

Basic Lab Test in Uveitis



นฤมล แก้วโรจน์, พ.บ.

โรคม่านตาอักเสบ (uveitis) หมายถึงการอักเสบของ uvea ประกอบด้วย iris, ciliary body, และ choroid สามารถเกิดได้ในทุกช่วงอายุ และทำให้เกิดการสูญเสียการมองเห็นได้ อุบัติการณ์ของโรคม่านตาอักเสบทั่วโลก มีความแตกต่างกัน พบมากในช่วงอายุ 20-50 ปี และพบความชุกทั่วโลกอยู่ที่ ร้อยละ 0.73 พยาธิกำเนิดของโรคยังไม่แน่ชัด แต่สามารถเกิดได้จากทั้งที่ไม่มีสาเหตุและหลายสาเหตุ แบ่งได้เป็น noninfectious และ infectious etiologies ซึ่งในการหาสาเหตุ จะต้องประกอบกันทั้งประวัติ, การตรวจร่างกาย, การตรวจตา, การตรวจเพิ่มเติมพิเศษเช่น การฉีดสีเพื่อถ่ายภาพจอประสาทตา หรือเจาะน้ำในลูกตาเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส, การตรวจเลือดเพื่อหาสาเหตุในกลุ่มโรคที่เกิดจากภูมิคุ้มกันตนเอง และการตรวจภูมิแพ้ทางผิวหนัง แต่ก็ยังพบโรคม่านตาอักเสบ ชนิดไม่ทราบสาเหตุมากถึง ร้อยละ 50 หรือครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยทั้งหมด แม้ปัจจุบันการตรวจทางห้องปฏิบัติการจะก้าวหน้าไปมาก แต่ uveitis ก็ยังเป็นปัญหาที่ยาก และท้าทายต่อการวินิจฉัย ซึ่งการวินิจฉัยโรคทางด้านม่านตาอักเสบนั้น ควรอาศัยการซักประวัติ และ

การตรวจร่างกายเป็นหลัก หลายโรคสามารถวินิจฉัยได้โดยไม่ต้องส่งตรวจเพิ่มเติม การส่งตรวจเพิ่มเติมเพื่อเป็นการคัดกรองโรคนั้น ไม่มีสูตรตายตัวแน่นอน จึงต้องพิจารณาเป็นรายๆไป ดังตารางที่ 1

ข้อบ่งชี้เพื่อการส่งตรวจเพิ่มเติม^{1,2,3}

1. เพื่อการวินิจฉัยโรค
2. เพื่อหาโรคทางร่างกายที่เกี่ยวข้อง
3. เพื่อดูภาวะแทรกซ้อน หรือ ขอบเขตของโรค
4. เพื่อดูการดำเนินของโรค และการพยากรณ์โรค
5. เพื่อใช้ติดตามการรักษา หรือประเมินผลข้างเคียง

จากการรักษา

นอกจากนี้เรายังต้องคำนึงถึง sensitivity and specificity ของการส่งตรวจแต่ละอย่างร่วมด้วย

• sensitivity หรือ ความไว หมายถึง การตรวจทางห้องปฏิบัติการชนิดนั้น สามารถบอกได้ว่าเป็นโรคได้แค่ไหน การทดสอบที่มีความไวสูงจะมีโอกาสพลาดน้อยมากสำหรับค้นหาค้นที่เป็นโรค เหมาะสำหรับการใช้ในการเป็น screening

ตารางที่ 1 แสดงอาการแสดงทางร่างกาย โรคทางร่างกาย และสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ^{1,2}

ยูเวียส่วนหน้าอักเสบ	อาการแสดงทางร่างกาย	โรคที่สัมพันธ์ทางร่างกาย	การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
แสดงอาการเฉียบพลัน	ปวดข้อ ปวดหลังตอนเช้า	กลุ่มโรคข้อและกระดูกสันหลังอักเสบ spondyloarthritis	HLA-B27, SI joint films
	มีอาการทางระบบขับถ่ายและสืบพันธุ์ แผลในปาก แผลที่อวัยวะเพศ	Behcet syndrome	HLA-B51, Pathergy test
	เกิดตามหลังอุบัติเหตุหรือการผ่าตัด	Infectious endophthalmitis	Vitreous culture
	ไม่พบอาการอื่นที่ผิดปกติ	Idiopathic	Possibly HLA-B27
ความรุนแรงปานกลาง	ระบบหายใจผิดปกติ	Sarcoidosis	CXR, ACE, biopsy, gallium scan, lysozyme
	เกิดตามหลังอุบัติเหตุ	Traumatic iritis	none
	ความดันลูกตาขึ้นสูง	Herpetic iritis Glaucomatocyclitic crisis	PCR for herpes 7 types
	มีความเสี่ยงติดโรคทางเพศสัมพันธ์ เกิดตามหลังการผ่าตัด	ซิฟิลิส Syphilis Low-grade endophthalmitis	VDRL, RPR, FTA-ABS Vitreotomy, culture
แสดงอาการเรื้อรัง	อายุน้อย, ปวดข้อ	โรคข้อรูมาตอยด์ในเด็ก JIA	ANA, ESR
	สีของม่านตาผิดปกติ	Fuch HI	None
	เกิดตามหลังการผ่าตัด	Low-grade endophthalmitis	Vitreotomy, capsulectomy, culture
ยูเวียอักเสบส่วนกลาง	อาการแสดงทางร่างกาย	โรคที่สัมพันธ์ทางร่างกาย	การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
ความรุนแรงน้อย ถึงปานกลาง	ระบบหายใจผิดปกติ	Sarcoidosis	ดูตามด้าบบน
	มีผื่นจากตัวหมัดกัด	Lyme disease	Ab, ELISA
	มีอาการทางระบบประสาท	Multiple sclerosis	MRI brain
	อายุมากกว่า 50	Intraocular lymphoma	Vitreotomy, cytology
	ไม่พบความผิดปกติใดๆ	Pars planitis	
ยูเวียอักเสบส่วนหลัง	อาการแสดงทางร่างกาย	โรคที่สัมพันธ์ทางร่างกาย	การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
อักเสบตำแหน่งเดียว	มีแผลเป็นที่จอประสาทตา	Toxoplasmosis	Ab, ELISA
	อายุน้อย	Toxocariasis	GW, Ab, ELISA
	ภูมิคุ้มกันบกพร่อง	CMV retinitis	PCR
อักเสบหลายตำแหน่ง	ระบบหายใจผิดปกติ	Sarcoidosis	ดูตามด้าบบน
		วัณโรค Tuberculosis	IGRAs, PPD, CXR

