การคาดการณ์การติดเชื้อซีเอ็มวีโดยการวัดระดับควอนติเฟอร์รอน ซีเอ็มวีในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะที่มีซีเอ็มวีซีโรโลยีเป็นบวก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

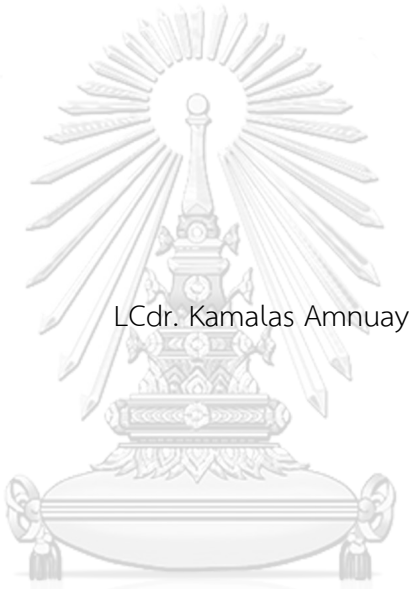
น.ต.กมลาสน์ อำนวย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The prediction of CMV reactivation by QuantiFERON CMV test in CMV-seropositive solid organ transplant recipient in King Chulalongkorn Memorial Hospital

LCdr. Kamalas Amnuay



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

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 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคาดการณ์การติดเชื้อซีเอ็มวีโดยการวัดระดับควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวีในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะที่มีซีเอ็มวีซีโรโลยีเป็นบวก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
โดย	น.ต.กมลาสน์ อำนวย
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงกมลวรรณ จุติวรกุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงกมลวรรณ จุติวรกุล)

..... กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์จักรพันธ์ ชัยพรหม)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ นายแพทย์จักรพงษ์ บรูมินเหนทร์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กมลาสน์ อำนวย : การคาดการณ์การติดเชื้อซีเอ็มวีโดยการวัดระดับควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวีในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะที่มีซีเอ็มวีซีโรโลยีเป็นบวก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์. (The prediction of CMV reactivation by QuantiFERON CMV testin CMV-seropositive solid organ transplant recipientin King Chulalongkorn Memorial Hospital) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. พญ.กมลวรรณ จุติวรกุล

ที่มา: ในประเทศไทยการดูแลผู้ป่วยที่มีซีเอ็มวีซีโรโลยีให้ผลบวกในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ จะใช้วิธีการตรวจระดับซีเอ็มวีไวรัสในเลือดอย่างใกล้ชิดซึ่งเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความสามารถในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีในช่วง 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ โดยใช้วิธีทดสอบภูมิคุ้มกันชนิด ควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวี

วิธีการศึกษา: งานวิจัยรูปแบบการศึกษาไปข้างหน้า รวบรวมประชากรตัวอย่างที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ และมีซีเอ็มวีซีโรโลยีให้ผลบวก ได้รับการตรวจติดตามระดับไวรัสซีเอ็มวี ในเลือดทุก1-2 สัปดาห์ ควบคู่กับการตรวจ ควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวี ก่อนการปลูกถ่ายอวัยวะ, 1 และ 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ

ผลการศึกษา: ผู้ป่วยตัวอย่างได้รับการปลูกถ่ายไตทั้งหมด 41 คน พบมีภาวะการติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวี 25 คน คิดเป็นร้อยละ 61 จากงานวิจัยพบว่า ควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวีที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ มีความไวและความจำเพาะต่ำ คิดเป็นร้อยละ 48 และ 62.5 ตามลำดับ และพบควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวีที่ 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะมีค่า Negative predictive value ร้อยละ 91.7

สรุปผลการวิจัย: ควอนติเฟอร์รอนซีเอ็มวีที่ 1 เดือน มีความสามารถในการคาดกาณ์การเกิดการติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีต่ำทั้งความไวและความจำเพาะ อย่างไรก็ตาม ผลบวกที่ 3 เดือน อาจมีประโยชน์ในแง่การเริ่มยารักษาการติดเชื้อซีเอ็มวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2564 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

6370067430 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: Kidney transplant, Cytomegalovirus infection, QuantiFERON CMV, Preemptive treatment

Kamalas Amnuay : The prediction of CMV reactivation by QuantiFERON CMV testin CMV-seropositive solid organ transplant recipientin King Chulalongkorn Memorial Hospital. Advisor: Asst. Prof. Dr. Kamonwan Jutivorakool

Background: Preemptive therapy with weekly CMV viral load monitoring is the main strategy for intermediate-risk (CMV IgG R+) patients in Thailand. Due to the over usage of weekly PCR for CMV viral load, we study the performance of QuantiFERON CMV

Method: A prospective cohort study of CMV-seropositive solid organ transplant recipients was conducted. The primary objective is that the QuantiFERON CMV in 1st month after transplant can be a reliable test for the prediction of CMV infection within 3 months.

Result: 41 participants including 25 (61.0%) with CMV DNAemia were enrolled during the study period. All participants underwent only kidney transplantation. The diagnostic performance of 1-month QuantiFERON CMV revealed that sensitivity and specificity were 48.0% and 62.5% respectively. However, 91.7% of NPV was found in the 3-month QuantiFERON CMV.

Conclusion: The 1- month QuantiFERON CMV has low performance in both sensitivity and specificity. However, the reactive QuantiFERON CMV at 3-month is useful for considering the treatment of CMV DNAemia during that period.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Field of Study: Medicine Student's Signature .....

Academic Year: 2021 Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากความเมตตากรุณา และความช่วยเหลือจากผศ. พญ. กมลวรรณ จุติวรกุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้เสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาอย่างดีเสมอมา ซึ่งผู้วิจัยกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้
ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และพยาบาลหน่วยโรคติดเชื้อและโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล เก็บตัวอย่างเลือด
ขอบพระคุณผู้ป่วย ที่เสียสละเวลาอันมีค่าในการเข้าร่วมโครงการ สุดท้ายนี้ กราบขอบคุณครอบครัวและบุคคลใกล้ชิด ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจข้าพเจ้าตลอดมา

กมลาสน์ อำนวย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

..... ค

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย 1

1.2 คำถามของการวิจัย 4

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4

1.4 สมมุติฐาน 5

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย 6

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น 7

1.7 คำสำคัญ 7

1.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย 7

1.9 ปัญหาทางจริยธรรม 7

1.10 ข้อจำกัดทางการวิจัย 8

1.11 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย 8

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1.12 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข 8
บทที่ 2 9
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 9
2.1 CMV-specific immune monitoring assays 9
2.2 การติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะในประเทศไทย 12
2.3 การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการนำ QuantiFERON CMV มาใช้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ 12
2.4 การศึกษาของการนำ QuantiFERON CMV มาใช้ในประเทศไทย 15
บทที่ 3 17
วิธีดำเนินการวิจัย 17
3.1 รูปแบบการวิจัย 17
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย 17
3.2.1 ประชากร (population) และ ตัวอย่าง (sample) 17
3.2.2 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size determination) 18
3.3 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย 18
3.4 การรวบรวมข้อมูล 19
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล 20
บทที่ 4 21
ผลการวิจัย 21
4.1 คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา 21
4.2 ข้อมูลทั่วไปของอุบัติการณ์ CMV DNAemia ในกลุ่มประชากรที่ศึกษา 23
4.3 ข้อมูลคุณลักษณะทางห้องปฏิบัติการของ QuantiFERON CMV 24
4.4 สมรรถนะของ QuantiFERON CMV test ในการวินิจฉัย CMV DNAemia 26
4.5 การเปรียบเทียบอัตราการรอด (Survival analysis) โดยใช้ Kaplan-Meier analysis 32
4.6 การเปลี่ยนแปลงของ QuantiFERON CMV (dynamics of QuantiFERON CMV test) 32

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5 34
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 34
5.1 อภิปรายผล 34
5.2 ข้อจำกัดของการศึกษา (limitation) 36
5.3 ข้อเสนอและประโยชน์ที่ได้รับ 37
5.4 สรุปผลการวิจัย 38
ภาคผนวก 39
ภาคผนวก ก 40
ภาคผนวก ข 44
บรรณานุกรม 47
ประวัติผู้เขียน 52

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงแนวทางปฏิบัติของการป้องกันการติดเชื้อไวรัส CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ (recommended approaches for CMV prevention in different organs for adult Solid organ transplant; modified from reference[5]) 2

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบการรักษา CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ[3] 3

ตารางที่ 3 แสดงข้อดีและข้อด้อยของการวัดการตอบสนองภูมิคุ้มกันชนิด CMI ของ CMV[11] 11

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่ศึกษา แยกตามกลุ่มมีและไม่มี CMV DNAemia 22

ตารางที่ 5 แสดงผลการตรวจ QuantiFERON CMV แยกตามกลุ่มมี และ ไม่มี CMV DNAemia 25

ตารางที่ 6 แสดงการคำนวน (2x2 table) และสมรรถนะของ 1-month QuantiFERON CMVในการคาดคะเน significant CMV DNAemia 26

ตาราง 7 แสดงการคำนวน (2x2 table) และสมรรถนะของ 3-month QuantiFERON CMV ในการคาดคะเน significant CMV DNAemia 28

ตารางที่ 8 แสดงสมรรถนะในการวินิจฉัย CMV DNAemia ของ 1-month QuantiFERON CMV 31

ตารางที่ 9 แสดงสมรรถนะในการวินิจฉัย CMV DNAemia ของ 3-months QuantiFERON CMV 31

ตารางที่ 11 แสดงภาวะแทรกซ้อนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 6 เดือน 33

ตารางที่ 12 แสดงค่าการทำงานของไตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มี และ ไม่มีภาวะ CMV DNAemia 33

ตารางที่ 13 แสดงวัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีในการทำ QuantiFERON CMV assay 40

ตารางที่ 14 แสดงตารางการแปลผล QuantiFERON®-CMV ELISA 43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย 6

รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนงานวิจัยส่วนของการเก็บตัวอย่างเลือดส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ [5] 19

รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงอัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงของผล QuantiFERON CMV ทั้ง 3 จุดเวลา..... 25

รูปที่ 4 เส้นกราฟ ROC และพื้นที่ใต้โค้ง ROC (1-month QuantiFERON CMV)..... 27

รูปที่ 5 เส้นกราฟ ROC และพื้นที่ใต้โค้ง ROC (3-month QuantiFERON CMV)..... 29

รูปที่ 6 แสดงแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุบัติการณ์การเกิด CMV DNAemia ระหว่างกลุ่ม QF CMV positive และ QF CMV negative 30

รูปที่ 9 แสดงการเตรียม Standard Human IFN-γ dilutions 41

รูปที่ 10 แสดงการเตรียม Working strength conjugate 42

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

การติดเชื้อ cytomegalovirus (CMV) เป็นการติดเชื้อไวรัสแทรกซ้อนที่พบบ่อยที่สุดหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (solid organ transplant) โดยมักเกิดขึ้นในช่วง 6 เดือนแรกหลังการผ่าตัด และสัมพันธ์กับภาวะภูมิคุ้มกันต่ำรุนแรงหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันหลายชนิด[1, 2] ทั้งนี้พบว่า การติดเชื้อไวรัส CMV สามารถแสดงอาการได้หลายรูปแบบ ตั้งแต่การตรวจพบเชื้อไวรัสในเลือดอย่างเดียวโดยไม่แสดงอาการ (CMV viremia หรือ DNAemia) กลุ่มโรค CMV (CMV syndrome) และโรค CMV ชนิดลุกลาม (invasive tissue CMV disease) ทำให้ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการตาย, อัตราทุพพลภาพ และส่งผลโดยอ้อมทำให้เกิดภาวะ graft rejection ตามมา ทั้งนี้ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดการติดเชื้อ CMV[3, 4] ได้แก่

1. สถานะซีโรโลยี CMV IgG ของผู้ให้ และผู้รับบริจาคอวัยวะ (D/R)
2. ชนิดยากดภูมิที่ให้ช่วงแรก (induction therapy) โดยเฉพาะอย่างยิ่งยากดภูมิกลุ่มกด T-cell (T-cell depleting agent)
3. ชนิดของยากดภูมิที่ให้ในระยะยาว (maintainance therapy)
4. ภาวะการปฏิเสธอวัยวะ(graft rejection) และการได้รับยากดภูมิสเตียรอยด์
5. ภาวะ complement ต่ำหรือ ภาวะ hypogammaglobuminemia

Chulalongkorn University

แนวทางเวชปฏิบัตินานาชาติ ของการรักษาการติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ[5, 6] พบว่า CMV IgG D+/R- มีความเสี่ยงสูง (high risk) ต่อการเกิด CMV infection และเนื่องจากอุบัติการณ์การเกิดโรค CMV แบบลุกลามของผู้ป่วยกลุ่ม CMV IgG D+/R- นั้นสูงมาก โดยจากการศึกษาพบว่าอุบัติการณ์การติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต สูงสุดในกลุ่ม CMV IgG D+/R- อยู่ที่ร้อยละ 60[7] และ ในกลุ่ม CMV IgG R+ อุบัติการณ์การติดเชื้อพบร้อยละ 5-30 [8] ทำให้คำแนะนำต่างๆ มีแนวทางปฏิบัติชัดเจนให้ผู้ป่วยกลุ่ม CMV IgG D+/R- ได้รับการป้องกันการติดเชื้อ CMV (prophylaxis therapy) ทุกราย อย่างไรก็ตามกลุ่มผู้ป่วย CMV IgG R+ ซึ่งเป็นผู้ป่วยส่วนใหญ่ในประเทศไทย จัดว่ามีความเสี่ยงปานกลาง (intermediate risk) ของการติดเชื้อ CMV ตามคำแนะนำได้กำหนดแนวทางปฏิบัติ 2 วิธี ได้แก่

1. prophylaxis therapy หรือ การรักษาแบบป้องกันการติดเชื้อ โดยให้ยาต้านไวรัสนาน 3-6 เดือน
2. pre-emptive therapy หรือ การติดตามระดับ CMV DNA หากมีภาวะ CMV DNAemia จึงจะให้การรักษาด้วยยาต้านไวรัสจนกว่าจะตรวจไม่พบ CMV DNAemia

ตารางที่ 1 แสดงแนวทางปฏิบัติของการป้องกันการติดเชื้อไวรัส CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ (recommended approaches for CMV prevention in different organs for adult Solid organ transplant; modified from reference[5])

อวัยวะ	ซีโรโลยี	ระดับความเสี่ยง	คำแนะนำ	ทางเลือก
kidney	D+/R-	High	6 months of GCV/VGCV or preemptive therapy	
	R+	intermediate	3 months of VGCV or preemptive therapy	
liver	D+R-	High	3-6 months of VGCV (VGCV not FDA approved in liver) or preemptive therapy	
	R+	intermediate	3 months of VGCV (VGCV not FDA approved in liver) or preemptive therapy	
heart	D+R-	High	3-6 months of GCV/VGCV	- preemptive therapy - Some experts add CMV Ig to prophylaxis.
	R+	intermediate	3 months of GCV/VGCV or preemptive therapy	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในประเทศไทย การดูแลผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อ CMV ระดับปานกลาง (CMV IgG R+) นิยมใช้วิธีการ preemptive therapy แตกต่างจากแนวทางปฏิบัติในต่างประเทศ เนื่องจากมีข้อจำกัดในการสั่งยาต้านไวรัส valganciclovir ที่มีราคาแพง และไม่อยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ นอกจากนี้ยังมีการเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มเติมไปกับการส่งตรวจระดับ CMV viral load ทุกสัปดาห์ ในปัจจุบันไม่มีข้อกำหนดของระดับ CMV DNAemia ที่ชัดเจนในการเริ่มการรักษา [9] ทำให้แพทย์เกิดความไม่มั่นใจในการพิจารณาเริ่มยาต้านไวรัส ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการนำการตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกัน cell mediated immune response, CMI ชนิด QuantiFERON CMV ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันเฉพาะต่อ CMV มาใช้ประโยชน์ในการตรวจติดตามและคาดการณ์การเกิด CMV reactivation และ คาดการณ์ความสามารถของร่างกายผู้ป่วยในการกำจัดไวรัส (viral clearance) ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ โดยเฉพาะผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบการรักษา CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ[3]

	preemptive strategy	prophylactic strategy
หลักการ	- การตรวจระดับ CMV virus เป็นระยะ ด้วยวิธี PCR และรักษาเมื่อตรวจพบ หรือมีอาการ	- ให้การรักษาแต่แรก (early treatment) นาน 100-200 วัน
ข้อดี	- หลีกเลี่ยงการเกิดพิษจากยา - อุบัติการณ์ของ late CMV disease น้อย - กระตุ้นภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยต่อไวรัสเอง	- กดระดับไวรัสแต่แรก - หลีกเลี่ยงผลทางอ้อมของการติดเชื้อ ได้แก่ การกระตุ้นการเกิด rejection และ การติดเชื้อฉวยโอกาสอื่นๆ
ข้อเสีย	- ความเสี่ยงต่อการเกิด CMV disease หากไวรัสมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว - ผลทางอ้อมของการติดเชื้อ CMV	- การเกิดผลข้างเคียงจากยาต้านไวรัส เช่น ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ - การเกิด late CMV disease - การกระตุ้นการเกิดเชื้อดื้อยา (ganciclovir-resistant mutants)
ราคา	- ค่าใช้จ่ายของการตรวจ PCR	- ค่าใช้จ่ายของยาต้านไวรัส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ทั้งนี้หากตรวจติดตามการติดเชื้อ CMV ใน 3 เดือนแรก โดยตรวจวัดระดับ CMV DNA ทุกสัปดาห์ จะรวมเป็นเงิน 30,000 บาทต่อราย ในขณะที่หากใช้ QuantiFERON CMV ในผู้ป่วยที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการทำการปลูกถ่ายไต เพียง 1 ครั้งจะมีค่าใช้จ่ายเพียง 4,000 บาทต่อราย โดยการศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของ QuantiFERON CMV ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังการปลูกถ่ายไตว่าสามารถทำนายอุบัติการณ์การติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยกลุ่มที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV แบบปานกลางหรือไม่ (CMV IgG R+) โดยผู้วิจัยคาดการณ์ว่าจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเจาะระดับ CMV DNAได้ในบางสัปดาห์ แพทย์ใช้ประโยชน์ในการคาดการณ์เวลาของการเกิด CMV reactivation ได้ และมีส่วนช่วยในการตัดสินใจพิจารณาเริ่มยาต้านไวรัส CMV หากระดับหรืออัตราในการเพิ่มขึ้นของ CMV DNAemia อยู่ในช่วงที่ก้ำกึ่งต่อการเริ่มรักษา

