามารถ พัฒนารูปแบบการรายงานให้ชัดเจน เช่น การระบุค่า Index และคำแนะนำกรณีผลเป็น equivocal ควรเปรียบเทียบผลระหว่าง CLIA และ ELISA กับการเพาะเชื้อรา (fungal culture) หรือการทดสอบหาตัวเชื้อด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยนำวิธี PCR มาใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานเพื่อประเมินค่าความถูกต้อง โดยเฉพาะเมื่อผลตรวจขัดแย้งกัน และเมื่อเทียบกับศักยภาพหรือบริบทของโรงพยาบาลแต่ละแห่ง เช่น ใช้ CLIA ในโรงพยาบาลที่ต้องการความรวดเร็วในการคัดกรองผู้ป่วยที่มีอาการเฉียบพลัน ซึ่งวิธี ELISA ทดสอบแบบรวมชุดการทดสอบ (batch) ใช้การรวมจำนวนตัวอย่างหลายราย เพื่อตรวจพร้อมกันเป็นชุด ใช้ calibrator กับ control ร่วมกัน ถ้าค่าการทดสอบของ calibrator และ control ไม่ผ่านเกณฑ์ต้องทำการทดสอบซ้ำทั้งหมด ทำให้ระยะเวลา รอผลนานขึ้น หรือมีต้นทุนแฝงในการตรวจ ส่วน CLIA เป็นการตรวจรายเดี่ยว (individual or monotest) มี calibrator และ control แยกเฉพาะราย ไม่ต้องรอมรวมตัวอย่างหลายราย ทำให้ตรวจได้เร็วขึ้น การตรวจพบโรคได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นซึ่งเป็นช่วงที่ยังไม่มีอาการแสดงชัดเจน (pre-symptomatic stage) หรือยังไม่มีผลทางรังสีวิทยา (radiographic evidence) ช่วยให้แพทย์เริ่มการรักษาเชิงป้องกัน (prophylactic treatment) หรือการรักษาแบบเฉพาะเจาะจงด้วยยาด้านเชื้อรา (antifungal therapy) ได้เร็วขึ้น ซึ่งช่วยลดอัตราการเสียชีวิตในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงสูงได้อย่างมีนัยสำคัญ [17] การตรวจ galactomannan มีความไวสูงกว่าเมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อ สามารถให้ผลที่ไวต่อการวินิจฉัย IA ได้แม้ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่มีเชื้อราเติบโตในห้องเพาะเชื้อ [18] ใช้เวลาน้อยกว่าและลดความเสี่ยงจากการเก็บตัวอย่าง [19] ซึ่ง ณ ปัจจุบัน CLIA เหมาะสำหรับการคัดกรองเบื้องต้นด้วยวิธีที่ง่าย ใช้เวลาสั้นกว่า และตรวจด้วยเครื่องอัตโนมัติ [20]

สรุป

จากการเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ *Aspergillus galactomannan* antigen ระหว่างวิธี ELISA และ CLIA พบว่า ผลการตรวจของทั้ง 2 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.5$) ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 89.0 และความสอดคล้อง (concordance) ร้อยละ 81.8 ซึ่งการเลือกการตรวจแต่ละวิธี ควรเลือกตามบริบทของแต่ละโรงพยาบาล