ตารางที่ 1 แสดงอาการแสดงทางร่างกาย โรคทางร่างกาย และสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ^{1,2}

ยูเวียอักเสบส่วนหลัง	อาการแสดงทางร่างกาย	โรคที่สัมพันธ์ทางร่างกาย	การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
อักเสบหลายตำแหน่ง (ต่อ)	จอประสาทตาอักเสบรุนแรง	Acute retinal necrosis	PCR
		PORN	Anti-HIV
	ภูมิคุ้มกันบกพร่อง, ได้รับยากด	Syphilis, toxoplasmosis	VDRL, RPR, TPHA, FTA-ABs
	ภูมิคุ้มกัน, ใช้ยาเสพติดทางเส้นเลือด	Candida, Aspergillus	Blood, vitreous Culture
	อายุมากกว่า 50	Intraocular lymphoma	Cytology
อักเสบกระจายทั่ว	มีอาการทางระบบประสาท, ผิวหนัง	VKH	ฉีดสีถ่ายภาพจอประสาทตา
	เกิดตามหลังการผ่าตัดหรืออุบัติเหตุ	SO	ฉีดสีถ่ายภาพจอประสาทตา
	เกิดตามหลังการผ่าตัดหรืออุบัติเหตุ	Endophthalmitis	Culture
เส้นเลือดจอตาอักเสบ	แผลในปาก, แผลที่อวัยวะเพศ	Behcet' syndrome	HLA B51, pathergy test
	เพศหญิง, ปวดข้อ, มีผื่น	SLE	ANA

PORN = Progressive outer retinal necrosis, VKH = Vogt Koyanagi-Harada syndrome, SO = Sympathetic ophthalmia, SLE = systemic lupus erythematosus

test แต่ก็จะมีคนที่ไม่เป็นโรคปนเข้ามาบ้างด้วยเช่นกัน จะมีประโยชน์มากที่สุดเมื่อ ผลการทดสอบเป็นลบ คือใช้แยกโรคนั้นออกไปได้ (rule out)

- specificity หรือ ความจำเพาะ หมายถึง การตรวจทางห้องปฏิบัติการชนิดนั้น สามารถคัดคนไม่เป็นโรคออกได้ดีเท่าไร การทดสอบที่มีความจำเพาะสูง จะมีโอกาสพลาดน้อยมาก ในการวินิจฉัยคนที่ปรกติว่าเป็นโรค จะมีประโยชน์มากสำหรับการยืนยันการเป็นโรค (rule in)

Investigation ทั่วไป

CBC (complete blood count)

เม็ดเลือดขาวปกติ 5,000 - 10,000 cell/ml

Pancytopenia, leukopenia พบใน leukemia

Leukocytosis พบในภาวะที่มีการอักเสบ

Neutrophil สูง พบในภาวะ bacterial infections

Lymphocyte สูง พบใน viral infections หรือ tuberculosis

Eosinophilia สูง (มากกว่าร้อยละ 7) พบใน parasitic infections

Monocyte สูง พบในโรคติดเชื้ออีบีวี Epstein-Barr Virus Infection

นอกจากนี้ยังใช้ในการประเมินผลข้างเคียงจากการรักษา โดยเฉพาะการใช้ยากดภูมิคุ้มกัน

Infection

Bacteria และ fungus⁴

การย้อมสี

ใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อเบื้องต้นก่อนที่จะได้ผลการเพาะเชื้อ การย้อมสีจะย้อมติดเชื้อทั้งที่มีและไม่มีชีวิต โดยจะรายงานการติดเชื้อ ลักษณะและการเรียงตัวของแบคทีเรียที่พบ ดังนี้

1. Gram stain ใช้วินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยรายงานการติดสี ลักษณะและการเรียงตัวของแบคทีเรียที่พบ

2. AFB stain ใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ Mycobacterium แต่ไม่สามารถแยกชนิดของ Mycobacterium

3. modified AFB ในกรณีสงสัยว่าผู้ป่วยติดเชื้อ Nocardia

4. Indian ink preparation ใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ

Cryptococcus neoformans

5. KOH preparation ใช้วินิจฉัยการติดเชื้อรา

Culture

มีประโยชน์มากในกรณีผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ เช่น จาก corneal scraping หรือ intraocular fluid ต่างๆ โดยการนำสิ่งส่งตรวจใส่โดยตรงลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำส่งห้องปฏิบัติการทันทีหรือ เก็บที่อุณหภูมิห้องไม่เกิน 24 ชั่วโมง รายงานผลเป็น Genus และ Species เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน หรือ false positive แนะนำให้ป้ายสิ่งส่งตรวจเป็นรูปตัว C เรียงเป็นแถว บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละอัน สำหรับแบคทีเรียที่ได้รับการพิจารณาว่าเป็นเชื้อก่อโรคจะทำการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพต่อไป ดังนี้