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก (primary research question)

QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือน หลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และตับ) สามารถทำนายการเกิด CMV DNAemia ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) ได้หรือไม่

คำถามรอง (secondary research question)

1. QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และตับ) สามารถทำนายการเกิด CMV DNAemia ที่ต้องได้รับการรักษาด้วยยา ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) ได้หรือไม่
2. QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และตับ) สามารถทำนายการเกิดโรค CMV (CMV disease) ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) ได้หรือไม่
3. ค่าจุดตัดของ QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และตับ) ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) สำหรับการทำนายการเกิด CMV DNAemia และโรค CMV เป็นเท่าใด

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ ของ QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และตับ) ในการทำนายการเกิด CMV DNAemia ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+)

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ) ในการทำนายการเกิด CMV DNAemia ที่ต้องได้รับการรักษาด้วยยา ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+)
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ) ในการทำนายการเกิดโรค CMV (CMV disease) ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) ได้หรือไม่
4. เพื่อศึกษาค่าจุดตัดของ QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ)ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) สำหรับการทำนายการเกิด CMV DNAemia และ โรค CMV

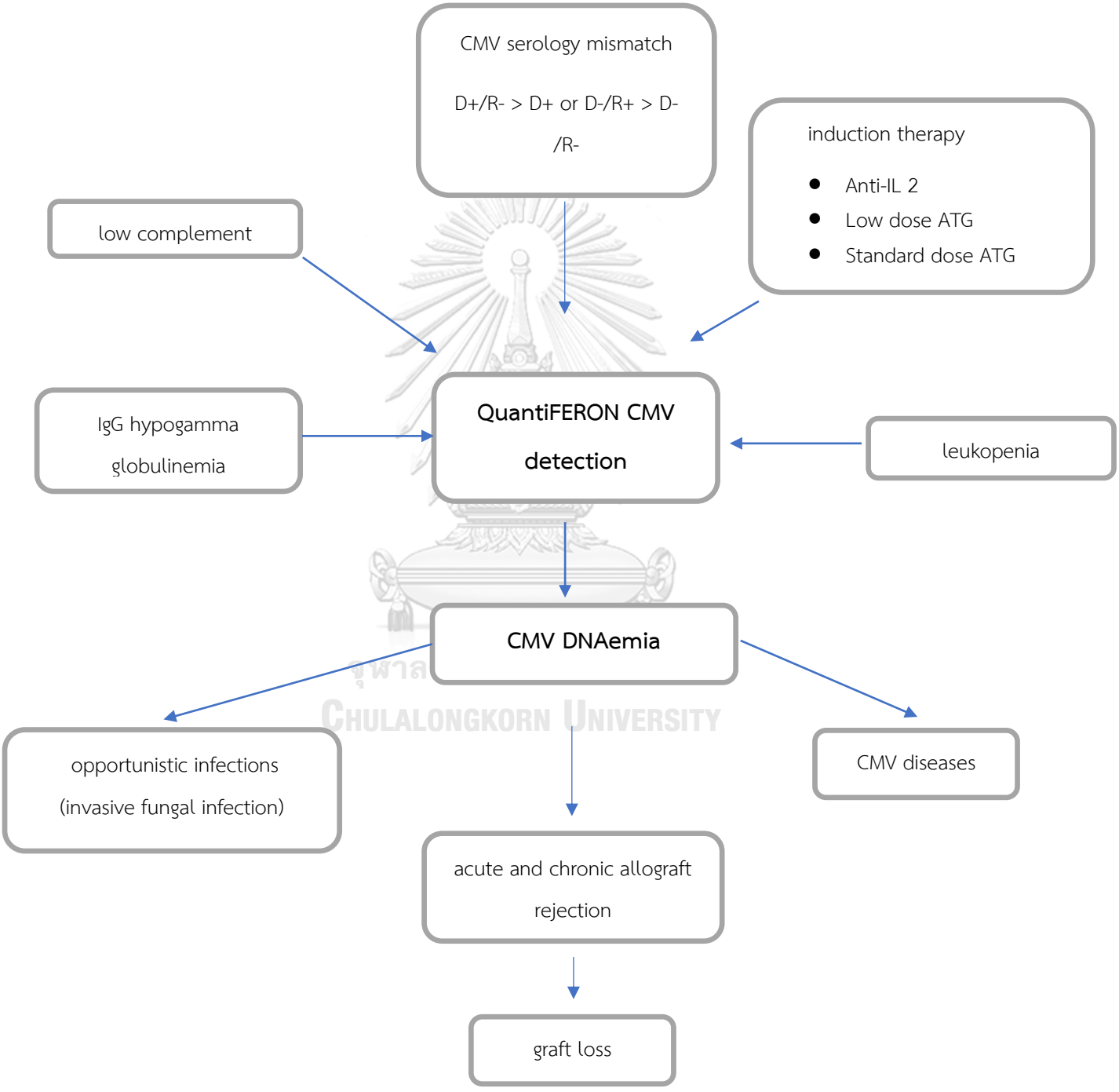
1.4 สมมุติฐาน

QuantiFERON CMV ที่ 1 เดือนการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ) สามารถการทำนายการเกิด CMV DNAemia ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ CMV ระดับปานกลาง (CMV IgG R+)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

รูปที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

CMV DNAemia คือ ผู้เข้าร่วมวิจัยตรวจทางห้องปฏิบัติการพบ CMV DNA ในเลือดตัวอย่างมากกว่า 250 IU/mL

1.7 คำสำคัญ

kidney transplant recipient, heart transplant recipients, liver transplant recipients, cytomegalovirus infection, QuantiFERON CMV, preemptive treatment

1.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

1. CMV DNAemia คือ ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจ CMV viral load ในเลือด และ มีค่ามากกว่า 250 IU/mL
2. โรค CMV (CMV syndrome) คือ ผู้ป่วยที่มีอาการมีไข้ ปวดกล้ามเนื้อ อ่อนเพลีย และ เม็ดเลือดขาวต่ำ ร่วมกับตรวจพบ CMV DNAemia
3. โรค CMV แบบลุกลาม (invasive tissue CMV disease) คือ ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อที่อวัยวะต่าง ๆ เช่น ปอดอักเสบ กระเพาะอาหารอักเสบ ลำไส้เล็กส่วนต้นอักเสบ หรือ ลำไส้ใหญ่อักเสบ เป็นต้น
4. CMV DNAemia with treatment คือ ผู้ป่วยที่มี CMV DNAemia และ ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส CMV โดยการตัดสินใจเริ่มการรักษาขึ้นกับแพทย์หน่วยโรคติดเชื้อพิจารณาตามระดับ CMV viral load ที่เพิ่มขึ้น
5. QuantiFERON CMV ให้ผลบวก (positive) หมายถึง ค่าการตรวจ QuantiFERON CMV ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.2 IU/มล. (reactive result)
6. QuantiFERON CMV ให้ผลลบ (negative) หมายถึง ค่าการตรวจ QuantiFERON CMV ที่น้อยกว่า 0.2 IU/มล. (non-reactive และ indeterminate result)

1.9 ปัญหาทางจริยธรรม

1. การศึกษานี้ได้ส่งให้คณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เห็นชอบก่อน
2. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งหมดจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ
3. ผู้ป่วยที่เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด ได้รับความยินยอมให้เข้าร่วมวิจัยโดยผู้ป่วยเอง หรือผู้แทน โดยชอบธรรมให้ความยินยอม ซึ่งตรงกับหลักความเคารพบุคคล (respect for person)
4. การเจาะเลือดเพื่อดู CMV DNA ในเลือด เป็นการเจาะเลือดที่เป็นมาตรฐานในการเฝ้าติดตามการติดเชื้อ CMV หลังการปลูกถ่ายอวัยวะ ปกติอยู่แล้ว เพียงเพิ่มการเจาะเลือดเพื่อส่งตรวจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

QuantiFERON CMV เพิ่มเติมหลังจากการปลูกถ่ายที่ 1 เดือน และหรือ 2 เดือน และหรือ 3 เดือน โดยมีการเจาะเลือดเป็นปกติอยู่แล้ว ซึ่งไม่ได้เป็นการเพิ่มความเจ็บปวด ให้ผู้ป่วย

1.10 ข้อจำกัดทางการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการตอบสนองของภูมิคุ้มกันร่างกายต่อเชื้อCMVโดยวิธี QuantiFERON CMV ซึ่งค่าที่ได้อาจมีการเปลี่ยนแปลงหลังจากได้ยากดภูมิคุ้มกัน

1.11 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. ทราบประสิทธิภาพของ QuantiFERON CMV ในการทำนาย CMV DNAemia อีกทั้งยังทราบค่าจุดตัด ความไว ความจำเพาะ และค่าความถูกต้องของการทดสอบนี้
2. ทราบอุบัติการณ์การเกิด CMV DNAemia และ CMV disease ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV แบบปานกลาง

1.12 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข

หากมีการเจาะเลือดผิดวัน โดยไม่เกิน 3 วัน สามารถเข้าศึกษาในการศึกษาต่อไปได้ แต่หากเกินกว่า 1 อาทิตย์จำเป็นต้องคัดผู้ป่วยออกจากการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีการนำ CMV-specific immune monitoring assays หลายชนิดมาใช้ในการติดตามภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย ทั้งในช่วงก่อนทำการปลูกถ่ายอวัยวะ (pre-transplant assessment) และ หลังทำการปลูกถ่ายอวัยวะ (post-transplant assessment) โดยมีเป้าหมายเพื่อช่วยในการติดตามการรักษาเช่น ตรวจดูตามหลังการป้องกันการติดเชื้อด้วยวิธี prophylaxis ว่าร่างกายมีการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV หรือไม่ หากมีการตอบสนองภูมิคุ้มกันก็สามารถหยุดยาป้องกันการติดเชื้อได้อย่างปลอดภัย[10] การช่วยพิจารณาความเสี่ยงของ post-prophylaxis CMV disease หรือการพยากรณ์การเกิด recurrent CMV reactivation รวมถึงการนำมาใช้พิจารณาการเริ่มยาฆ่าเชื้อไวรัส ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะที่เริ่มมี CMV DNAemia ระหว่าง preemptive therapy[11]

การเฝ้าติดตามภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อ CMV มีหลายวิธี ได้แก่ QuantiFERON CMV, ELISPOT, intracellular cytokine staining และ tetramer staining [11] (ตารางที่ 2)

2.1 CMV-specific immune monitoring assays

การตรวจ QuantiFERON CMV Assays[11, 12] คือการตรวจติดตามระบบภูมิคุ้มกัน CMI ของร่างกาย โดยการทดสอบในหลอดทดลอง (In-vitro) การวิเคราะห์จากชิ้นส่วนของเชื้อ CMV ที่มีผลต่อ HLA ในวงจำกัด (HLA restricted CMV epitopes) เพื่อกระตุ้น CD8+ T-cells โดยการวิเคราะห์จะใส่ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยในหลอดทดลอง 3 หลอด ประกอบไปด้วย หลอดแรกที่ใส่ชิ้นส่วนของเชื้อ CMV (CMV antigen) หลอดที่สองใส่สาร phytohemagglutinin (PHA) เพื่อเป็นกลุ่มควบคุมชนิดให้ผลบวก และ หลอดสุดท้ายเป็นกลุ่มควบคุมให้ผลลบ โดยหลังจากนั้นจะทำการวัด IFN-γ โดยมีหน่วยเป็นอินเตอร์เนชั่นแนลยูนิตต่อมิลลิลิตร (IU/ml) การวัดผลอาศัยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) โดยผลการวัดจะต้องเป็นบวกในสองหลอดทดลองแรกจึงจะบอกว่ามีภูมิต้านทานต่อ CMI ของ CMV ในผู้ป่วยจริง ผลลัพธ์แสดงเป็นเชิงคุณภาพ ได้แก่ ผลบวก (reactive) ผลก้ำกึ่ง (indeterminate) และ ผลลบ (non-reactive) หรือวัดเป็นเชิงปริมาณ เป็น IU/มล. ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถได้ผลตรวจเร็ว โดยใช้เลือด 3 มิลลิลิตร สามารถทำได้โดยทั่วไป ข้อเสียคือตรวจ CMI ของผู้ป่วยเฉพาะ CD8+ T-cells เท่านั้น และ จำกัดเฉพาะ HLA restricted CMV epitopes และ ถ้าวัดเชิงปริมาณผลออกเป็นค่าก้ำกึ่งอาจมีผลต่อการนำเอาไปใช้ ซึ่งส่วนมากเกิดจากการได้รับยากดภูมิที่ทำให้ปริมาณ T-cells ลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Cytomegalovirus Enzyme-Linked Immunosorbent spot assay (ELISPOT)[13, 14] เป็นเทคนิคการวัด CMI ของไซโตไคน์ (cytokine) ที่เกี่ยวเนื่องกับ CMV ได้แก่ IFN-γ และ ไซโตไคน์อื่นๆ โดยเป็นเทคนิคที่มีความไวสูงเนื่องจากเป็นการวัดการหลั่งไซโตไคน์ระดับเซลล์ โดยมี 2 ยี่ห้อที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ T-Track CMV ELISPOT และ T-SPOT.CMV ELISPOT โดยเป็นการใช้ CMV pp65 และ IE-1 แทนการวัดชิ้นส่วนโปรตีนของ CMV ซึ่งจะสามารถกระตุ้นเซลล์อื่นๆ ได้มากกว่า CD8+ Tcells ได้แก่ CD4+ T cells, NK และ NK T-cells เป็นต้น ตรวจ CMV ELISPOT ต้องอาศัยกระบวนการแบ่งแยกเซลล์ที่มีนิวเคลียสอันเดียวในเลือด (peripheral mononuclear cells, PBMCs) หลังจากกระตุ้นCMV pp65 และ IE-1 ดังกล่าวข้างต้น จากนั้นวัด IFN-γ และไซโตไคน์อื่นๆ ที่สร้างจากเซลล์ที่สนใจ โดยการแบ่งแยกเซลล์นี้เองที่เป็นข้อจำกัดของห้องตรวจทางปฏิบัติการหลายแห่งเนื่องจากทำได้ยาก และมีราคาแพง อีกทั้งยังไม่มีค่าจุดตัดที่ชัดเจน