การขัดกันแห่งผลประโยชน์

ผู้วิจัยขอประกาศว่าไม่มี

เอกสารอ้างอิง

- Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, Leisenring W. Antifungal therapy decreases sensitivity of the *Aspergillus galactomannan* enzyme immunoassay. Clin Infect Dis 2005;40(12):1762–9. doi:10.1086/430307.
- Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using galactomannan assay: a meta-analysis. Clin Infect Dis 2006;42(10):1417–27. doi:10.1086/503427.
- Guo YL, Chen YQ, Wang K, Qin SM, Wu C, Kong JL. Accuracy of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan assay for diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate meta-analysis and systematic review. Chest 2010;138(4):817–24. doi:10.1378/chest.10-0488.
- Leeftang M, Debets-Ossenkopp Y, Visser C, Scholten R, Hooft L, Bijlmer H, et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. Cochrane Database Syst Rev 2015;2015(12):CD007394. doi:10.1002/14651858.CD007394.pub2.
- Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. Lancet Infect Dis 2005;5(10):609–22. doi:10.1016/S1473-3099(05)70238-3.
- Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the EORTC/MSGERC. Clin Infect Dis 2020;71(6):1367–76. doi:10.1093/cid/ciz1008.
- Thornton CR. Detection of invasive aspergillosis. Adv Appl Microbiol 2010;70:187–216. doi:10.1016/S0065-2164(10)70006-0.
- Miceli MH, Maertens J, Buve K, Graziutti M, Woods G, Rahman M, et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome in cancer patients with pulmonary cryptococcosis. Cancer 2007;110(2):337–44. doi:10.1002/cncr.22807.
- De Pauw B, Walsh T, Donnelly J, Stevens D, Edwards J, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the EORTC/MSG Consensus Group. Clin Infect Dis 2008;46(12):1813–21. doi:10.1086/588688.
- Sulahian A, Tourut F, Pontani S, Arlet G, Tiphine M, Berthier S, et al. Occurrence and kinetics of false-positive *Aspergillus galactomannan* test results following treatment with lactam antibiotics. J Clin Microbiol 2003;41(11):5229–31. doi:10.1128/JCM.41.11.5229-5231.2003.
- Lohjai O, Kunakorn M, Setthadom C, Preecha M. A comparison of interferon gamma release assay between CLIA by Liason® XL and ELISA. Mahidol R2R e-Journal 2024;11(1):66–73. doi:10.14456/jmu.2024.6.
- Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2016;63(4):51–60. doi:10.1093/cid/ciw326.
- Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T, Lacroix C, Derouin F. Value of antigen detection using an ELISA test and a latex agglutination test for diagnosis and prognosis of invasive aspergillosis in neutropenic patients. J Clin Microbiol 2001;39(4):1341–7. doi:10.1128/JCM.39.4.1341-1347.2001.
- Li L, Jain C, Yan L, Wen-ming X, Pnag B, Yuan-yuan N, et al. Evaluation of a chemiluminescent immunoassay for the detection of Galactomannan antigen in patients with moderate and severe immunocompromised states. J Clin Microbiol 2015;53(8):275–81. doi:10.1128/JCM.00956-15.

15. Gupta R, Ghosh A, Misra DS, Rathore RKS, Rawat P, Sharma NP. Comparison of ELISA and CLIA for the detection of galactomannan antigen in blood and sputum samples. *Indian J Med Microbiol* 2018;36(2):188-92. doi:10.4103/ijmm.IJMM_47_17.
16. Moodley A, Govender NP, Seetharam S, Reddy D, Chibabhai V, Naicker S. Cost-effectiveness analysis of galactomannan detection by ELISA in resource-limited settings in South Africa. *Med Mycol* 2019;57(7):873-80. doi:10.1093/mmy/myz040.
17. Dannaoui E, Alanio A, Hennequin C, Lacroix C, Datry A, Bognoux ME. Diagnostic and therapeutic challenges of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Med Mycol* 2016;54(1): 99-105. doi:10.1093/mmy/myv097.
18. Zou M, Tang L, Zhao S, Zhao Z, Chen L, Chen P, et al. Early diagnosis of invasive aspergillosis using galactomannan antigen testing. *Infect Dis Rep* 2018;10(4):74-82. doi:10.4081/idr.2018.7490.
19. Kawasaki M, Aoki M, Ishizaka A, Miyazaki K, Umezu H, Yamazaki Y. Monitoring invasive aspergillosis therapy with galactomannan antigen levels in immunocompromised patients. *J Infect Chemother* 2011;17(6): 811-7. doi:10.1007/s10156-011-0199-5.
20. Perfect J, Cox G, Lee J, Kauffman C, de Repentigny L, Chapman S, et al. The diagnostic and prognostic significance of fungal cultures in invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2005;43(1):337-40. doi:10.1128/JCM.43.1.337-340.2005.