1. Blood agar และ Chocolate agar สำหรับ

เพาะเชื้อแบคทีเรียชนิด aerobe

2. Brucella blood agar และ Thioglycolate broth

สำหรับเพาะเชื้อแบคทีเรียชนิด anaerobe (การนำส่งให้ใส่ใน Anaerobic bag บางโรงพยาบาลจะใช้ไฟจุกได้

ออกซิเจนก่อน)

3. Sabouraud dextrose agar (SB) และ Sabouraud dextrose agar with cycloheximide (MS) สำหรับเพาะเชื้อรา

4. non-nutrient agar plate coated with *Escherichia coli*, Buffered charcoal-yeast extract agar สำหรับเพาะเชื้อ *Acanthamoeba*

5. Lowenstein-Jensen agar สำหรับเพาะเชื้อ mycobacteria

Serologic testing for syphilis^{1,2,5}

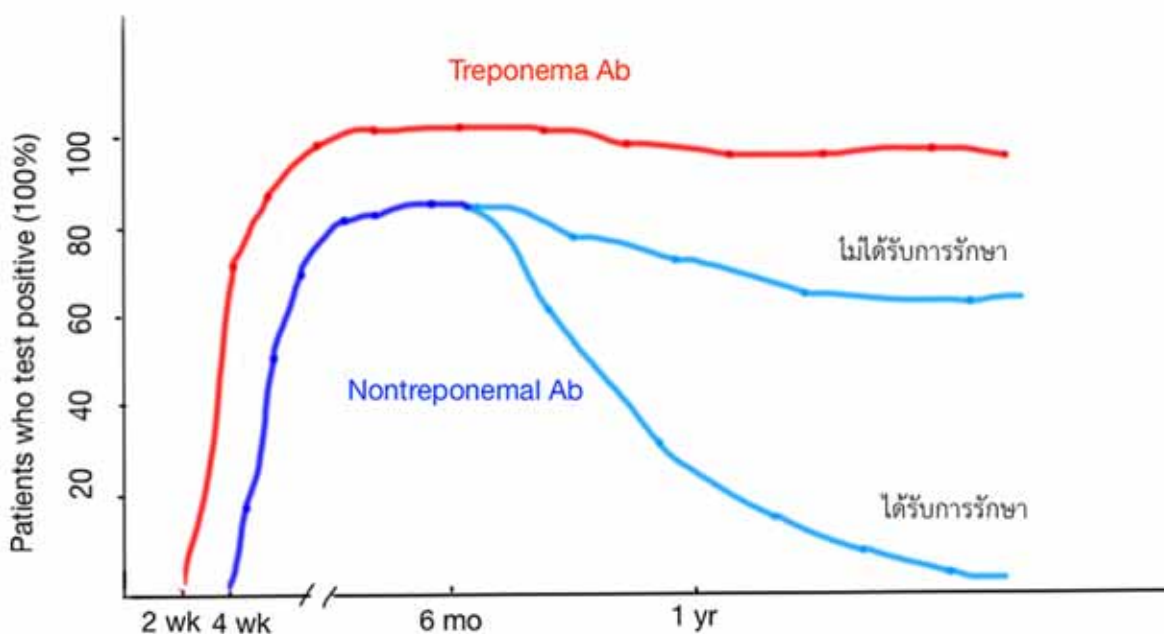
แบ่งเป็น

Nontreponemal tests

1. Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)

2. Rapid plasma reagin (RPR)

Positive VDRL หรือ RPR หมายถึงโรค active และมีการติดเชื้อจริง หากได้รับการรักษาที่เหมาะสม titers จะกลับสู่ค่าปกติได้ ดังรูปที่ 1 ทำให้เหมาะแก่การใช้ติดตามประสิทธิภาพของการรักษา แต่ร้อยละ 30 ของผู้ป่วย จะพบ



รูปที่ 1 แสดงค่า antibodies ในเลือดของผู้ติดเชื้อซิฟิลิสภายหลังจากการติดเชื้อ (รูปสีท่ายเล่ม)

ค่าปกติถึงแม้ว่าจะไม่ได้รับการรักษา ใน late latent และ tertiary syphilis ก็ตาม

False positive เกิดจาก cross reactive lipoidal antibodies พบได้ใน

- ผู้ป่วย HIV, viral infection
- Immunization, Pregnancy, ผู้สูงอายุ
- SLE
- intravenous drug abuse
- TB, leprosy, lyme disease, malaria, bacterial

endocarditis, infectious mononucleosis, rickettsial infections

Treponemal tests ได้แก่

1. Fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS)
2. Microhemagglutination assay - Treponema-pallidum (MHA-TP)

FTA-ABS และ MHA-TP จะเริ่ม positive เมื่อเข้าสู่ secondary stage of syphilis และจะคงอยู่ตลอดไป ถึงแม้ได้รับการรักษาแล้วก็ตาม ในกรณี infant จะใช้ IgM FTA-ABS ในการวินิจฉัย เนื่องจาก IgG สามารถผ่าน placenta ได้

False positive

- เกิดจาก antigenic cross-reactivity ต่อเชื้อ spirochetal ตัวอื่นๆ (Lyme disease, leptospirosis)
- autoimmune disease (SLE, Rheumatoid arthritis, primary biliary cirrhosis)
- leprosy, malaria และผู้สูงอายุ