Intracellular cytokine staining (ICS)[11] คือเทคนิคที่กระตุ้นการหลั่งไซโตไคน์หลายชนิดในหลายเซลล์ เพื่อดูการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันต่อ CMV โดยการกระตุ้นโปรตีน CMV จากเลือด หรือจาก PBMCs และสามารถวัดระดับไซโตไคน์ เช่น IFN-γ, tumor-necrotic factors-alpha (TNF-α) และ interleukin-2 (IL-2) ซึ่งวัดผลโดย fluorescein-coated antibodies ที่จับกับไซโตไคน์ในเซลล์ที่สนใจ โดยวิธีนี้มีข้อจำกัดมากมายเช่น ไม่สามารถทำได้ข้างเตียง เป็นเทคนิคทางการวิจัย มีราคาแพง และยังไม่มีค่ามาตรฐานของผลลัพธ์ ปัจจุบันจึงยังไม่เป็นที่นิยม

Tetramer binding[11] เป็นวิธีการทดสอบโปรตีน MHC-I ที่จำเพาะกับ T-cells โดยการย้อม tetramers ของ MHC-I ที่เห็นได้โดยตรงต่อ CMV CMI โดยตัวอย่างใช้ได้ทั้งจากเลือด หรือ PBMCs โดยใช้ Flow cytometry ในการแบ่งแยกเซลล์ที่สนใจ ซึ่งวิธีนี้ต้องแปลผลร่วมกับ HLA typing

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การศึกษาระดับ QuantiFERON CMV ในคนปกติพบว่าความสัมพันธ์กับ CMV serology ถึง 97% โดยมีความจำเพาะร้อยละ 100 และ ความไวร้อยละ 82 ในขณะที่ความไวของผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิ และผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่รอการปลูกถ่ายไต ลดลงอยู่ที่ร้อยละ 67 ซึ่งเป็นผลมาจากการได้รับยากดภูมิ มีระดับเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ต่ำ ทำให้รบกวนการผลิต IFN-γ ในผู้ป่วยกลุ่มนี้[15] ดังนั้น QuantiFERON CMV เป็นการวัดการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันที่มีประโยชน์และมีข้อดีของการตรวจที่สามารถวัดได้ทั่วไป ราคาถูกกว่าการทดสอบชนิดอื่น สามารถออกผลได้รวดเร็ว จึงเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในการศึกษานี้

ตารางที่ 3 แสดงข้อดีและข้อด้อยของการวัดการตอบสนองภูมิคุ้มกันชนิด CMI ของ CMV[11]

ชื่อการทดสอบ	เทคนิค	การใช้ PBMCs	ราคา	ความยุ่งยาก	ข้อดี	ข้อด้อย
QuantiFERON-CMV	ใช้เลือด 3 มล. ที่มีโปรตีน CMV รอเวลาทำปฏิกิริยาที่ 37 °C 16-24 ชั่วโมง และวัด IFN-γ ด้วยวิธี ELISA	-	+	+	ออกผลเร็ว ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ยุ่งยาก	ตรวจเฉพาะ CD8+ T cells และ HLA restricted อาจมีผลก้ำกึ่งหากได้ยากดภูมิ
ELISPOT	อาศัยการกระตุ้น PBMCs ด้วยโปรตีน CMV และชิ้นส่วน mitogen วัด IFN-γ และออกผลเป็น SFC/cells	+	++	++	มีความไวสูง เป็นเทคนิคที่มีมาตรฐาน	ต้องใช้เครื่องมือแยก PBMC ขาดค่าจุดตัดชัดเจน และมีความแตกต่างของแต่ละห้องทดลอง
Intracellular cytokine staining	ใช้เลือด หรือ PBMCs กระตุ้นจากโปรตีน CMV และย้อม fluorochrome antibodies และตรวจวัดไซโตไคน์หลายชนิดในเซลล์	+/-	+++	+++	ตรวจไซโตไคน์ได้หลายชนิด และหลายชนิดของ T cells	ต้องใช้ flow cytometer ขาดค่ามาตรฐาน และราคาแพง
Tetramer staining	ย้อม tetramer ของ CMV-specific CD8+ T cells	-	++	++	สามารถเห็นเซลล์ที่ติดสีได้	HLA restricted

ELSPOT; enzyme-linked immunosorbent spot assay, PBMC; peripheral blood mononuclear cells, CMV; cytomegalovirus, CMI; cell-mediated immune response, IFN-

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

γ; interferon-gamma, SFC; spot forming colony, ELISA; enzyme-linked immunosorbent assay, HLA; human leukocyte antigen

2.2 การติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะในประเทศไทย

ในประเทศไทยมีการเก็บข้อมูลในโรงเรียนแพทย์ที่เป็นศูนย์ปลูกถ่ายอวัยวะขนาดใหญ่หลายการศึกษา โดยส่วนใหญ่ พบ CMV D+/R+ serostatus เกือบร้อยละ 100 ดังนี้

การศึกษาแบบย้อนหลัง[16] พบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต ช่วงปี 1998-2002 ศูนย์ปลูกถ่ายอวัยวะ รพ.จุฬาลงกรณ์ เท่ากับร้อยละ 11 โดยทุกคนจะเกิดในช่วง 7 เดือนแรก และ สัมพันธ์กับระดับยา cyclosporin ที่สูงเกินระดับการรักษา

การศึกษา single-center retrospective cohort study[17] ในโรงพยาบาลรามาธิบดี ในช่วงปี 2010-2013 พบว่าผู้ป่วยปลูกถ่ายไตอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีร้อยละ 43 โดยมี median time อยู่ที่ 91 วัน และ พบภาวะแทรกซ้อนจาการติดเชื้อสูงถึงร้อยละ 83 ในคนที่ได้รับยา anti-thymoglobulin

การศึกษาที่เป็น single-center retrospective cohort study[18] ในโรงพยาบาลรามาธิบดี ในช่วงปี 2006-2010 ทดสอบหาอุบัติการณ์ของ CMV infection ในช่วง 1 ปี หลังการปลูกถ่ายไต พบ symptomatic CMV infection ร้อยละ 4.6 (GI disease ร้อยละ 44) โดย median time อยู่ที่ 12 สัปดาห์ โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของ CMV viral load ในกลุ่ม symptomatic อยู่ที่ 4.2 log copies/mL และ asymptomatic อยู่ที่ 3.3 log copies/mL และ ความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องคือ การเกิด acute cellular rejection และ acute tubular necrosis

การศึกษา single-center retrospective cohort study[19] ในศูนย์ปลูกถ่ายอวัยวะ รพ จุฬาลงกรณ์ ในช่วงปี 2012-2014 พบอุบัติการณ์ของ CMV infection หลังการปลูกถ่ายไต ร้อยละ 28 โดยเป็น CMV disease ร้อยละ 7 (GI disease ร้อยละ 100) และ CMV viremia ร้อยละ 21 ทั้งนี้พบกว่าร้อยละ 86 เกิดในช่วง 3 เดือนแรก โดยความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องคือ อายุ และ การ induction ด้วย standard anti-thymoglobulin

2.3 การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการนำ QuantiFERON CMV มาใช้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ

โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับ QuantiFERON CMV มากมายในผู้ป่วยไต วายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ได้รับการปลูกถ่ายไต หรือผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะอื่น รวมไปถึงการปลูกถ่ายไขกระดูก ในที่นี้จะเน้นไปยังการศึกษาของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Lochmanova และ คณะ[20] ได้ทำการศึกษาแบบ longitudinal cohort เพื่อดูประสิทธิภาพของ QuantiFERON CMV ในการทำนาย CMI ของผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ได้รับการปลูกถ่ายไตจำนวน 14 ราย โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่มี CMV IgG D-/R+ ร้อยละ 78.5 โดยมีผู้ป่วยที่ติดเชื้อ CMV หลังการปลูกถ่ายไต ร้อยละ 28.6 โดยตรวจระดับ IFN-γ ก่อนและหลังการปลูกถ่ายไต โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรกคือไม่มีประวัติการติดเชื้อ CMV กลุ่มที่สองมีระดับ CMV น้อยกว่า 500 copies/มล. และ กลุ่มสุดท้าย ระดับ CMV 5,000 copies/มล. พบว่ากลุ่มที่ไม่มีประวัติการติดเชื้อ CMV มีแนวโน้มค่า IFN-γ สูงกว่ากลุ่มที่เหลือ แต่เนื่องจากมีจำนวนผู้ป่วยไม่มาก จึงไม่พบความแตกต่างทางสถิติ

Lisboa และ คณะ[21] ได้ทำการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective observational study) ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ได้รับการปลูกถ่ายไต (20 ราย) ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายตับ หัวใจ และ ปอด รวมจำนวน 37 ราย ผู้ป่วยส่วนใหญ่มี CMV IgG R+ (33 ราย) โดยมีปริมาณไวรัส CMV ที่จุดเริ่มต้น 1140 copies/มล. พบว่าผู้ป่วยสามารถกำจัดไวรัสได้เองร้อยละ 78.4 และ ร้อยละ 28.6 ต้องได้รับยาต้านไวรัส โดยการใช้ QuantiFERON CMV วัดระดับ IFN-γ 7 วันหลังจากตรวจพบ CMV ในร่างกาย โดยพบว่าจุดตัดที่มากกว่า 0.2 IU/มล. ของ IFN-γ พบได้ร้อยละ 70.3 กลุ่มที่ผู้ป่วยสามารถกำจัดไวรัส CMV DNAemia ได้เองมีอัตรา QuantiFERON CMV ให้ผลบวกร้อยละ 92.3 เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ต้องได้รับยาต้านไวรัสมี QuantiFERON CMV ให้ผลบวกเพียงร้อยละ 45.5 (p=0.004) โดยผู้วิจัยสรุปได้ว่า QuantiFERON CMV ที่ 7 วันหลังตรวจพบ CMV มีประโยชน์ในการทำนายการติดเชื้อ CMV ว่าร่างกายสามารถกำจัดไวรัสได้เอง หรือผู้ป่วยต้องได้รับยาต้านไวรัส ซึ่งมีประโยชน์ในกลุ่มที่ทำการติดตามแบบ preemptive

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Abate และคณะ[22] ศึกษา QuantiFERON CMV และ ELISPOT ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ได้รับการปลูกถ่ายไต 120 ราย เปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรปกติควบคุม 39 ราย โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่มี CMV IgG R+ พบว่ามีอัตราการเกิด CMV DNAemia ร้อยละ 89, CMV disease ร้อยละ 2 โดยการศึกษานี้ได้ตรวจวัด QuantiFERON CMV และ ELISPOT ที่ระยะเวลา 30, 60, 90, 180 และ 360 วัน หลังการปลูกถ่ายไต พบความสัมพันธ์ว่า QuantiFERON CMV และ ELISPOT เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ผ่านไป โดยมีค่าภูมิคุ้มกันสูงที่สุดที่ 180 วัน และพบว่าผลของ QuantiFERON CMV และ ELISPOT เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับ serology เพียงแค่ร้อยละ 46 และค่าพื้นที่ใต้กราฟของ QuantiFERON CMV และ ELISPOT เท่ากับ 0.66 และ 0.62 ตามลำดับในการตรวจพบ CMV DNAemia สำหรับ QuantiFERON CMV ค่าจุดตัดที่มากกว่า 1-6 IU/มล.ของ IFN-γ ถือว่าผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันของ CMI ต่อ CMV นอกจากนี้พบว่า QuantiFERON CMV และ ELISPOT ที่เพิ่มขึ้นยังมีความสัมพันธ์กับระดับ CMV DNAemia ที่ลดลงแบบเป็นเส้นตรง ผู้วิจัยพยายามหาความสัมพันธ์ของ

ค่าสูงสุดการทดสอบทั้ง 2 ชนิด กับระยะเวลาการเกิด CMV DNAemia พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาของ Kwon และ คณะ[23] เกี่ยวกับผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ได้รับการปลูกถ่ายไต จำนวน 47 ราย เพื่อดูว่า QuantiFERON CMV และ ELISPOT ก่อนการปลูกถ่ายไตจะสามารถทำนายการเกิดการติดเชื้อ CMV ที่ระยะเวลา 6 เดือนได้หรือไม่ ในผู้ป่วยที่มี CMV IgG R+ การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยที่มีการตอบสนองของ CMI ต่อ CMV โดยวิธี QuantiFERON CMV มีร้อยละ 55 และผู้ป่วยกลุ่มนี้มีโอกาสการติดเชื้อเพียงร้อยละ 15 โดยหากไม่มีการตอบสนองต่อ QuantiFERON CMV จะพบอุบัติการณ์การติดเชื้อ CMV ร้อยละ 29 ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่างกับ ELISPOT ที่สามารถคาดการณ์อุบัติการณ์การติดเชื้อ CMV ได้ดีกว่า QuantiFERON CMV โดยมีค่าความไวร้อยละ 30-100 และ ค่าความจำเพาะร้อยละ 35-95 หากใช้ ELISPOT และ มีความไวร้อยละ 60 ความจำเพาะร้อยละ 59 หากใช้ QuantiFERON CMV จุดตัดของ IFN-γ น้อยกว่า 0.2 IU/มล.

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่ไม่สนับสนุน QuantiFERON CMV ในการทำนายการเกิด CMV DNAemia ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ต้องได้รับการบำบัดทดแทนไตด้วยวิธีปลูกถ่ายไต

Lee และคณะ [24] ได้ทำการศึกษาผู้ป่วยกลุ่มนี้จำนวน 124 ราย โดยมี CMV IgG D+/R+ ร้อยละ 100 ได้ให้ยากดภูมิเป็น basiliximab ร้อยละ 85.5 ได้ยา cyclosporin และ tacrolimus ร้อยละ 50 รวมทั้งมีผู้ป่วยบางรายที่มีการปลูกถ่ายข้ามหมู่เลือดร้อยละ 16 ผู้ป่วยที่ต้องทำการ desensitization ของร่างกาย ร้อยละ 35.5 ทำการวัด QuantiFERON CMV และ ELISPOT (pp65- และ IE-1) พบว่า ELISPOT ที่ 1 เดือนสามารถทำนายการเกิด CMV DNAemia โดยนิยามคือการเพิ่มขึ้นของ CMV มากกว่า 3,500 IU/มล. โดยมี CMV DNAemia ร้อยละ 12.9 รายหลังการปลูกถ่ายไตไป 3 เดือน ในขณะที่ QuantiFERON CMV ที่จุดตัด 0.2 IU/มล. ไม่สามารถทำนาย CMV DNAemia ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ โดย AUC = 0.552 (95% CI 0.444-0.565, p = 0.601)

Thompson และคณะ [25] ได้ทำการศึกษา QuantiFERON CMV ในการบอก CMI ของผู้ป่วยหลังการป้องกันการติดเชื้อ CMV แบบ prophylaxis หรือ preemptive ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะจำนวน 54 ราย เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตจำนวนครึ่งหนึ่ง มี CMV IgG R+ ร้อยละ 80 โดยดู QuantiFERON CMV หลังการป้องกันการติดเชื้อทันที และ 2 เดือนหลังจากการป้องกันการติดเชื้อ พบว่าผู้ป่วยร้อยละ 67 ในกลุ่มที่ปลูกถ่ายไตให้ผลบวกของ QuantiFERON CMV โดยผู้ป่วยทั้งหมดมีการเกิด CMV DNAemia ร้อยละ 27 หลังการป้องกันการติดเชื้อ ระยะเวลาหลังการป้องกันจนถึงเกิด CMV DNAemia เป็น 67 วัน ค่า CMV DNAemia เฉลี่ยที่ 342 copies/มล. ผู้ป่วยกลุ่มที่ QuantiFERON CMV ให้ผลบวกมี 18 รายจาก 25 คิดเป็นร้อยละ 72 มีปริมาณ CMV DNA เฉลี่ย 183

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

copies/มล. และไม่มีผู้ป่วยที่เป็นกลุ่มโรค CMV เลย ในขณะที่กลุ่มที่ผลลบ มีจำนวน 9 ใน 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 47 มีปริมาณ CMV DNA 5,316 copies/มล. และมี โรคCMV เกิดขึ้น 2 ราย ผลสรุปว่าผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่อ CMV เป็นลบ โดยวิธี QuauntiFERON CMV จะมีปริมาณ CMV DNAemia มากกว่า และ ตรวจพบ CMV เร็วกว่ากลุ่มที่ได้ผลบวก อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราส่วนการพบ CMV reactivation สูงกว่าในกลุ่ม QuantiFERON CMV ให้ผลบวก

การศึกษาการใช้ QuantiFERON CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายหัวใจ[26] เก็บข้อมูลเฉพาะกลุ่มที่เป็นผู้ป่วยที่ทำการเฝ้าระวังการเกิด CMV reactivation แบบ preemptive ทั้งหมด 27 คน พบมีอัตราการเกิด CMV reactivation ร้อยละ 60 (17 คน) พบว่ายังไม่พบความแตกต่างของการเกิด CMV reactivation ของกลุ่มที่ผลของ QuantiFERON CMV เป็น indeterminate หรือ negative หรือ positive

Ruan และคณะ[27] ทำการศึกษาแบบ systematic review and meta-analysis ในปี พ.ศ. 2562 เพื่อตอบคำถามเกี่ยวกับ ประสิทธิภาพของ QuantiFERON CMV และ ELISPOT ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังที่ได้รับการปลูกถ่ายไตพบว่ามี 11 บทความที่ได้รับเลือกเข้ามาศึกษามีผู้ป่วยรวม 1406 ราย เป็นการศึกษาเกี่ยวกับ QuantiFERON เพียง 5 บทความ โดยมีการตรวจเลือดที่ ก่อนปลูกถ่ายไต หลังปลูกถ่ายไต 1, 3 และ 6 เดือน พบว่ามีเพียง ELISPOT เท่านั้นที่มีผลรวมของความไว ความจำเพาะ และ ค่าแต้มต่อในการเกิดการติดเชื้อ CMV (odds ratio) ร้อยละ 73, ร้อยละ 61 และ 4.46 (95% CI, 3.11-6.39) ตามลำดับ ในขณะที่ QuantiFERON ให้ผลร้อยละ 38, ร้อยละ 38 และ 1.02 (95% CI, 0.17-6.00). โดยผู้เขียนสรุปว่า ELISPOT สำหรับ CMV สามารถช่วยวินิจฉัย และทำนายการเกิดการติดเชื้อ CMV แต่ QuantiFERON CMV ยังต้องทำการศึกษาต่อไป เนื่องจากจำนวนการศึกษายังน้อย และ ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจ QuantiFERON CMV แตกต่างกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.4 การศึกษาของการนำ QuantiFERON CMV มาใช้ในประเทศไทย

การศึกษาที่ รพ.รามาธิบดี [28] ช่วงปี 2017-2010 ในผู้ป่วย active SLE พบว่า QuantiFERON-CMV ที่ 1 เดือนหลังจากได้รับ intense immunosuppressive therapy หากผลเป็น non-reactive สามารถคาดคะเนการเกิด significant CMV infection (CMV DNA loads มากว่า 3 log10 IU/mL) โดยคิดเป็นร้อยละ 44.4 vs 11.8; p = 0.03; adjusted hazard ratio, 4.97; 95% CI, 1.07–23.10; p = 0.04

การศึกษาที่ รพ.ศิริราช[29] ช่วงปี 2017-2019 พบว่าการเกิด CMV viremia (CMV viral load มากกว่า 200 IU/ml) อยู่ที่ร้อยละ 52.7 โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม pretransplant QuantiFERON CMA reactive และ non-reactive (ร้อยละ 55.3 vs ร้อยละ 47.1;

p = 0.57) รวมถึงไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม 1-month QuantiFERON CMV reactive และ non-reactive (ร้อยละ 51.5 vs ร้อยละ 54.5; p = 0.82) ทั้งนี้ไม่ได้มีการติดตามดู dynamic ของ test และมีการตรวจ monitor CMV viral load ที่ 1, 3 และ 6 เดือนเท่านั้น

โดยปัจจุบันยังมีการศึกษาไม่มากที่จะนำเอาการติดตามภูมิคุ้มกันในเดือนแรกมาใช้บอกความเสี่ยงของการเกิด CMV DNAemia จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้เพื่อมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาประสิทธิภาพของ QuantiFERON CMV เพื่อทำนายการเกิด CMV DNAemia ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ และ สามารถทดแทนการเจาะเลือด CMV DNAemia ช่วงเดือนแรกของการปลูกถ่ายอวัยวะหรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

prospective cohort study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

3.2.1 ประชากร (population) และ ตัวอย่าง (sample)

ก. ประชากรเป้าหมาย (target population)

ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ) ที่มี CMV seropositive ที่ได้รับการป้องกันการติดเชื้อแบบ preemptive ทุกรายที่ได้รับการปลูกถ่ายที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยจะได้รับข้อมูลตั้งแต่ระยะก่อนการปลูกถ่ายโดยทีมผู้วิจัย และต้องได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยก่อน

ข. ประชากรที่ใช้ศึกษา (study population)

ประชากรเป้าหมายทุกคนที่ยินยอมเข้าร่วมโครงการหลังจากได้รับการอธิบายรายละเอียดของโครงการแล้ว ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่สามารถให้คำยินยอมได้ด้วยตนเอง ผู้แทนโดยชอบธรรม จะเป็นผู้พิจารณาในการเข้าร่วมโครงการ

ค. เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าทำการศึกษา (inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยไทย อายุมากกว่า 18 ปี
2. ผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ)
3. ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะที่มี CMV IgG positive

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ง. เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยมีเม็ดเลือดขาวต่ำรุนแรง (white blood count น้อยกว่า 1,500/mm^3)
2. ผู้ป่วยที่มี CMV reactivation และได้รับยาต้านไวรัส gancyclovir 1 เดือนก่อนปลูกถ่ายอวัยวะ
3. ผู้ป่วยปฏิเสธการยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

3.2.2 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size determination)

$$n = \frac{\left[Z_{\frac{\alpha}{2}}\right]^2 SN(1-SN)}{d^2}$$

= $(1.96)^2$ x (0.8) x (0.2) / 0.16^2

= 24.01

n = ขนาดตัวอย่างที่มี CMV viremia (disease: positive)

$Z_{\alpha/2}$ = 1.96 (two tailed study)

SN = 0.80 (Predicted sensitivity)

d = 0.16 (relative error 20% of predicted sensitivity)

จากการศึกษาที่ผ่านมา อุบัติการณ์ของการเกิด CMV ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายท้าย และได้รับการปลูกถ่ายไต ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) ในประเทศไทย อยู่ในช่วงร้อยละ 30-50 [19] และ ให้ค่าความคลาดเคลื่อนของการใช้ QuantiFERON CMV ในการทำนายการเกิด CMV DNAemia ไม่เกินร้อยละ 20 ของ predicted sensitivity

ขนาดตัวอย่างทั้งหมด = N of Disease positive / prevalence

= 24/0.4

= 60

สรุปค่า sample size เท่ากับ 60 คน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1.3.1 การสังเกตและการวัด (observation and measurement)

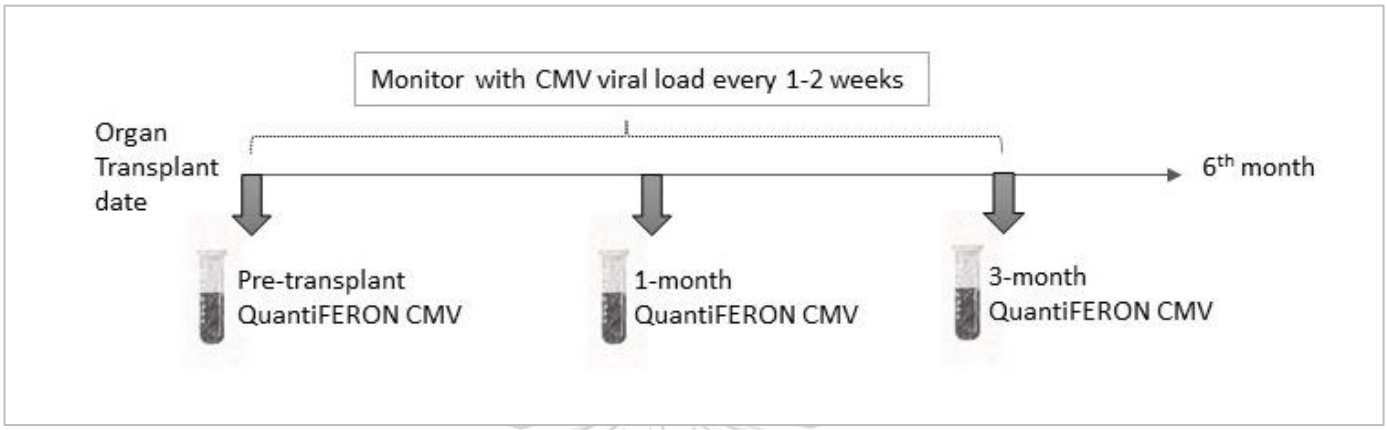
1. ตัวแปลอิสระคือ ผล QuantiFERON CMV (positive or negative)
2. ตัวแปลตาม คือ การตรวจพบ CMV DNAemia
3. ตัวแปลควบคุม คือ การได้ยาต้านไวรัส CMV เพื่อการรักษาหรือป้องกัน หรือยาได้รับกดภูมิอื่นๆ เพิ่มเติมหลังผ่าตัด เช่น หากมีภาวะ graft rejection เป็นต้น
4. เก็บข้อมูลและวัดผลโดยใช้วิธีการตรวจ QuantiFERON CMV, CMV viral load และ แบบบันทึกการเก็บข้อมูล

3.3 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการวิจัย และประโยชน์ที่ผู้ป่วยจะได้รับ รวมถึงผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้น
2. เก็บรวบรวมข้อมูลตามแบบบันทึกข้อมูล (case record form) ดังภาคผนวก ข

3. เก็บตัวอย่างเลือดตรวจ QuantiFERON CMV และ CMV DNAemia ดังรูปที่ 2

รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนงานวิจัยส่วนของการเก็บตัวอย่างเลือดส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ [5]



3.4 การรวบรวมข้อมูล

การรวบรวมข้อมูล (data collection)

ก. ข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย
   1. อายุ, เพศ, ส่วนสูง, สาเหตุของไตวายเรื้อรัง, โรคหัวใจ และ โรคตับ
   2. ความเสี่ยงของภูมิคุ้มกัน เช่น HLA mismatch, panel reactive antibodies
   3. สถานะของ CMV IgG
   4. โรคประจำตัวร่วม ได้แก่ โรคเบาหวาน, โรคความดันโลหิตสูง, โรคตับ, โรคมะเร็ง, และโรคหัวใจ
   5. ยาที่ใช้ในปัจจุบัน
   6. ดัชนีมวลกาย (body mass index)

ข. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
   1. ผู้ป่วยทุกราย จะได้รับการตรวจระดับ CMV DNA ในเลือดทุก 1 สัปดาห์ ตั้งแต่สัปดาห์แรกหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ จนครบ 3 เดือน (ดังรูปที่ 2) ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานการตรวจติดตามหลังการปลูกถ่ายอวัยวะปกติ ตามคำแนะนำของแนวทางเวชปฏิบัตินานาชาติของการรักษาการติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ พ.ศ.2561[5]
   2. ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการตรวจระดับ QuantiFERON CMV และทำการวัดที่ช่วงเวลาก่อนได้ยากดภูมิ, 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ และ 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ดังรูปที่ 2)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC), การวัดปริมาณไนโตรเจนในเลือด (BUN), ค่าครีเอตินีน, เกลือแร่ (electrolyte), แคลเซียม ,ฟอสฟอรัส ,ระดับน้ำตาลในเลือด และระดับค่าการทำงานของตับ (liver function tests) ที่ pretransplant, 1 เดือน และ 6 เดือน

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ตารางนำเสนอข้อมูลทั่วไป และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น แสดงเป็น ร้อยละ หรือ ความถี่ สำหรับข้อมูลเชิงกลุ่ม และแสดงค่า mean (SD) สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่มีการแจกแจงแบบปกติ หรือแสดงค่าเป็น median (IQR) สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่ไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ
2. เปรียบเทียบข้อมูล 2 กลุ่มที่เป็น categorical variables: Chi-square test
3. เปรียบเทียบข้อมูล 2 กลุ่มที่เป็น continuous variables: Mann-Whitney U test
4. หาจุดตัดของค่า QuantiFERON CMV ที่เหมาะสมที่สุดในการคาดการณ์การเกิด CMV reactivation โดยการใช้ ROC curve (receiver operating characteristic curve)
5. การเปรียบเทียบความสามารถ QuantiFERON CMV ในการวินิจฉัย CMV DNAemia ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ที่มีความเสี่ยงการติดเชื้อ CMV ปานกลาง (CMV IgG R+) โดยแสดงค่า AUC (area under the curve) จาก ROC curve
6. การมีนัยสำคัญทางสถิติใช้ค่า p value น้อยกว่า 0.05
7. ใช้โปรแกรม STATA version 15 ในการประมวลผลข้อมูล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

ประชากรที่เข้าร่วมในการศึกษาตามหลักเกณฑ์อายุมากกว่า 18 ปี ที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ) และ มีตรวจทางห้องปฏิบัติการซีโรโลยี CMV IgG ให้ผลบวก ตั้งแต่ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ.2565 รวบรวมประชากรได้จำนวนทั้งสิ้น 41 คน เป็นเพศชาย 25 คน คิดเป็นร้อยละ 60.98 และ เพศหญิง 16 คน คิดเป็นร้อยละ 39.02 มีค่าเฉลี่ยอายุที่ 43.39 ปี (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 10.51) โดยอายุต่ำสุด 22 ปี และ อายุมากที่สุด 70 ปี ค่าดัชนีมวลกาย (BMI) เท่ากับ 22.13 กิโลกรัม/เมตร^2 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 4.46)

โรคประจำตัวของประชากรในการศึกษา ได้แก่ ความดันโลหิตสูง 32 คน คิดเป็นร้อยละ 78.05, ไขมันในโลหิตสูง 11 คน คิดเป็นร้อยละ 26.83, โรคเบาหวาน 9 คน คิดเป็นร้อยละ 21.95 และโรคหัวใจ 6 คน คิดเป็นร้อยละ 26.83 ประชากรในการศึกษาทุกคนได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะชนิดไต โดยสาเหตุของโรคไตวายเรื้อรังมาจากไตอักเสบเรื้อรัง (chronic glomerulonephritis) จำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 43.90, โรคไตเป็นถุงน้ำชนิด autosomal dominant (ADPKD) จำนวน 8 คน คิดเป็นร้อยละ 19.51, โรคเบาหวาน (diabetic nephropathy) จำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 17.07 และ IgA nephropathy 7 คน คิดเป็นร้อยละ 17.07

สำหรับยากดภูมิคุ้มกันแบ่งเป็นช่วง induction และ maintenance phase ประชากรในการศึกษาได้รับ regimen for induction เป็น basiliximab คู่กับ methylprednisolone ทั้งหมด 34 คน คิดเป็นร้อยละ 82.93, rituximab 5 คน คิดเป็นร้อยละ 12.19 และ anti-thymocyte globulin 2 คน คิดเป็นร้อยละ 4.88 นอกจากนี้ ประชากรในการศึกษาทุกคนได้รับ regimen for maintenance เป็น tacrolimus, Mycophenolate mofetil และ prednisolone เป็นสูตรรวม

สำหรับชนิดของผู้บริจาคอวัยวะ (donor) พบว่าเป็นชนิด LRKT (living-related kidney transplantation) 24 คน คิดเป็นร้อยละ 58.54 และ CDKT (cadaveric donor kidney transplantation) 17 คน คิดเป็นร้อยละ 41.46 โดยอายุเฉลี่ยของ donor เท่ากับ 41.43 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 8.85) และเป็นเพศชาย 22 คน คิดเป็นร้อยละ 53.66

จากข้อมูลความเข้ากันได้ของ donor-recipients พิจารณาจาก HLA mismatch number พบค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.93 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.71) โดยค่า HLA mismatch number สูงสุดเท่ากับ 6 และ ต่ำสุดเท่ากับ 0 พิจารณาจากจำนวนประชาการที่เข้าร่วมในการศึกษาที่มี ABO

incompatible พบทั้งสิ้น 4 คน คิดเป็นร้อยละ 9.76 ทั้งนี้มีประชากรที่เข้าร่วมในการศึกษาที่ได้ทำ desensitization ทั้งหมด 6 คน คิดเป็นร้อยละ 14.63

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่ศึกษา แยกตามกลุ่มมีและไม่มี CMV DNAemia