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย syphilitic uveitis และ positive serology จำเป็นต้องเจาะหลังเพื่อแยกโรค asymptomatic neurosyphilis ทุกราย โดยการเจาะหา CSF-VDRL เท่านั้น ซึ่งมีใช้ CSF FTA-ABS เนื่องจาก FTA-ABS สามารถผ่าน blood brain barrier ได้ จึงทำให้บอกไม่ได้ว่าผลเป็นบวกนี้มาจากเลือดหรือในสมอง

Test for Tuberculosis

นอกจากการฉายภาพรังสีที่ปอด ซึ่งมักจะไม่พบความผิดปกติ เนื่องจากการติดเชื้อในลูกตา ส่วนใหญ่จะเป็นชนิดที่ไม่มีพยาธิสภาพที่ปอดแล้ว การตรวจวัณโรคที่เป็นที่นิยมแบ่งได้สองชนิด คือ

1. TB Skin test การตรวจด้วยภูมิคุ้มกันทางผิวหนัง ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้มานาน

2. TB blood test การตรวจเลือด

Purified Protein Derivative (PPD), Mantoux Skin Test, Tuberculin skin test^{1,3}

เป็นการ test ที่บ่งชี้ว่าเคยมีการติดเชื้อวัณโรคมาก่อน ไม่จำเป็นว่าโรคจะต้อง active ในขณะนี้

วิธีการทำ ให้ใช้ 5-tuberculin unit (TU) ฉีดเข้า intradermal บริเวณท้องแขน ให้เกิด wheal ประมาณ 6-10 mm. จากนั้นรอประมาณ 48-72 ชั่วโมง เทคนิคคือใช้น้ำเกลือเช็ดผิวหนังแทนแอลกอฮอล์

การแปลผล จะให้ผล positive เมื่อ

- Induration > 5 mm. ในผู้ป่วย HIV, มีประวัติสัมผัสกับผู้ป่วยที่กำลังเป็นวัณโรค, x-ray สงสัยว่ามีร่องรอยของวัณโรคเก่า

- Induration > 10 mm. ในผู้ป่วยเบาหวานหรือโรคไตวาย, รับประทานภูมิคุ้มกัน, ผู้ที่ทำงานสาธารณสุข, ผู้ที่อยู่ในภูมิลาเนาที่มีการระบาดของวัณโรค ดังรูปที่ 2

- Induration > 15 mm. ในผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะเสี่ยงหรือบุคคลทั่วไป

- ปรากฏเป็นลักษณะ Bleb ดังรูปที่ 3

False negative skin test พบได้ 25% เกิดจาก

- มีภาวะเจ็บป่วย
- รับประทานภูมิคุ้มกัน เช่น steroid therapy
- ผู้สูงอายุ หรือ ขาดสารอาหาร
- ผู้ที่เป็นโรค sarcoidosis

False positive

- ผู้ที่ติดเชื้อ Atypical mycobacteria



รูปที่ 2 แสดงผล tuberculin test positive เนื่องจาก Induration 12 mm. (รูปสื้ท้ายเล่ม)



รูปที่ 3 แสดงผล tuberculin test positive เนื่องจากมีลักษณะ bleb formation (รูปสื้ท้ายเล่ม)

- ผู้ที่เคยฉีด vaccine BCG
- ผู้ที่รักษามะเร็งกระเพาะปัสสาวะด้วยการฉีด intraluminal BCG

สำหรับผู้ที่เคยฉีดวัคซีน BCG แล้วผล positive ประมาณ 10 mm. นั้น จะมีแนวโน้มที่ปฏิกิริยาจะลดลงเร็วกว่า เมื่อเทียบกับผู้ที่เคยติดเชื้อจริงๆ

TB Blood test, Interferon-Gamma Release Assays (IGRAs)^{6,7}

ซึ่งได้รับการยอมรับจาก FDA มีความน่าเชื่อถือ และ

ความแม่นยำกว่า ความไวและความจำเพาะสูง ใช้ในการวินิจฉัยวัณโรคที่กำลังลุกลาม (active TB infection) และ วัณโรคแฝง (Latent infection) แต่ยังไม่สามารถแยกทั้งสองอย่างนี้ออกจากกันได้ ปัจจุบันมีสองชนิดได้แก่ QuantiFERON®-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT) และ the T-SPOT®.TB test (T-Spot) วิธีการนี้ใช้หลักการ cell-mediated immune response โดย T-lymphocyte ของผู้ที่มีการติดเชื้อจะทำปฏิกิริยาตอบสนองต่อโปรตีนของเชื้อวัณโรค (ESAT-6 และ CFP-10) ทำให้มีการหลั่ง Interferon-gamma (IFN- γ) ออกมา และจะถูกวัดโดยวิธี ELISA

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบข้อดี ข้อเสียระหว่าง IGRAs กับ PPD skin test

IGRAs	PPD skin test
In vitro	In vivo
ข้อผิดพลาดจากห้องทดลองน้อย	มีข้อผิดพลาดได้ทั้งจากคนฉีดยา และผู้อ่านผล
ใช้ M. tb antigens ที่มีความเฉพาะเจาะจง	ใช้ PPD antigen ที่มีความเฉพาะเจาะจงน้อยกว่า
ใช้เวลาตรวจเพียงครั้งเดียว	อย่างน้อยสองครั้ง
การฉีดวัคซีน BCG ไม่มีผลกับการทดสอบ	ผู้ฉีด BCG อาจให้ผล false-positive ได้
ราคาสูงกว่า	ราคาถูก

วิธีการทำ ใช้เลือดที่เก็บใน heparin อย่างน้อย 4-6 ml. ที่อุณหภูมิห้อง และ ส่งทำ test ทันที ภายใน 12-30 ชั่วโมง

การแปลผล

Positive หมายถึง มีการติดเชื้อวัณโรค M. tuberculosis จริง แต่ไม่สามารถบอกได้ว่า active หรือ latent