ข้อมูลทั่วไป	Total (n=41)	CMV DNAemia (n=25, 61.0%)	Non-CMV DNAemia (n=16, 39.0%)	*P*-value
age at transplantation, mean (±SD), y	43.39 (10.51)	45.76 (10.92)	39.69 (8.93)	0.07[a]
male, no. (%)	25 (60.98)	15 (60.00)	9 (56.25)	0.62 [b]
BMI, mean (±SD), Kg/m^2	22.13 (4.46)	21.88 (4.43)	22.52 (4.61)	0.65 [a]
underlying disease, no. (%)				
- Diabetes	9 (21.95)	7 (28)	2 (12.5)	0.24 [b]
- Hypertension	32 (78.05)	18 (72)	14 (87.5)	0.24 [b]
- Cardiac disease	6 (14.63)	3 (12)	3 (18.75)	0.55 [b]
- Dyslipidemia	11 (26.83)	7 (28)	4 (25)	0.83 [b]
- Others	14 (34.15)	9 (36)	5 (31.25)	0.75 [b]
Primary renal disease, no. (%)				
- DN	7 (17.07)	4 (16)	3 (18.75)	0.82 [b]
- Hypertension	1 (2.44)	1 (4)	0	0.42 [b]
- IgA nephropathy	7 (17.07)	3 (12)	4 (25)	0.28 [b]
- CGN/unknown	18 (43.90)	12 (48)	6 (37.5)	0.51 [b]
- Others	8 (19.51)	5 (20)	3 (18.75)	0.92 [b]
Induction, No. (%)				
- ATG	2 (4.88)	1 (4)	1 (6.25)	0.74 [b]
- Basiliximab	34 (82.93)	21 (84)	13 (81.25)	0.82 [b]
- Rituximab	5 (12.19)	3 (12)	2 (12.5)	0.96 [b]
- Methylprednisolone	34 (82.93)	21 (84)	13 (81.25)	0.82 [b]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อมูลทั่วไป	Total (n=41)	CMV DNAemia (n=25, 61.0%)	Non-CMV DNAemia (n=16, 39.0%)	*P*-value
Maintenances, no. (%)				
- tacrolimus, prednisolone and MMF	41 (100)	25 (100)	16 (100)	-
CMV IgG, No. (%)	41 (100)	25 (100)	16 (100)	-
donor type, no. (%)				
- CDKT	17 (41.46)	14 (56)	3 (18.75)	0.02 [b]
- LRKT	24 (58.54)	11 (44)	13 (81.25)	0.02 [b]
donor age, mean (±SD), y	41.439 (8.849)	39.08 (9.032)	45.13 (8.849)	0.03 [a]
donor gender (male), no. (%)	22 (53.66)	15 (60)	7 (43.75)	0.31 [b]
HLA mismatch number, mean(±SD)	2.93 (1.709)	2.80 (1.581)	3.13 (1.928)	0.56 [a]
ABO incompatible, n (%)	4 (9.76)	3 (12)	1 (6.25)	0.55 [b]
desensitization, no. (%)	6 (14.63)	4 (16)	2 (12.5)	0.76 [b]

[a] T-test, [b] Chi-square test, SD = Standard deviation

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2 ข้อมูลทั่วไปของอุบัติการณ์ CMV DNAemia ในกลุ่มประชากรที่ศึกษา

จากประชากรในการศึกษาทั้งหมด 41 คน ที่รับการติดตามในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายอวัยวะด้วยวิธีการตรวจระดับ CMV ในเลือดทุก 1-2 สัปดาห์ พบมีคนที่มีภาวะ CMV DNAemia อย่างมีนัยสำคัญ (โดยนิยามเชิงปฏิบัติการกำหนดของงานวิจัยนี้ กำหนดระดับไวรัส CMV ตั้งแต่ 250 IU/mLเป็นต้นไป) จำนวนทั้งสิ้น 25 คน คิดเป็นร้อยละ 61 โดยทั้งหมดไม่พบภาวะ CMV syndrome และ tissue-invasive CMV พิจารณาค่ากลางระดับ CMV ในเลือดของกลุ่ม CMV DNAemia คือ 4,786 IU/mL (IQR 6,434 IU/mL) และ ค่ากลางระยะเวลาก่อนวินิจฉัย CMV DNAemia อยู่ที่ 42 วัน (IQR 28 วัน)

นอกจากนี้ มีจำนวนประชากรในการศึกษาที่มีระดับ CMV ในเลือดมากกว่าค่าปกติในทุกระดับ (CMV viral load > 31 IU/mL) เป็นจำนวน 34 คน คิดเป็นร้อยละ 82.93 และมีผู้ป่วยที่ได้รับการรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส CMV เป็นจำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 36.58 โดยค่ากลางระดับ

CMV ในเลือด ที่ได้เริ่มรับการรักษา อยู่ที่ 7,347 IU/mL (IQR 16,911 IU/mL) โดยมีค่าสูงสุดที่ 44806.32 IU/mL ค่าต่ำสุดที่ 2,7836.24 IU/mL และ ค่ากลางระยะเวลาเฉลี่ยก่อนการเริ่มรักษา เท่ากับ 56 วัน (IQR 27 วัน)

เมื่อแบ่งกลุ่มเป็นกลุ่ม CMV DNAemia และ Non-CMV DNAemia โดยใช้จุดตัด CMV VL ที่ 250 IU/mL ตามที่กล่าวมาข้างต้น ตามตารางที่ 3 แสดงคุณลักษณะของประชากรในการศึกษา ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอายุ, เพศ, ดัชนีมวลกายเฉลี่ย, โรคประจำตัว และ ชนิดของยากดภูมิคุ้มกัน, HLA mismatch และABO incompatible อย่างไรก็ตามพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ พบการปลูกถ่ายไต ชนิด CDKT ในกลุ่ม CMV DNAemia มากกว่ากลุ่ม non-CMV DNAemia (ร้อยละ 56 และ ร้อยละ 18.75 ตามลำดับ, p= 0.02) และ พบ LRKT ในกลุ่ม non-CMVemia มากกว่า (ร้อยละ 81.25 และ ร้อยละ 44 ตามลำดับ, P=0.02)

จากข้อมูลการติดตามอุบัติการณ์ CMV DNAemia ในช่วง 6 เดือนตามหลังการตรวจ 3 - month QuantiFERON CMV พบมีคนที่มีภาวะ CMV DNAemia อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งหมด 5 คน คิดเป็นร้อยละ 12.20, CMV viral load > 31 IU/m เป็นจำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 43.90 และมีผู้ป่วยที่ได้รับการรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส CMV เป็นจำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 4.87

4.3 ข้อมูลคุณลักษณะทางห้องปฏิบัติการของ QuantiFERON CMV

ประชากรในการศึกษาได้รับการตรวจ QuantiFERON CMV ครบรายละ 3 ครั้ง ตามช่วงเวลา ได้แก่ ก่อนการปลูกถ่ายอวัยวะ, หลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 1 เดือน และ หลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 3 เดือน โดยกลุ่มประชากรทั้งหมด 41 คน ได้รับการตรวจ QuantiFERON CMV ครบทั้ง 3 ครั้ง โดยพบว่า pretransplant QuantiFERON CMV พบผล reactive 25 คน คิดเป็นร้อยละ 61, ผล non-reactive 16 คน คิดเป็นร้อยละ 39 และไม่พบผล Indeterminate ดังตารางที่ 5

กลุ่มประชากรในการศึกษาได้รับการตรวจ 1-month QuantiFERON CMV โดยพบผล reactive 23 คน คิดเป็นร้อยละ 56.10, ผล non-reactive 17 คน คิดเป็นร้อยละ 39 และ พบผล indeterminate 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.44

กลุ่มประชากรในการศึกษาได้รับการตรวจ 3-month QuantiFERON CMV โดยพบผล reactive 24 คน คิดเป็นร้อยละ 58.50, ผล non-reactive 16 คน คิดเป็นร้อยละ 39 และ พบผล indeterminate 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.44

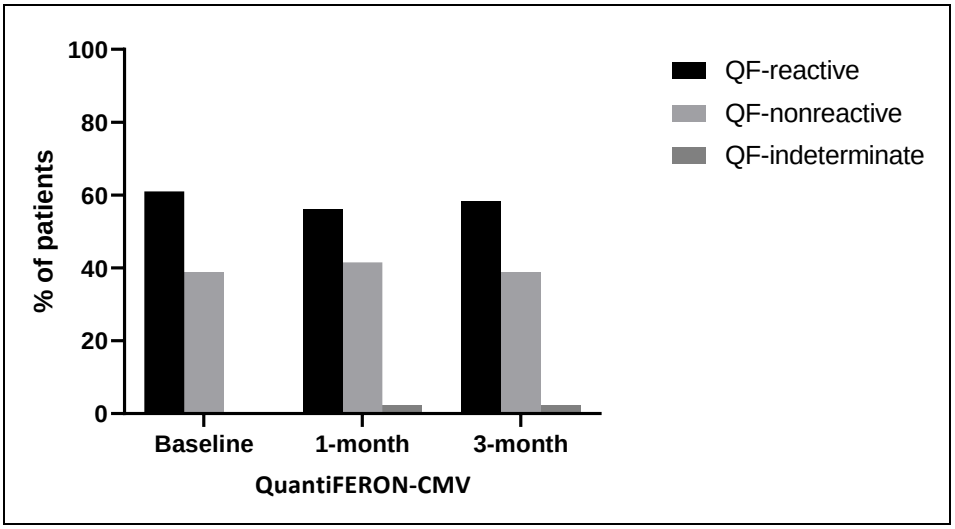
ตารางที่ 5 แสดงผลการตรวจ QuantiFERON CMV แยกตามกลุ่มมี และ ไม่มี CMV DNAemia

ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ	Total (n=41)	CMV DNAemia (n=25, 61.0%)	Non-CMV DNAemia (n=16, 39.0%)	*P*-value
pretransplant QF CMV no. (%)				
- reactive	25 (61.0)	14 (56)	11 (68.75)	0.41 [a]
- non-reactive	16 (39)	11 (44)	5 (31.25)	0.41 [a]
1-month QF CMV, no. (%)				
- reactive	23 (56.10)	13 (52)	10 (62.5)	0.51 [a]
- non-reactive	17 (41.46)	11 (44)	6 (37.5)	0.68 [a]
- indeterminate	1 (2.44)	1 (4)	0	
ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ	Total (n=41)	CMV DNAemia (n=5, 12.20%)	Non-CMV DNAemia (n=36, 87.80%)	*P*-value
3-month QF CMV, no. (%)				
- reactivate	24 (58.5)	3 (60)	21 (58.33)	0.94 [a]
- non-reactive	16 (39)	1 (20)	15 (41.67)	0.35 [a]
- indeterminate	1 (2.44)	1 (20)	0	-

[a] Chi-square test, QF = QuantiFERON CMV test

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงอัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงของผล QuantiFERON CMV ทั้ง 3 จุดเวลา



4.4 สมรรถนะของ QuantiFERON CMV test ในการวินิจฉัย CMV DNAemia

ผู้วิจัยได้แบ่งกลุ่มผล QuantiFERON CMV เพื่อวัดสมรรถนะในการวินิจฉัยของการทดสอบ (test performance) โดยหากผล QuantiFERON CMV reactive จะเข้ากลุ่มผลบวก (positive) และ QuantiFERON CMV non-reactive และ indeterminate จะเข้ากลุ่มผลลบ (negative) ซึ่งผล negative ในวิธีตรวจนี้ จะคาดการณ์การเกิดโรค (significant CMV DNAemia ซึ่งจะใช้จุด cut-off ที่มากกว่า 250 IU/mL ตามคำถามหลักของงานวิจัย)

1. <u>ข้อมูลการตรวจ QuantiFERON CMV หลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 1 เดือน (1-month QF CMV)</u>

ตามตารางที่ 6 สมรรถนะของการใช้ QuantiFERON CMV ในการคาดการณ์การเกิด Significant CMV DNAemia เมื่อตรวจพบ negative QuantiFERON CMV (sensitivity) เท่ากับร้อยละ 48 และความสามารถในการคาดการณ์การไม่เกิด significant CMV DNAemia เมื่อตรวจพบ Positive QuantiFERON CMV (specificity) เท่ากับร้อยละ 62.5 นอกจากนี้ คำนวณค่า PPV และ NPV เท่ากับร้อยละ 66.7 และ 43.5 ตามลำดับ

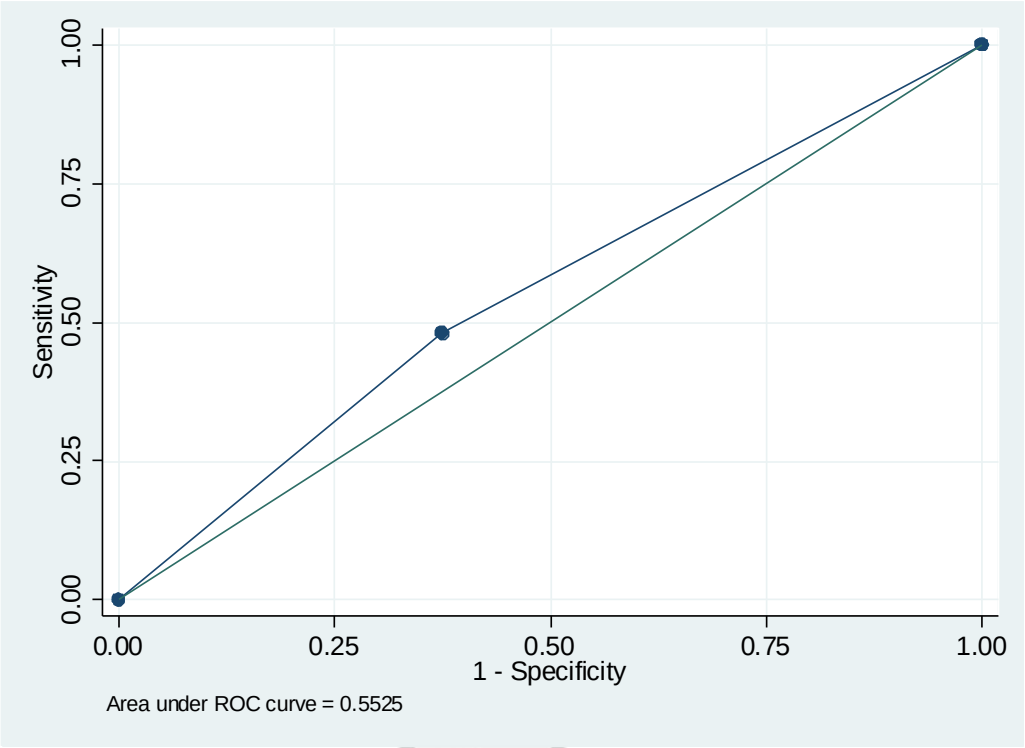
ตารางที่ 6 แสดงการคำนวน (2x2 table) และสมรรถนะของ 1-month QuantiFERON CMVในการคาดคะเน significant CMV DNAemia

test	disease	no disease	total
negative (non-reactive, indeterminate)	12	6	18
positive (reactive)	13	10	23
total	25	16	41

	value	95% confidence interval
prevalence	61%	45-75.8
sensitivity	48%	27.8-68.7
specificity	62.5%	35.4-84.8
likelihood ratio (+)	1.28	0.60-2.72
likelihood ratio (-)	0.832	0.49-1.42
odd ratio	1.54	0.50-5.37
PPV	66.7%	41-86.7
NPV	43.5%	23.2-65.5
ROC	0.55	0.39-0.71
Kappa	0.09	-0.18-0.38

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4 เส้นกราฟ ROC และพื้นที่ใต้โค้ง ROC (1-month QuantiFERON CMV)



จากตารางที่ 8 และแผนภูมิที่ 6 เปรียบเทียบกับอุบัติการณ์ของ significant CMV DNAemia ระหว่างกลุ่ม positive QuantiFERON CMV และ กลุ่ม negative QuantiFERON CMV พบอุบัติการณ์เท่ากับร้อยละ 52.0 และ ร้อยละ 48.0 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.51)

เมื่อพิจารณาอุบัติการณ์ที่จุดตัดของระดับ CMV ในเลือดที่ระดับต่างๆ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม positive QuantiFERON CMV และ กลุ่ม negative QuantiFERON CMV โดยพบการเกิด CMV DNAemia (CMV viral load > 30 IU/mL) อยู่ที่ร้อยละ 58.82 และ 41.18, p=0.44 ตามลำดับ, พบ CMV DNAemia > 1,000 IU/mL อยู่ที่ร้อยละ 52.17 และ 47.83, p= 0.57 ตามลำดับ และ การเกิด CMV DNAemia ที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส อยู่ที่ร้อยละ 60 และ 40, p=0.70 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบค่า sensitivity และ specificity อยู่ที่ระดับต่ำใกล้เคียงกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. ข้อมูลการตรวจ QuantiFERON CMV หลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 3 เดือน (3-month QF CMV)

ทางผู้วิจัยได้เก็บข้อมูลติดตามอุบัติการณ์การเกิด significant CMV DNAemia หลังการปลูกถ่ายอวัยวะไป 6 เดือน เพื่อวัดความสามารถในการวินิจฉัยของ 3-month QuantiFERON CMF test ได้ข้อมูลพบว่าอุบัติการณ์การเกิด significant CMV DNAemia ลดลงอยู่ที่ 5 คน คิดเป็นร้อยละ 12.20

สมรรถนะในการคาดการณ์การเกิด significant CMV DNAemia ตามตารางที่ 7 เมื่อตรวจพบ negative QuantiFERON CMV (sensitivity) เท่ากับร้อยละ 40.0 และ ความสามารถในการคาดการณ์การไม่เกิด Significant CMV DNAemia เมื่อตรวจพบ positive QuantiFERON CMV (specificity) เท่ากับร้อยละ 58.3 นอกจากนี้ คำนวณค่า PPV และ NPVเท่ากับร้อยละ11.8 และ 87.5 ตามลำดับ

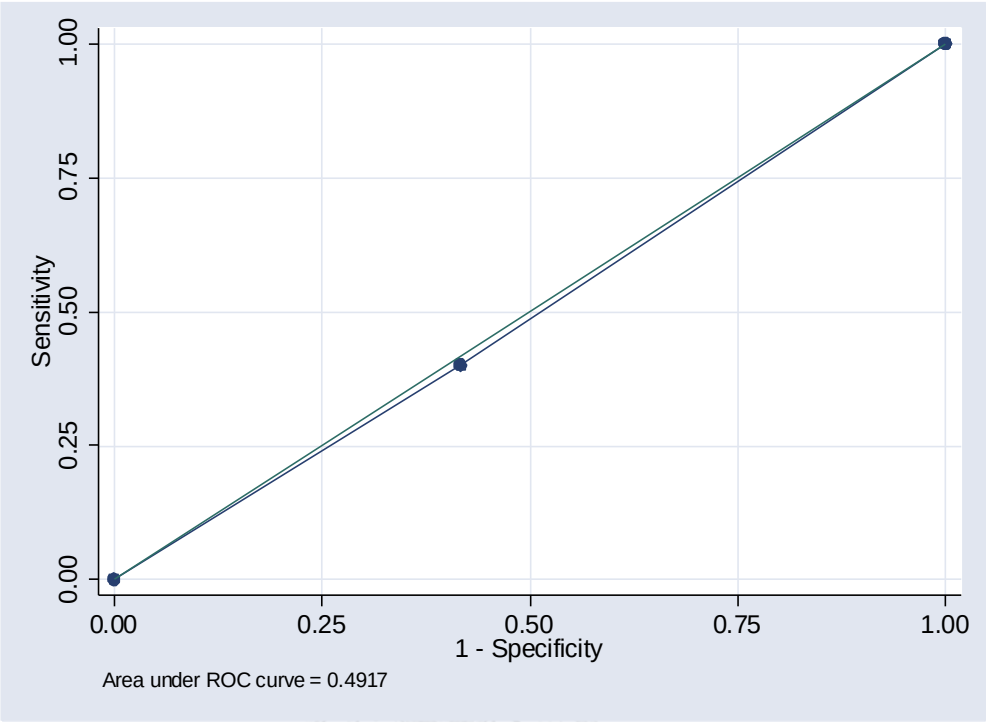
ตาราง 7 แสดงการคำนวน (2x2 table) และสมรรถนะของ 3-month QuantiFERON CMV ในการคาดคะเน significant CMV DNAemia

test	disease	no disease	total
negative (non-reactive, indeterminate)	2	15	17
positive (reactive)	3	21	24
total	5	36	41

	value	95% confidence interval
prevalence	12.2	4.1-26.2
sensitivity	40	5.3-85.3
specificity	58.3	40.8-74.5
likelihood ratio (+)	0.96	0.31-3.00
likelihood ratio (-)	1.03	0.48-2.21
odd ratio	0.93	0.17-5.37
PPV	11.8	1.5-36.4
NPV	87.5	67.6-97.3
ROC	0.49	0.24-0.75
Kappa	-0.008	-0.23-0.22

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 5 เส้นกราฟ ROC และพื้นที่ใต้โค้ง ROC (**3-month QuantiFERON CMV**)

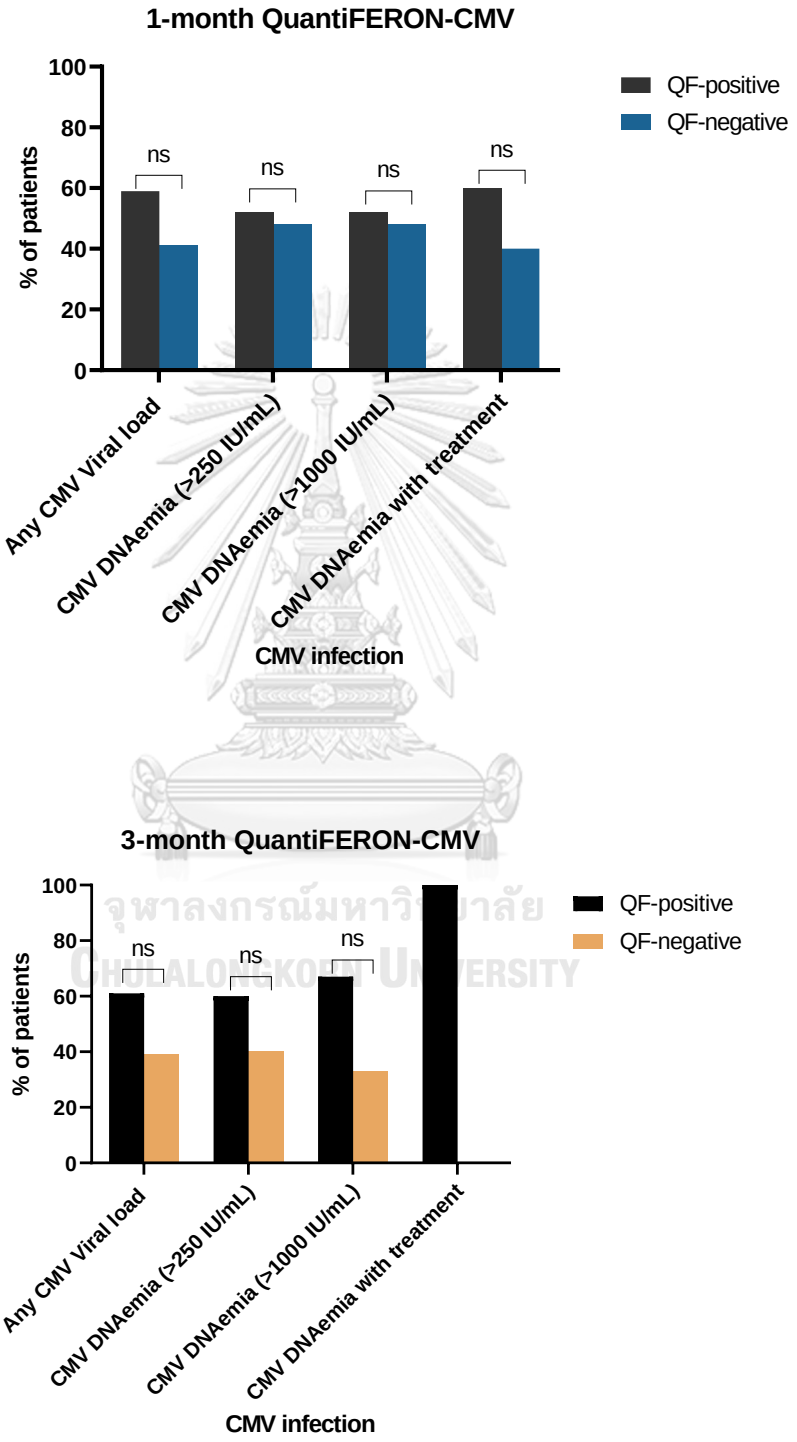


จากตารางที่ 9 และ แผนภูมิที่ 6 เปรียบเทียบกับอุบัติการณ์ของ significant CMV DNAemia ระหว่างกลุ่ม positive QuantiFERON CMV และ กลุ่ม negative QuantiFERON CMV พบอุบัติการณ์เท่ากับร้อยละ 60.0 และ ร้อยละ 40.0 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ค่า p-value 0.943

เมื่อพิจารณาอุบัติการณ์ที่จุดตัดของระดับ CMV ในเลือดที่ระดับต่างๆ พบอุบัติการณ์ของการเกิด CMV DNAemia (CMV viral load > 30 IU/mL) , CMV DNAemia > 1,000 IU/mL และ CMV DNAemiaที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส อยู่ที่ร้อยละ 43.90, 7.31 และ 4.87 ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม Positive QuantiFERON CMV และ กลุ่ม Negative QuantiFERON CMV โดยพบการเกิด CMV DNAemia (CMV viral load > 30 IU/mL) อยู่ที่ร้อยละ 61.11 และ38.89, p=0.767 ตามลำดับ, พบ CMV DNAemia > 1,000 IU/mL อยู่ที่ร้อยละ66.67 และ 33.33, p= 0.767 ตามลำดับ และ การเกิด CMV DNAemia ที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส อยู่ที่ร้อยละ 100 และ 0, p=0.222 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบค่าsensitivity และ specificity อยู่ที่ระดับต่ำใกล้เคียงกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 6 แสดงแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุบัติการณ์การเกิด CMV DNAemia ระหว่างกลุ่ม QF CMV positive และ QF CMV negative



ตารางที่ 8 แสดงสมรรถนะในการวินิจฉัย CMV DNAemia ของ 1-month QuantiFERON CMV

outcome	CMV-Specific T-cell Immunity, No. (%)		test performance of 1-month QuantiFERON CMV					
	QF CMV positive	QF CMV negative	sensitivity	specificity	PPV	NPV	AUC	Kappa
any CMV Viral load (CMV DNA loads > 31 IU/mL) N=34/41 (82.93%)	20 (58.82)	14 (41.18) P=0.44 [a]	41.2 (24.6-59.3)	42.9 (9.9-81.6)	77.8 (52-93.6)	13.0 (2.8-33.6)	0.42 (0.21-0.64)	-0.08 (-0.3-0.13)
CMV DNAemia (CMV DNA loads > 250 IU/mL) N= 25/41 (60.98%)	13 (52)	12 (48) P=0.51 [a]	48.0 (27.8- 68.7)	62.5 (35.4-84.8)	66.7 (41-86.7)	43.5 (23.2-65.5)	0.55 (0.39-0.71)	0.09 (-0.18-0.38)
CMV DNA loads >1000 IU/mL N= 23/41 (56.09%)	12 (52.17)	11 (47.83) P=0.57 [a]	47.8 (26.8-69.4)	61.1 (35.7-82.7)	61.1 (35.7-82.7)	47.8 (26.8-69.4)	0.54 (0.39-0.70)	0.08 (-0.20-0.38)
CMV DNAemia with treatment N= 15/41 (36.58%)	9 (60)	6 (40) P=0.70 [a]	40.0 (16.3-67.7)	53.8 (33.4-73.4)	33.3 (13.3-59.0)	60.9 (38.5-80.3)	0.47 (0.31-0.63)	-0.05 (-0.36-0.24)

[a] Chi-square test, PPV=positive predictive value, NPV= negative predictive value, AUC= area under the curve, QF= QuantiFERON CMV test

ตารางที่ 9 แสดงสมรรถนะในการวินิจฉัย CMV DNAemia ของ 3-months QuantiFERON CMV

outcome	CMV-Specific T-cell Immunity, No. (%)		test performance of 3-months QuantiFERON CMV					
	QF CMV positive	QF CMV negative	sensitivity	specificity	PPV	NPV	AUC	Kappa
any CMV Viral load (CMV DNA loads > 31 IU/mL) N= 18/41 (43.90%)	11 (61.11)	7 (38.89) P=0.77 [a]	38.9% (17.3-64.3)	56.5% (34.5-76.8)	41.2% (18.4-67.1)	54.2% (32.8 74.4)	0.48 (0.32-0.63)	-0.05 (-0.35-0.26)
CMV DNAemia (CMV DNA loads > 250 IU/mL) N= 5/41 (12.20%)	3 (60)	2 (40) P=0.94 [a]	40.0% (5.3-85.3)	58.3% (40.8-74.5)	11.8% (1.5-36.4)	87.5% (67.6-97.3)	0.49 (0.24-0.75)	-0.01 (-0.23-0.22)
CMV DNA loads >1000 IU/mL N= 3/41 (7.31%)	2 (66.67)	1 (33.33) P=0.77 [a]	33.3% (0.8-90.6)	57.9% (40.8-73.7)	5.9% (0.1-28.7)	91.7% (73.0-99.0)	0.46 (0.12-0.79)	-0.03 (-0.21-0.15)
CMV DNAemia with treatment N= 2/41 (4.87%)	2 (100)	0 P=0.22 [a]	0 (0.0-84.2)	56.4% (39.6 72.2)	0 (0-19.5)	91.7% (73.0-99.0)	0.28 (0.20-0.36)	-0.09 (-0.22-0.03)

[a] Chi-square test, PPV=positive predictive value, NPV= negative predictive value, AUC= area under the curve, QF= QuantiFERON CMV test

4.5 การเปรียบเทียบอัตราการรอด (Survival analysis) โดยใช้ Kaplan-Meier analysis

ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ CMV DNAemia-free survival ระหว่างกลุ่ม 1-month QuantiFERON CMV positive และ negative (p=0.015 ด้วย log-rank test และ 95% CI 0.93-5.18)

4.6 การเปลี่ยนแปลงของ QuantiFERON CMV (dynamics of QuantiFERON CMV test)

ก. พิจารณาการเปลี่ยนแปลงของ QuantiFERON CMV ที่ Pretransplant และ 1-month QuantiFERON CMV มีดังต่อไปนี้

1. positive result ของ pretransplant QF CMV

มีผู้ป่วยจำนวน 2 คนที่ 1-month QuantiFERON CMV เปลี่ยนเป็น negative result โดยทั้ง 2 รายพบ significant CMV DNAemia

2. negative result ของ pretransplant QF CMV

ในกลุ่มนี้ไม่พบประชากรที่ทำการศึกษามีการเปลี่ยนแปลง

ข. พิจารณาการเปลี่ยนแปลงของ QuantiFERON CMV ที่ 1-month QuantiFERON CMV และ 3-month QuantiFERON CMV มีดังต่อไปนี้

1. positive result ของ 1-month QuantiFERON CMV

มีผู้ป่วยจำนวน 2 คนที่ 3-month QuantiFERON CMV เปลี่ยนเป็น negative result โดยทั้ง 2 รายไม่พบ significant CMV DNAemia

2. negative result ของ 1-month QuantiFERON CMV

มีผู้ป่วยจำนวน 1 คนที่ 3-month QuantiFERON CMV เปลี่ยนเป็น positive result โดยทั้ง 2 รายไม่พบ significant CMV DNAemia

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.7 ภาวะแทรกซ้อน

ผู้วิจัยติดตามภาวะแทรกซ้อนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะนาน 6 เดือน โดยมีค่า median follow up อยู่ที่ 5.4 เดือน โดยไม่พบการเสียชีวิต และการสูญเสียอวัยวะที่ปลูกถ่าย (graft loss)

หากพิจารณาจากการติดเชื้อ CMV ที่สัมพันธ์กับการเกิดภาวะ acute rejection พบว่ามีแนวโน้มเกิดในผู้ป่วยที่มีภาวะ CMV DNAemia มากกว่า โดยพบ 3 คน คิดเป็นร้อยละ 7.3 การติดเชื้อแทรกซ้อน 12 คน คิดเป็นร้อยละ 29.3 และ การเกิดเบาหวานหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 12 คน คิดเป็นร้อยละ 29.3 อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของภาวะแทรกซ้อนระหว่างกลุ่มที่มี และ ไม่มี Significant CMV DNAemia ตามตารางที่ 11

ตารางที่ 10 แสดงภาวะแทรกซ้อนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ 6 เดือน

ภาวะแทรกซ้อน	Total (41)	CMV DNAemia (n=25, 61.0%)	No CMV DNAemia (n=16, 39.0%)	p-value
Acute rejection	3 (7.3%)	3 (12%)	0	0.15 [a]
Infection	12 (29.3%)	9(36%)	3(18.75)	0.23 [a]
Posttransplant DM	12 (29.3%)	6 (24%)	6(37.5%)	0.35 [a]
Graft loss	0	0	0	
Death	0	0	0	

[a] Chi-square test

ตารางที่ 11 แสดงค่าการทำงานของไตเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มี และ ไม่มีภาวะ CMV DNAemia

GFR	Total (±sd)	CMV DNAemia (±sd)	Non CMV DNAemia (±sd)	p-value
1st month	56.6 (17.9)	52.7 (21.0)	62.7 (9.43)	0.10 [a]
3rd month	58.3 (15.39)	55.7 (18.37)	62.4 (8.19)	0.20 [a]
6th month	57.6 (14.66)	55.2 (16.60)	61.3 (10.51)	0.21 [a]