Negative หมายถึง ไม่เคยมีการติดเชื้อวัณโรคมาก่อน

Intermediate หมายถึง การทดสอบมีความผิดพลาด หรือ ผู้ป่วยมี lymphocyte น้อยมาก ไม่เพียงพอต่อการทดสอบ แนะนำให้ส่งตรวจซ้ำ

ข้อจำกัดของการทดสอบที่ทำให้การแปลผลอาจผิดพลาด

a) ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ผู้ป่วย HIV, AIDS, รับประทานยากดภูมิคุ้มกัน, เบาหวาน, ไตวาย, โรคเลือด หรือ โรคมะเร็งต่างๆ

b) ผู้ที่กำลังรักษาวัณโรคอยู่

c) ผู้ที่อายุน้อยกว่า 17 ปี

d) หญิงตั้งครรภ์

Polymerase Chain Reaction (PCR)^{8,9}

เป็นเทคนิคการเพิ่มจำนวน DNA ให้มากขึ้นจากตัวอย่างเดิมจนสามารถตรวจสอบได้ ข้อดีคือ เป็น test ที่มี sensitivity และ specificity สูง และใช้เวลาในการทำไม่นานเพียง 2-5 ชั่วโมง

ขั้นตอนการทดสอบ คือ denaturation, primer binding, และ DNA synthesis

วิธีการเก็บ specimen

i) Conjunctival swab และ corneal scraping หลังจากได้ specimen แล้วให้ใส่ใน 0.1 ml balanced salt solution และใช้เครื่องมือปราศจากเชื้อตัด specimen ออกทันที

ii) Tear fluid สามารถเก็บโดยการล้างตาด้วย sterile saline 0.5 ml

iii) Aqueous specimen ใช้วิธี anterior chamber paracentesis 0.05 - 0.01 ml ก็เพียงพอ

iv) Vitreous เก็บได้สองวิธีคือ vitreous aspirate 0.1-0.3 ml หรือ vitrectomy initial preinfusion aspirate 0.1-0.5 ml

หลังจากได้ specimen แล้วให้ใส่ใน sterile capped tube เช่น 1.5 ml microfuge tube และน้ำแข็งจากนั้นนำส่งทันที หากไม่ได้ทำการทดสอบทันทีให้ frozen ที่ -20°C ถึง -80°C

False positive พบใน

- Laboratory contamination จากเครื่องมือ หรือ technician

- Latent host DNA เช่น คนที่เคยติดเชื้อ EBV มาก่อน เชื้อจะแฝงอยู่ที่เม็ดเลือดขาว หากตัวอย่างที่นำตรวจมีเม็ดเลือดขาวปน อาจให้ผล EBV positive ได้

False negative เกิดจากความผิดพลาดในขั้นตอนการทำ โดยเฉพาะตอน primer binding เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการทดสอบ ปัจจุบันได้มีการนำ real-time PCR มาใช้ อย่างไรก็ตาม ควรประเมินผลควบคู่ไปกับ clinical จะได้ประโยชน์สูงสุด

เชื้อที่ทำให้เกิดโรคทางตาที่สามารถตรวจ PCR ได้ในประเทศไทยขณะนี้

Viral : Herpes simplex virus Type 1 (HSV-1)

Herpes simplex virus Type 2 (HSV-2)

Epstein Barr virus (EBV)

Cytomegalovirus (CMV)

Varicella Zoster Virus (VZV)

Human herpes virus 6

Human herpes virus 7

Adenovirus

Bacterial and fungi เช่น Mycobacterium spp.

Parasitic : Toxoplasma gondii

Goldmann-Witmer (GW) coefficient^{10,11}

เป็นการทดสอบที่ใช้แยก local production Antibodies กับ passive leakage from the blood การตรวจด้วยวิธีนี้จะมี specificity สูง

$$GW = \frac{\text{intraocular fluid Ab / serum Ab for the specific Ab in question}}{\text{intraocular fluid Ab / serum ratio of total Ig}}$$

ตัวอย่างเช่น ต้องการทดสอบโรค Toxocariasis

$$GW = \frac{\text{toxocara Ab / total IgG in aqueous or vitreous}}{\text{toxocara Ab / total IgG in serum}}$$

การแปลผล

- ≥ 4 ยืนยันมีการติดเชื้อในลูกตาจริง
- 2-4 คาดว่ามีการติดเชื้อในลูกตา
- ~ 1 ไม่มีการติดเชื้อในลูกตา