T-test, GFR: glomerular filtration rate

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

งานวิจัยรูปแบบ prospective cohort study มีประชากรที่เข้าร่วมในการศึกษาตามหลักเกณฑ์อายุมากกว่า 18 ปี ที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ (ไต หัวใจ และ ตับ) และมีตรวจทางห้องปฏิบัติการซีโรโลยี CMV IgG ให้ผลบวก ตั้งแต่ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ.2565 จากผลการวิจัยรวบรวมกลุ่มตัวอย่างได้จำนวนทั้งหมด 41 คน ทั้งหมดได้รับการปลูกถ่ายไต และได้รับการตรวจติดตามระดับไวรัส CMV ในเลือดทุก 1-2 สัปดาห์ ควบคู่กับการตรวจ ยretransplant, 1-month และ 3-month QuantiFERON CMV โดยแพทย์ผู้ตรวจรักษาไม่ทราบผลการตรวจ QuantiFERON CMV ซึ่งอาจจะทำให้เกิดอคติ (bias) ต่อการดูแลรักษาผู้ป่วยได้

จากการประเมินคุณลักษณะของประชากรในการศึกษา ในแง่ตัวกวน (confounder) ที่สำคัญต่อการเกิด CMV DNAemia ได้แก่ภาวะ immunocompromised status ที่ส่งผลมาจากชนิดของยากดภูมิคุ้มกันที่ได้รับในช่วง induction และ maintenance phase, จำนวน HLA mismatch, การมี ABO incompatibility ก่อนการปลูกถ่ายอวัยวะ และ โรคประจำตัว ได้แก่ เบาหวาน ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มมี และ ไม่มี CMV DNAemia อย่างไรก็ตาม พบว่ากลุ่มที่เกิดCMV DNAemia มาจากผู้บริจาคไตชนิด CDKT มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจส่งผลให้ปริมาณของยากกภูมิคุ้มกันมีขนาดมากขึ้น และ ลดการใช้ยาได้ช้าลงในช่วง 3 เดือนแรก จึงมีโอกาสเป็นตัวกวนสำคัญของงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ยังหากพิจารณาผล reactive pretransplant QuantiFERON CMV ซึ่งหมายถึงผู้เข้าร่วมการศึกษาจะมีโอกาสเกิด CMV reactivation ได้มาก ซึ่งพบมีจำนวนร้อยละ 60 อย่างไรก็ตามก็ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มมี และ ไม่มี CMV DNAemia

ในแง่ของอุบัติการณ์ของการเกิด significant CMV DNAemia พบว่าสูงถึงร้อยละ 61 รวมถึงอุบัติกาณ์ของการเกิด CMV DNAemia ที่ระดับไวรัส CMV มากกว่า 1,000 IU/mL สูงถึงร้อยละ 56 แตกต่างจากการศึกษาอื่นๆในกลุ่ม intermediate risk โดยในประเทศ Czech Republic[20] อยู่ที่ร้อยละ 28.6, ประเทศอิตาลี อยู่ที่ร้อยละ 44 [22], ประเทศเกาหลี [23] อยู่ที่ร้อยละ 31, ประเทศออสเตรเลีย อยู่ที่ร้อยละ 50 [25] และ ประเทศไทย อยู่ที่ร้อยละ 10-40[17, 19, 30, 31] การพบอัตราการเกิด CMV DNAemia ที่สูงในงานวิจัยนี้ อาจเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ คำนิยามของระดับ

CMV viral load ไม่เท่ากันในแต่ละการศึกษา และ การใช้ preemptive strategy ในกลุ่ม intermediate risk ที่มากในประเทศไทย

จากการประเมินคุณภาพเครื่องมือ (quality of test) ของ 1-month QuantiFERON CMV ในการคาดคะเนการเกิดโรค (disease) ได้แก่ significant CMV DNAemia ตามคำถามหลักของงานวิจัยนี้ พบว่าเครื่องมือขาดความเที่ยงตรง (validity) เนื่องจากมีค่าความไวและความจำเพาะต่ำ (low sensitivity and specificity), ขาดประสิทธิภาพ (efficacy) เนื่องจากทดสอบพบ low positive and negative predictive value รวมไปถึงขาดความแม่นยำ (reliability) โดยพบค่า Kappa agreement < 0 (No agreement) และ ROC เท่ากับ 0.552

จากการทบทวนวรรณกรรม พบหลายการศึกษาที่แสดงถึง ความสัมพันธ์เชิงผกผันระหว่าง CMV specific cell-mediated immunity เช่น QuantiFERON CMV test กับ ระดับไวรัส CMV ในเลือด ซึ่งพบการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันอย่างมากต่อ CMV antigen อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยนี้พบว่า 1 -month QuantiFERON CMV มีความสามารถในการคาดคะเนการเกิดและไม่เกิด Significant CMV DNAemia อยู่ในระดับต่ำทั้งค่า sensitivity และ specificity ใกล้เคียงกับหลายการศึกษาก่อนหน้านี้โดยการศึกษาของ Lee และ คณะ[24] ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มี CMV IgG D+/R+ พบ 1-month QuantiFERON CMV ที่จุดตัด 0.2 IU/มล. ไม่สามารถทำนาย CMV DNAemia (นิยามคือการเพิ่มขึ้นของระดับ CMV มากกว่า 3,500 IU/มล.) โดยคำนวณ sensitivity ได้ร้อยละ 37.5 และ AUC = 0.552 (95% CI: 0.44-0.57, p = 0.601), การศึกษาของ Ruan และ คณะ[27] เป็นการศึกษา systematic review และ meta-analysis ของ 5 การศึกษาพบ QuantiFERON CMV มี sensitivity และ specificity อยู่ที่ร้อยละ 38 และ 38 ตามลำดับ, การศึกษาในประเทศไทยของ Kritsada และคณะ [Abstract][29] ที่โรงพยาบาลศิริราช ในช่วงปี 2017-2019 ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต จำนวน 55 ราย พบมี CMV DNAemia ร้อยละ 52.7 (นิยามคือระดับ CMV มากกว่า 200 IU/มล.) โดยไม่พบความแตกต่างของอุบัติการณ์ CMV DNAemia ระหว่างกลุ่ม reactive และ non-reactive ของการตรวจ 1-month QuantiFERON CMV ที่จุดตัด 0.2 IU/มล. (ร้อยละ 51.5 และ 54.5; p = 0.83)

สมมุติฐานที่อธิบายเนื่องจาก cytokine IFN-γ ที่จำเพาะเจาะจงกับ CMV ไม่ใช่ตัวแทนทั้งหมดของระบบภูมิคุ้มกันชนิด cell-mediated immunity ยังอาจมีcytokine ชนิดอื่นๆที่ไม่ได้ตรวจเจาะจง รวมไปถึง ระดับ IFN-γ ถูกรบกวนให้ลดต่ำลงจากยากดภูมิที่ใช้ในการปลูกถ่ายอวัยวะ เช่น tacrolimus, prednisolone เป็นต้น ดังนั้นการนำ 1-month QuantiFERON CMV มาใช้ใน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ช่วงแรกหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ รวมไปถึงขณะมีภาวะ acute rejection จึงอาจไม่มีประโยชน์ในการใช้เพื่อทดแทนการตรวจปฏิบัติการ CMV viral load

ในงานวิจัยนี้นำ 3-month QuantiFERON CMV มาใช้ประโยชน์ ซึ่งผลการวิจัยไม่พบความสัมพันธ์กับการเกิด significant CMV DNAemia และได้ค่า sensitivity ที่ร้อยละ 40 คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Lee และ คณะที่วิจัยประโยชน์ของ 3-month QuantiFERON CMV ในการหาความสัมพันธ์ของ non-reactive QuantiFERON CMV กับการเกิด CMV DNAemia (นิยามคือการเพิ่มขึ้นของ CMV มากกว่า 3,500 IU/มล.) โดยหาอุบัติการณ์ในช่วง 1 ปี หลังเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ ซึ่งได้ค่า sensitivity ที่เพียงร้อยละ 12.5 อย่างไรก็ตามเนื่องจาก ค่า negative predictive value ค่อนข้างสูง (ร้อยละ87.5, 91.7 และ 91.7 ใน CMV DNAemia of VL >250 IU/mL, >1000 IU/mL และ CMV DNAemia with treatment ตามลำดับ) ทำให้พอจะทำนายการไม่เกิดโรคได้สูงในผู้ป่วยที่ QuantiFERON CMV ได้ผล positive ซึ่งอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการพิจารณาเลื่อนการใช้ยาต้านไวรัสในขณะที่ยังวัดระดับไวรัส CMV ไม่เกิน 1,000 IU/mL เนื่องจากมีโอกาสเกิด spontaneous clearance ได้สูง รวมถึงการพิจารณาหยุดยาต้านไวรัสเร็วขึ้นในกรณีที่ได้รับยาต้านไวรัสมาแล้วแต่ยังวัดได้ระดับไวรัส CMV อยู่ (low-level CMV viral load) อย่างไรก็ตามมีข้อควรระวังในการแปลผล Negative predictive value เนื่องจากอุบัติการณ์การเกิด CMV DNAemia ที่ 3 เดือนค่อนข้างต่ำ อาจทำให้ขาดความน่าเชื่อถือในการแปลผล

การศึกษาในงานวิจัยนี้ เป็นงานวิจัยแรกในประเทศไทย ที่มีการตรวจวัดระดับ QuantiFERON CMV ทั้งหมด 3 จุดในการวิเคราะห์การทำนายการเกิด CMV DNAemia เนื่องจากข้อมูลจากงานวิจัยอื่นๆ มีทั้งที่สนับสนุน และ ไม่สนับสนุนการใช้ QuantiFERON CMV test รวมไปถึงข้อมูลจากงานวิจัยอื่นไม่สามารถใช้ในบริบทประเทศไทยได้ เนื่องจากมีข้อจำกัดในการใช้ยาต้านไวรัสที่มีราคาแพงสำหรับกลุ่ม intermediate risk ทำให้อาจพบอุบัติการณ์และระดับ CMV virus สูงสุดแตกต่างจากประเทศอื่นๆ รวมไปถึง การใช้คำนิยามของ CMV DNAemia ที่แตกต่างกันของแต่ละงานวิจัย ทำให้การปรับข้อมูลมาใช้กับประชากรทำได้อย่างมีข้อจำกัด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5.2 ข้อจำกัดของการศึกษา (limitation)

1. ตำแหน่งช่วงเวลาของการตรวจ pretransplant QuantiFERON CMV ที่อาจเป็นค่าที่ตรวจก่อนวันปลูกถ่ายอวัยวะอาจเกิน 1 สัปดาห์ รวมถึงปัญหาการติดตามระดับ CMV viral load ในผู้ป่วยกลุ่มตัวอย่างบางรายที่อาจได้รับการตรวจล่าช้าไปกว่ากำหนด เนื่องจากปัญหา

การแพร่ระบาดของ covid-19 รวมถึง การออกผลทางห้องปฏิบัติการที่ช้า จึงอาจทำให้เกิดการคลาดเคลื่อนได้ อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยคิดว่ามีผลเพียงเล็กน้อยต่อผลการวิจัย

2. งานวิจัยเก็บรวบรวมประชากรที่เข้าร่วมในการศึกษาไม่ครบจำนวนตามที่ได้คำนวณ sample sizeไว้ ดังรายละเอียดในบทที่ 3 สาเหตุจากปัญหาการแพร่ระบาดของ covid-19 ทำให้จำนวนผู้ป่วยที่เข้ารับการปลูกถ่ายอวัยวะในช่วงปีพ.ศ.2563-2565 ลดลงอย่างมาก อย่างไรก็ตามเนื่องจากความชุกของ CMV DNAemia ที่ปรากฏในงานวิจัยนี้เท่ากับร้อยละ 60 ซึ่งมากกว่าอัตราความชุกที่ใช้ในการคำนวณกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างมาก ทำให้ผู้วิจัยคิดว่าจำนวนประชากรที่เข้าร่วมในการศึกษามี Power เพียงพอในการแปลผลวิเคราะห์ข้อมูล
3. คำนิยามของภาวะ CMV DNAemia ในแต่ละงานวิจัยใช้ระดับไวรัส CMV ในเลือดไม่ตรงกันในการแยกกลุ่ม CMV DNAemia และ Non-CMV DNAemia ทำให้มีข้อจำกัดในการเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น

5.3 ข้อเสนอและประโยชน์ที่ได้รับ

1. QuantiFERON CMV มีประโยชน์ในการวัดระดับการทำงานของภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ CMV อย่างไรจากการศึกษานี้ พบว่ายังมีข้อจำกัดของการใช้ในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ และ จุดเวลาที่เหมาะสมในการใช้ จากการวิจัยนี้พบว่าไม่ควรใช้ในช่วงก่อน 1 เดือนและควรระมัดระวังในการแปลผล ทางผู้วิจัยแนะนำการเก็บข้อมูลศึกษาเพิ่มเติมหาจุดเวลาที่เหมาะสมในการใช้ QuantiFERON CMV เช่น จุด 2 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ เนื่องจากมีการใช้ยากดภูมิคุ้มกันที่ลดลง รวมถึง ช่วงก่อน 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะพบยังมีอุบัติการณ์ของ CMV DNAemiaในระดับสูง รวมถึงการศึกษาเพิ่มเติมเรื่อง dynamic change ของผล QuantiFERON CMV มาใช้ประโยชน์ในการทำนายการเกิดโรคได้ดีขึ้น
2. การศึกษาไม่พบว่ามีภาวะ significant CMV DNAemia เกิดก่อน 1 เดือน รวมถึงระยะเวลาค่ากลางของการรักษา (CMV DNAemia with treatment) อยู่ในช่วงหลัง 1 เดือนทั้งสิ้น ดังนั้นผู้วิจัยคิดว่าช่วงก่อน 1 เดือนหลังทำการปลูกถ่ายอวัยวะสามารถลดการติดตามระดับ CMV viral load อย่างใกล้ชิดได้เพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่าย
3. ในการศึกษานี้พบระดับ CMV viral load ของกลุ่ม CMV DNAemia with treatment ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับระดับของ cut-off value ที่เคยศึกษาในประเทศไทย[18, 32] สาเหตุเนื่องจาก ผลlab CMV viral load ออกช้าทำให้ไม่สามารถเริ่มยาได้ทันที
4. ข้อมูลการตรวจ pretransplant QuantiFERON CMV ยังไม่พบความสัมพันธ์กับเกิด CMV DNAemia ดังนั้นผู้วิจัยคิดว่ายังไม่มีความจำเป็นต้องตรวจเพื่อใช้ในการดูแลคนไข้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5. QuantiFERON CMV ที่ 3 เดือน มีประโยชน์ตามที่กล่าวมาในกรณีที่ผลเป็น positive โดยเฉพาะหากเคยตรวจผลเป็น negative ที่ 1 เดือนมาก่อน

5.4 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของผล QuantiFERON CMV ก่อนการปลูกถ่ายอวัยวะ, 1 และ 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีภาวะ significant CMV DNAemia รวมทั้ง QuantiFERON CMV 1 เดือนหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ มีความสามารถในการคาดกาณ์การเกิดการติดเชื้อไวรัสซีเอ็มวีต่ำทั้งในแง่ความไวและความจำเพาะ อย่างไรก็ตามผลบวกที่ 3 เดือนอาจมีประโยชน์ในการพิจารณารักษาการติดเชื้อไวรัส CMV

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

Protocol QuantiFERON®-CMV ELISA

(Modified from QuantiFERON-CMV ELISA Package Insert 10/2019)

1.ระยะเวลาในการทำ QuantiFERON CMV assay

1.1 ขั้นตอน Incubation: หลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 16-24 ชั่วโมง

1.2 ขั้นตอน ELISA นานประมาณ 3 ชั่วโมง

2. วัสดุ, อุปกรณ์ และสารเคมี

ตารางที่ 12 แสดงวัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีในการทำ QuantiFERON CMV assay