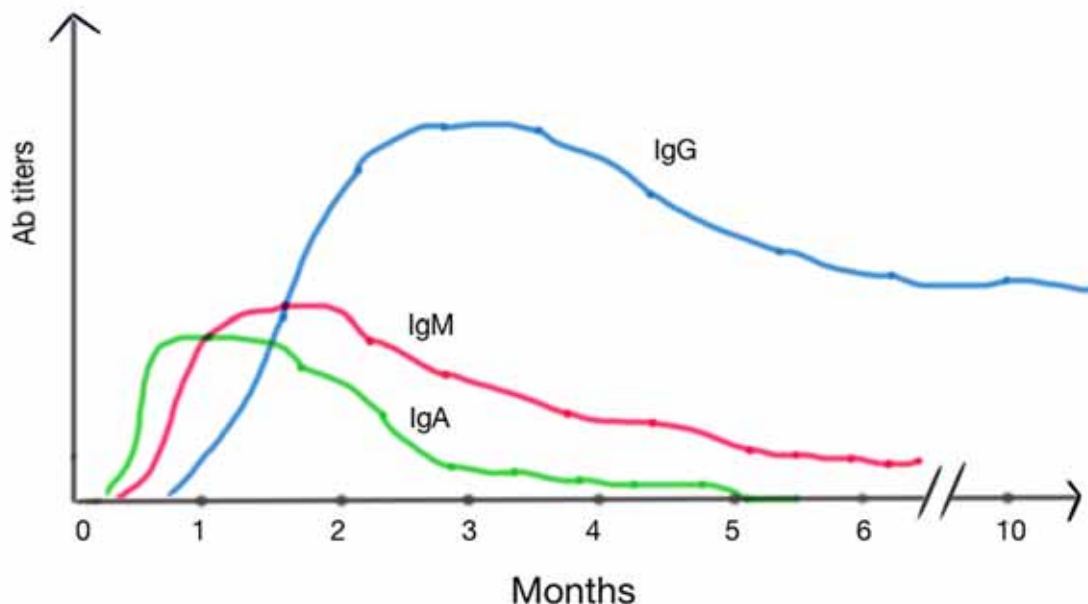
positive จะบอกได้เพียงว่าเคยมีการติดเชื้อมาก่อนเท่านั้น แต่ถ้าต้องการบอกว่าติดเชื้อโดยได้รับเชื้อมาใหม่และ active จริงๆ ควร follow up ดู titer ว่ามากขึ้น 4 เท่าหรือไม่ (4-fold rising) ดังนั้นจึงต้องดูตามอาการทางคลินิกเป็นหลักด้วย แต่หาก negative สามารถแยกโรคออกไปได้

Toxoplasma antibodies¹⁻³

Toxoplasma IgM สามารถตรวจพบได้ในช่วง acute phase of infection และจะคงอยู่ประมาณ 1 ปี มีประโยชน์ในการบอกว่าได้รับเชื้อมาใหม่ (acquired disease)

Toxoplasma IgG จะปรากฏประมาณ 2 สัปดาห์ หลังจากการติดเชื้อ และจะคงอยู่ตลอดชีวิต ดังรูป 4 ซึ่งหาก

สำหรับ congenital infection จะใช้ IgM เป็นตัวยืนยันการติดเชื้อ เนื่องจาก IgG สามารถผ่านรกได้ จึงบอกได้ยากกว่าเป็นของมารดาหรือไม่ แต่ IgM นั้นเมื่อแรกเกิดจะมีปริมาณที่น้อยมากจนอาจตรวจไม่พบ ดังนั้น IgA จึงมีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยเป็นอย่างมาก



รูปที่ 4 แสดงค่า antibodies ในเลือดผู้ที่ได้รับเชื้อ Toxoplasma (รูปสีทำเล็ม)

Non-infection

Erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein tests (CRP)¹²

ESR เป็นตัวชี้วัดของอัตราที่เซลล์เม็ดเลือดแดง ปักหลักผ่านคอลัมน์ของของเหลว ใช้เวลาในการทดสอบ ประมาณ 1 ชั่วโมง

CRP คือโปรตีนที่หลั่งออกมาจากตับ ช่วงที่มีการอักเสบ ดังนั้นจะถูกตรวจพบในเลือดได้ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ มะเร็ง หรือโรคภูมิคุ้มกัน

การทดสอบทั้งสองชนิดนี้มีประโยชน์ในการบอถึงภาวะที่มีการอักเสบในร่างกาย แต่ไม่สามารถระบุได้ว่ามาจากสาเหตุอะไร เช่นการติดเชื้อ, malignant, rheumatic disease หรือโรคอื่นๆ เช่น anemia, pregnancy, elderly หรือใช้ยาลด cholesterol ดังนั้นจึงไม่เหมาะที่จะใช้เป็น screening test ใน rheumatic disease

นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการใช้เป็นตัวบอก prognosis หรือ monitor ในผู้ป่วย rheumatoid arthritis, polymyalgia rheumatic, Behcet's disease และ giant cell arteritis ซึ่งช่วงที่โรค active ค่า ESR จะสูงขึ้น

ค่าปกติ จะมากขึ้นตามอายุ และพบว่าเพศหญิงจะสูงกว่า

$$\text{ESR (mm/hr)} \leq \frac{\text{Age (in years)} + 10 \text{ (if female)}}{2}$$

Newborn = 0 - 2 mm/hr

Neonatal to puberty 3 - 13 mm/hr

CRP normal = 0 - 1.0 mg/dl, ≤ 10 mg/L

ANA (Anti-nuclear antibodies)¹²

ANA เป็น autoantibodies ที่ประกอบด้วย anti-bodies หลายชนิด ทำปฏิกิริยากับ nuclear antigen ของคนและสัตว์ ซึ่งจะพบค่าสูงกว่าปกติ ในคนที่ เป็นโรค autoimmune โดยเฉพาะ SLE จะเห็นว่า positive ANA เป็น 1 ใน 11 criteria ในการวินิจฉัย ดังนั้นการตรวจชนิดนี้จึงมีประโยชน์มากในการใช้เป็น screening test เนื่องจาก หากพบว่า negative จะเป็นการแยกโรคออกได้ การรายงานผลจะบอกทั้งค่า titer และ pattern (การติดสีที่นิวเคลียส) ซึ่งมีความสำคัญทั้งสองอย่าง หากผลออกมาเป็น positive แนะนำให้ส่งตรวจเพิ่มเติมดังตารางที่ 3 และ 4

ANA test พบ positive ร้อยละ 98 ใน SLE, ร้อยละ 40-70 ในผู้ป่วยโรค connective tissue อื่นๆ, ร้อยละ 5 ในคนปกติ (ตัดที่ 1:160)

Antineutrophil cytoplasmic antibody test (ANCA)¹²

ANCA เป็น autoantibodies (IgG) ต่อ antigens ที่อยู่ในcytoplasm ของ neutrophil granulocytes ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยใช้วิธี indirect immunofluores-

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะรูปแบบของ ANA ที่สัมพันธ์กับโรคต่างๆ และการตรวจเพิ่มเติม

Antigen	Test ที่ควรส่งตรวจเพิ่มเติม
Homogenous	none
Diffuse	Anti-ENA profile
Peripheral Rim	Anti-dsDNA
Speckled	Anti-ENA profile
Nucleolar	Anti-topoisomerase Ab
Centromere	none

ตารางที่ 4 แสดง Anti extractable nuclear antigen test (Anti-ENA) และโรคที่เกี่ยวข้อง

ENA	โรคที่เกี่ยวข้อง
DNA-histone complex (Antihistone)	SLE (60%) Drug-induced lupus (95%)
dsDNA	SLE
Anti-RNP	MCTD (100%)
RNA polymerase types 2 and 3	Systemic sclerosis
Scl-70	Systemic sclerosis (15%-70%)
Anti-Sm	SLE (25%-30%)
Anti-Ro (SSA)	Sjogren's syndrome (8%-70%) SLE (25%-30%)
Anti-La (SSB)	Sjogren's syndrome (14%-60%) SLE (15%)
Anticentromere	Limited scleroderma (CREST)
Antitopoisomerase	Diffuse scleroderma

cence ทำให้เกิดการติดสี 2 ลักษณะคือ Cytoplasmic fluorescence (c-ANCA) และ Perinuclear fluorescence (p-ANCA) ซึ่ง ANCA จะพบได้บ่อยใน vasculitic syndromes

c-ANCA พบได้มากกว่าร้อยละ 90 ในผู้ป่วย systemic Wegener's granulomatosis (มี renal หรือ pulmonary involvement หรือทั้งสองอย่าง), ร้อยละ 75 ในผู้ป่วย limited Wegener's granulomatosis, ร้อยละ 50 ในผู้ป่วย microscopic polyarteritis

p-ANCA จะมีความจำเพาะต่อ antigen ของ neutrophil น้อยกว่า จึงสามารถพบปฏิกิริยาต่อ myeloperoxidase, lactoferrin, elastase ได้เช่นกัน ดังนั้นหากพบว่า positive ควรส่งตรวจ antimyeloperoxidase antibodies เพิ่มเติม ซึ่งพบได้ในโรค Churg-Strauss syndrome, crescentic glomerulonephritis และ microscopic polyarteritis

ANCA ไม่เหมาะใช้เป็น screening test ใน case uveitis ทั่วไป ควรส่งตรวจเมื่อคิดถึง Wegener's granulomatosis หรือ Polyarteritis nodosa ใน case scleritis,

PUK, retinal vasculitis และ orbital inflammation

HLA (human leukocyte antigen)¹⁻³

คือ โปรตีนชนิดหนึ่ง (glycoproteins) ที่อยู่บนผิวของเม็ดเลือดขาว ในสัตว์อื่นจะเรียกว่า major histocompatibility complex (MHC) ที่เกี่ยวข้องกับทางตาได้แก่

- 3 class I MHC : HLA-A, -B, -C
- 3 class II MHC : HLA-DR, -DP, -DQ

การรายงานผล จะบอกเป็น positive และ negative HLA B27 พบได้ร้อยละ 5-8 ในคนปกติทั่วไป แต่พบได้มากถึงร้อยละ 95 ในผู้ป่วย white, ร้อยละ 50 ในผู้ป่วย black with ankylosing spondylosis นอกจากนี้ ร้อยละ 50-80 ของผู้ป่วยกลุ่ม seronegative spondyloarthropathies (SNSA) ได้แก่ reactive arthritis (Reiter's syndrome), psoriatic arthritis with spondylitis และ spondylitis associated with inflammatory bowel disease

HLA B27 จะมีประโยชน์มากในผู้ป่วย acute non-granulomatous unilateral anterior uveitis

ตารางที่ 5 แสดง HLA ที่สัมพันธ์กับโรคทางตา¹

โรค	HLA association	ค่าความเสี่ยง (RR)
Acute anterior uveitis	HLA-B27	8
Reiter syndrome	HLA-B27	60
JRA/JIA	HLA-DR4,-Dw2	
Behcet syndrome	HLA-B51	4-6
Birdshot chorioretinitis	HLA-A29,-A29.2	80-100
Intermediate uveitis	HLA-B8, -B51, -DR2, DR15	6
Sympathetic ophthalmia	HLA-DR4	
VKH	HLA-DR4	
Sarcoidosis	HLA-B8, -B13	
Multiple sclerosis	HLA-B7, -DR2	
Ocular histoplasmosis	HLA-B7, -DR2	12
Retinal vasculitis	HLA-B44	

Vitreous biopsy

ข้อบ่งชี้^{1,2,13}

1. ในผู้ป่วยที่สงสัยกลุ่มมะเร็งในลูกตาเช่น intra-ocular lymphoma
2. ในผู้ป่วยที่สงสัย มีการติดเชื้อในลูกตา
3. ในกลุ่มม่านตาอักเสบเรื้อรังที่ยังไม่ทราบสาเหตุ
 - อาการแสดงที่ไม่ชัดเจน หรือ ไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัย
 - อาการแสดงทางร่างกายยังไม่สามารถระบุได้
 - ไม่ตอบสนองต่อการรักษาภาวะม่านตาอักเสบ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่อายุมากกว่า 65 ปี

ในกรณีที่สงสัย intraocular lymphoma นั้น สิ่งส่งตรวจที่สำคัญได้แก่^{14,15,16}

1. cytology นับว่าเป็นการส่งตรวจที่เป็นมาตรฐานสำคัญในการวินิจฉัย และควรปรึกษาพยาธิแพทย์ล่วงหน้าเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุด นอกจากนี้ควรมีขั้นตอนการส่งที่รวดเร็วเพื่อป้องกันเซลล์มะเร็งแตกตัว ซึ่งอาจทำให้การแปลผลผิดพลาดได้ การตรวจชนิดนี้มีความไวต่ำ ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย แต่มีความจำเพาะสูงมาก

2. cytokine analysis¹⁷ ใช้หลักการที่ว่า IL-10 ถูกสร้างโดย malignant B cells ในขณะที่ IL-6 ถูกสร้างโดย inflammatory cells ดังนั้น อัตราส่วนระหว่าง IL-10 และ IL-6 จึงสูงขึ้นในผู้ป่วย intraocular lymphoma และสามารถใช้เป็นตัวช่วยในการวินิจฉัยโรคได้

มีรายงาน¹⁸ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวในตา 35 ราย เทียบกับผู้ป่วยภาวะม่านตาอักเสบ 64 ราย พบว่าหากเราใช้อัตราส่วน IL-10:IL-6 ratio > 1 จะมี Sensitivity 74% และ Specificity 75%

3. Immunophenotyping by immunohistochemistry หรือ Flow cytometry¹⁹⁻²¹ ใน intraocular lymphoma จะเป็นการตรวจหา immunoglobulin ที่ผิดปกติ ชนิด K (kappa) or L (lambda) light chain เป็นหลัก โดยการใช้ B lymphocyte markers ที่จำเพาะ (CD19, CD20, and CD22) ไปจับเซลล์มะเร็ง รายงานผลเป็นกราฟ

4. IgH Gene Rearrangement²² ใช้หลักการของ PCR-based ในการค้นหา Monoclonal populations of cells ซึ่งพบในผู้ป่วยกลุ่มมะเร็งต่อมน้ำเหลือง รายงานผลเป็น positive/negative

เอกสารอ้างอิง

1. American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course. Section 9: Intraocular Inflammation and Uveitis; AAO 2016-2017.
2. Nussenblatt RB, Whitcup SM. Uveitis Fundamentals and Clinical Practice. Forth edition; 2010
3. Foster CS, Vitale AT. Diagnosis and Treatment of Uveitis. New York: W.B. Saunders Company, 2002.
4. American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course. Section 8: External disease and cornea; AAO 2016-2017.
5. Henao AF, Martinezand AF, Johnson SC; Diagnostic tests for syphilis New tests and new algorithms; Neurol Clin Pract. 2014 Apr; 4(2): 114-22.
6. Gerald HM, John J, AndrewV, Phillip L, Stefan G, Kenneth C: Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect Mycobacterium tuberculosis Infection-United States, 2010; CDC/National Center for HIV, STD, and TB Prevention June 25, 2010 / 59(RR05);1-25
7. Gerald HM, John J, Phillip L, Michael FL, Beverly M, Andrew V; Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting Mycobacterium tuberculosis Infection, United States; CDC/National Center for HIV, STD, and TB Prevention December 16, 2005 / 54(RR15);49-55
8. Testing ocular fluids in uveitis. Ophthalmol Clin N Am 2002;15: 271-9.
9. CME review: polymerase chain reaction diagnosis for posterior segment disease. Retina 2003;23:445-52.
10. Dussaix E, Cerqueti PM, Pontet F, Bloch ME. New approaches to the detection of locally produced antiviral antibodies in the aqueous of patients with endogenous uveitis. Ophthalmologica 1987;194:145-9.
11. Bilateral ocular toxocariasis demonstrated by aqueous humor enzyme-linked immunosorbent assay. Am J Ophthalmol 1995;119:514-6.
12. นัทนา กลิตานนท์, ไพจิตต์ อัครวนบดี, ปวีณา เชี่ยวชาญวิศวกิจ. บรรณาธิการ. Encore Rheumatology. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สมาคมรูมาติสซั่มแห่งประเทศไทย, 2014
13. Albert T. Vitale; Vitrectomy in Patients with Uveitis: review of ophthalmology 2006;2 February
14. Davis JL. Diagnosis of intraocular lymphoma. Ocular Immunology & Inflammation 2004;12:7-16.
15. Chan CC, Wallace DJ. Intraocular lymphoma: update on diagnosis and management. Cancer Control 2004;11:285-95.
16. Davis JL, Miller DM, Ruiz P. Diagnostic testing of vitrectomy specimens. Am J Ophthalmol 2005;140:822-9.
17. Chan CC, Whitcup SM, Solomon D, Nussenblatt RB. Interleukin-10 in the vitreous of patients with primary intraocular lymphoma. Am J Ophthalmol 1995;120:671-3.
18. Wolf et al. Ophthalmology 2003;110:1671.
19. Davis JL, Solomon D, Nussenblatt RB, Palestine AG, et al. Immunocytochemical staining of vitreous cells. Indications, techniques, and results. Ophthalmology 1992;99:250-6.
20. Davis JL, Vician AL, Ruiz P. Diagnosis of intraocular lymphoma by flow cytometry. Am J Ophthalmol. 1997;124: 362-72.
21. Zaldivar RA, Martin DF, Holden JT, Grossiklaus HE. Primary intraocular lymphoma: clinical, cytologic, and flow cytometric analysis. Ophthalmology 2004;111:1762-7.
22. Baehring JM, Androudi S, Longtine JJ, Betensky RA, Sklar J, Foster CS, Hochberg FH.; Analysis of clonal immunoglobulin heavy chain rearrangements in ocular lymphoma; cancer 2005 Aug 1;104(3):591-7.