วัสดุ และ อุปกรณ์ ต่อ 1 ตัวอย่าง	จำนวน
1. Blood collection tube 1 ชุด ประกอบด้วย 1.1 QuantiFERON Nil Control (จุกเทา) 1.2 QuantiFERON CMV Antigen (จุกน้ำเงิน) 1.3 QuantiFERON Mitogen Control (จุกม่วง) 1.4 QF-CMV Blood Collection Tubes Package Insert	 1 หลอด 1 หลอด 1 หลอด 1 ชุด
2. ชุดตรวจ QuantiFERON-CMV ELISA	2-Plate Kit ELISA
Microplate strips (12 x 8 wells) coated with murine anti-human IFN-γ monoclonal antibody	2 sets of 12 x 8 well microplate strips
Human IFN-γ Standard, lyophilized (contains recombinant human IFN-γ, bovine casein, 0.01% w/v Thimerosal)	1 x vial (8 IU/ml when reconstituted)
Green Diluent (contains bovine casein, normal mouse serum, 0.01% w/v Thimerosal)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (murine anti-human IFN-γ HRP, contains 0.01% w/v Thimerosal)	1 x 0.3 ml
Wash Buffer 20x Concentrate (pH 7.2, contains 0.05% v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (contains H2O2, 3,3',5,5' Tetramethylbenzindine	1 x 30 ml

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Enzyme Stopping Solution (contains 0.5 M H2SO4)	1 x 15 ml
QF-CMV ELISA Package Insert	1 ชุด

3. Procedure

3.1 ขั้นตอนที่ 1 การ incubate tubeเลือด และเก็บตัวอย่างพลาสมา

1. การincubate tube เลือดที่ 37 °C เป็นเวลานาน 16-24 ชั่วโมง โดยหลังการincubate สามารถเก็บtubeเลือดก่อนไปปั่นแยกพลาสมาได้นานกว่า 3 วันที่อุณหภูมิ 4-27 °C
2. ปั่นแยกพลาสมาเป็นเวลานาน 15 นาที ที่ 2,000 -3,000 RCF (g) โดยใช้ gel plug แยกระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและพลาสมา โดยหลังจากปั่นให้ระวังการใช้ปิเปตดูดพลาสมาและไม่ให้แตะรบกวนผิวของ gel plug

3.2 ขั้นตอนที่ 2 QuantiFERON-CMV ELISA เพื่อวัดระดับสาร human IFN-γ

1. นำพลาสมาตัวอย่างทั้งหมด และ สารเคมีข้างต้นทุกชนิด ยกเว้น Conjugate 100x Concentrate มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (22°C ± 5°C) อย่างน้อย 60 นาทีก่อนการใช้งาน
2. ละลาย Human IFN-γ Standard ด้วยน้ำกลั่นตามที่ระบุในฉลากข้าง vial โดยละลายจนได้สารละลายความเข้มข้น 8.0 IU/ml แล้วเจือจางตามขั้นตอนดังรูปที่ 6 จนได้ 4 Standard dilutions
3. ละลาย lyophilized Conjugate 100x Concentrate ด้วยน้ำกลั่น 0.3 mL จากนั้นเตรียม Working strength conjugate โดยเจือจางด้วย Green Diluent ปริมาณที่ใช้ดังรูปที่ 7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

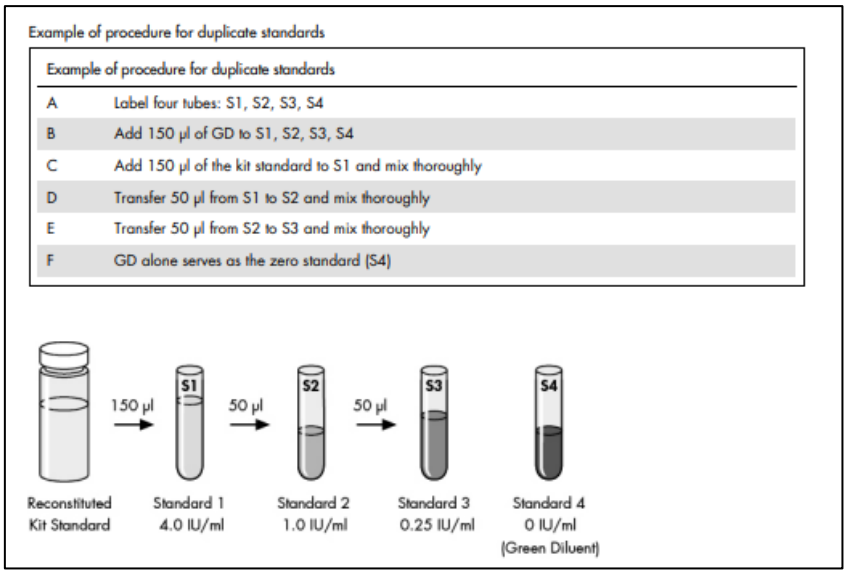
รูปที่ 7 แสดงการเตรียม Standard Human IFN-γ dilutions

Number of strips	Volume of Conjugate 100x Concentrate	Volume of Green Diluent
2	10 µl	1.0 ml
3	15 µl	1.5 ml
4	20 µl	2.0 ml
5	25 µl	2.5 ml
6	30 µl	3.0 ml
7	35 µl	3.5 ml
8	40 µl	4.0 ml
9	45 µl	4.5 ml
10	50 µl	5.0 ml
11	55 µl	5.5 ml
12	60 µl	6.0 ml

4. หยอด working strength conjugate 50 µl, ตัวอย่างพลาสมาจากผู้ป่วย 50 µl และ 4 Standard dilutions อย่างละ 50 µl ลงหลุม ELISA โดยถ้าต้องการวัดปริมาณสารเชิงปริมาณ ให้เจือจาง CM antigen และ Mitogen plasma ลงเป็น 1/10 ใน Green Diluent (10 µl plasma + 90 µl GD) และ เตรียมความเข้มข้นปกติทำควบคู่กันกับชุดที่ถูกเจือจาง
5. ปิด plate ELISA และผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันโดยใช้ microplate shaker นาน 1 นาที ที่500-1000 rpm จากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิห้อง (22°C ± 5°C) นาน 120 นาที
6. ระหว่างรอ incubation ให้เตรียม working strength wash buffer โดยเจือจาง Wash Buffer 20x Concentrate 1ส่วนด้วยน้ำกลั่น 19 ส่วน เตรียมจนได้ทั้งหมด 2 ลิตร จากนั้นล้างหลุมด้วยบัพเฟอร์ 400 µl อย่างน้อย 6 cycle แล้วเทบัพเฟอร์ออกจนหมด
7. เติมสารละลาย Enzyme Substrate 100 µl และผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันโดยใช้ microplate shaker นาน 1 นาที ที่ 500-1000 rpm จากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิห้อง (22°C ± 5°C) นาน 30 นาที หลังจากนั้น เติม Enzyme Stopping Solution 50 µl แล้วผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากันโดยใช้ microplate shaker นาน 1 นาที ที่500-1000 rpm
8. วัดค่า OD โดยใช้ microplate reader ด้วย 450 nm filter และ 620 - 650 nm reference filter

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 8 แสดงการเตรียม Working strength conjugate



4. การแปลผล QuantiFERON®-CMV ELISA

ตารางที่ 13 แสดงตารางการแปลผล QuantiFERON®-CMV ELISA

Nil (IU/ml)	**CMV minus Nil (IU/ml)**	**Mitogen minus Nil (IU/ml)**	**QF-CMV result**	**Report/Interpretation**
≤8.0	≥0.20 และ ≥25% of Nil	Any	Reactive†	Anti-CMV immunity detected
	<0.20 หรือ ≥0.20 และ<25% of Nil	≥0.5	Nonreactive	Anti-CMV immunity NOT detected
		<0.5	Indeterminate‡	Results are indeterminate for CMV responsiveness
>8.0	Any	Any	Indeterminate	Results are indeterminate for CMV responsiveness

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

Case number ☐☐-☐☐☐

แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย (Case record form)

Part A Recipient characteristic

1. Age at transplant ☐☐☐ year-old
2. Gender 1. Male ☐ 2. Female ☐
3. Weight ☐☐☐.☐☐ kg.
4. Height ☐☐☐.☐☐ cm.
5. BMI ☐☐.☐☐ kg/m^2
6. Pretransplant DM 1. Yes ☐ 2. No ☐
7. For Kidney transplant

   Cause of ESRD

   1. DN ☐ 2. HT ☐ 3. IgAN ☐ 4. CGN/unknown ☐

   5. Other ☐, Specify _____
8. For heart transplant

   Cause of heart disease

   1.Myocarditis ☐ 2. Coronary artery disease ☐

   3.valvular heart disease ☐ 4. Other ☐, Specify _____
9. For liver transplant

   Cause of liver disease 1. Alcoholic hepatitis/cirrhosis ☐

   2. Viral hepatitis/cirrhosis ☐ 3. drug/herbal toxicity ☐

   4. Other ☐, Specify _____
10. Retransplant status 1. Yes ☐ 2. No ☐
11. Comorbidities

    1. Diabetes ☐ 2. Hypertension ☐ 3. Cardiac diseases ☐

    4. Other ☐ If yes, specify _____
12. Induction 1. ATG ☐ 2. Basiliximab ☐ 3. Daclizumab ☐
13. Maintenance 1. FK506 ☐ 2. MMF ☐ 3. Prednisolone ☐

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4. SRL ☐ 5. EVRL ☐

14. Post-op complication

1. Yes ☐ 2. No ☐ If yes, specify (UTI/CMV/UGIB) _____

Part B Donor characteristic

15. Type 1. CDKT ☐ 2. LRKT ☐ 3. LT ☐ 4. HeartTx ☐
16. ABOi 1. Yes ☐ 2. No ☐ (if yes, specify blood group _____)
17. Age ☐☐☐ year-old
18. Gender 1. Male ☐ 2. Female ☐

Part C: Immunologic Risk (KT)

19. HLA mismatch (A-B-DR) ☐ - ☐ - ☐
20. PRA (%) ☐☐ %
21. Pre-transplant DSA (+ or -) 1. Yes ☐ 2. No ☐
22. Post-transplant DSA (+ or -) 1. Yes ☐ 2. No ☐
23. Crossmatch (+ or -)
24. CMV status (D/R) ☐☐

Part D Lab investigation

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

	pretransplant	1M	6M
Serum Cr			
GFR			
TB/DB			
AST			
ALT			
ALP			

Part E Outcome and CMV infection management

25. Quantiferon CMV at pretransplant1. positive ☐ 2. negative ☐
26. Quantiferon CMV at 1 month 1. positive ☐ 2. negative ☐
27. Quantiferon CMV at 3 month1. positive ☐ 2. negative ☐
28. CMV infection
29. 1.CMVemia ☐ 2.CMV syndrome ☐ 3. Invasive tissue CMV disease ☐
    4. None ☐
30. Time from post- transplant to CMV infection_____
31. CMV VL _____
32. Maximal CMV VL_____
33. Ganciclovir/valganciclovir treatment 1. Yes ☐ 2. No ☐
34. CMV Treatment success 1. Yes ☐ 2. No ☐
35. Time to CMV Treatment success _____
36. Acute rejection (Bx proven or clinically presumed) 1. Yes ☐ 2. No ☐
37. Infection 1. Bacterial infection ☐ 2. Viral infection ☐ 3. None ☐
    4. Other ☐, specify _____
38. Post-transplant DM 1. Yes ☐ 2. No ☐
39. Graft loss 1. Yes ☐ 2. No ☐
40. Death 1. Yes ☐ 2. No ☐

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1. Humar A. Reactivation of viruses in solid organ transplant patients receiving cytomegalovirus prophylaxis. Transplantation. 2006;82(2 Suppl):S9-s14.

2. Azevedo LS, Pierrotti LC, Abdala E, Costa SF, Strabelli TM, Campos SV, et al. Cytomegalovirus infection in transplant recipients. Clinics (Sao Paulo). 2015;70(7):515-23.

3. Vanichanan J, Udomkarnjananun S, Avihingsanon Y, Jutivorakool K. Common viral infections in kidney transplant recipients. Kidney Res Clin Pract. 2018;37(4):323-37.

4. Sagedal S, Hartmann A, Rollag H. The impact of early cytomegalovirus infection and disease in renal transplant recipients. Clin Microbiol Infect. 2005;11(7):518-30.

5. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. Transplantation. 2018;102(6):900-31.

6. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients-Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant. 2019;33(9):e13512.

7. Hartmann A, Sagedal S, Hjelmesaeth J. The natural course of cytomegalovirus infection and disease in renal transplant recipients. Transplantation. 2006;82(2 Suppl):S15-7.

8. De Keyzer K, Van Laecke S, Peeters P, Vanholder R. Human cytomegalovirus and kidney transplantation: a clinician's update. Am J Kidney Dis. 2011;58(1):118-26.

9. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. Transplantation. 2018;102(6).

10. Manuel O. Clinical Experience with Immune Monitoring for Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplant Recipients. Curr Infect Dis Rep. 2013.

11. Yong MK, Lewin SR, Manuel O. Immune Monitoring for CMV in Transplantation. Curr Infect Dis Rep. 2018;20(4):4.

12. Walker S, Fazou C, Crough T, Holdsworth R, Kiely P, Veale M, et al. Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8+ T-cell responses using QuantiFERON-CMV. Transpl Infect Dis. 2007;9(2):165-70.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

13. Banas B, Böger CA, Lückhoff G, Krüger B, Barabas S, Batzilla J, et al. Validation of T-Track® CMV to assess the functionality of cytomegalovirus-reactive cell-mediated immunity in hemodialysis patients. BMC Immunol. 2017;18(1):15.

14. Barabas S, Spindler T, Kiener R, Tonar C, Lugner T, Batzilla J, et al. An optimized IFN-γ ELISpot assay for the sensitive and standardized monitoring of CMV protein-reactive effector cells of cell-mediated immunity. BMC Immunol. 2017;18(1):14.

15. Giulieri S, Manuel O. QuantiFERON®-CMV assay for the assessment of cytomegalovirus cell-mediated immunity. Expert Rev Mol Diagn. 2011;11(1):17-25.

16. Panomvana Na Ayudhaya D PK, Tewthanom K. The incidence of cytomegalovirus infection in renal transplant patients: single-center study. CHULA MED J. 2004;48:343-55.

17. Chitasombat MN, Watcharananan SP. Burden of cytomegalovirus reactivation post kidney transplant with antithymocyte globulin use in Thailand: A retrospective cohort study. F1000Res. 2018;7:1568.

18. Watcharananan SP, Louhapanswat S, Chantratita W, Jirasiritham S, Sumethkul V. Cytomegalovirus Viremia After Kidney Transplantation in Thailand: Predictors of Symptomatic Infection and Outcome. Transplantation Proceedings. 2012;44(3):701-5.

19. Chiasakul T, Townamchai N, Jutivorakool K, Chancharoenthana W, Thongprayoon C, Watanatorn S, et al. Risk Factors of Cytomegalovirus Disease in Kidney Transplant Recipients: A Single-Center Study in Thailand. Transplantation Proceedings. 2015;47(8):2460-4.

20. Lochmanova A, Lochman I, Tomaskova H, Marsalkova P, Raszka J, Mrazek J, et al. Quantiferon-CMV Test in Prediction of Cytomegalovirus Infection After Kidney Transplantation. Transplantation Proceedings. 2010;42(9):3574-7.

21. Lisboa LF, Kumar D, Wilson LE, Humar A. Clinical utility of cytomegalovirus cell-mediated immunity in transplant recipients with cytomegalovirus viremia. Transplantation. 2012;93(2):195-200.

22. Abate D, Saldan A, Mengoli C, Fiscon M, Silvestre C, Fallico L, et al. Comparison of cytomegalovirus (CMV) enzyme-linked immunosorbent spot and CMV quantiferon gamma interferon-releasing assays in assessing risk of CMV infection in kidney transplant recipients. J Clin Microbiol. 2013;51(8):2501-7.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

23. Kwon JS, Kim T, Kim SM, Sung H, Shin S, Kim YH, et al. Comparison of the Commercial QuantiFERON-CMV and Overlapping Peptide-based ELISPOT Assays for Predicting CMV Infection in Kidney Transplant Recipients. Immune Netw. 2017;17(5):317-25.

24. Lee H, Park KH, Ryu JH, Choi AR, Yu JH, Lim J, et al. Cytomegalovirus (CMV) immune monitoring with ELISPOT and QuantiFERON-CMV assay in seropositive kidney transplant recipients. PLoS One. 2017;12(12):e0189488.

25. Thompson G, Boan P, Baumwol J, Chakera A, MacQuillan G, Swaminathan S, et al. Analysis of the QuantiFERON-CMV assay, CMV viraemia and antiviral treatment following solid organ transplantation in Western Australia. Pathology. 2018;50(5):554-61.

26. Chiereghin A, Potena L, Borgese L, Gibertoni D, Squarzoni D, Turello G, et al. Monitoring of Cytomegalovirus (CMV)-Specific Cell-Mediated Immunity in Heart Transplant Recipients: Clinical Utility of the QuantiFERON-CMV Assay for Management of Posttransplant CMV Infection. J Clin Microbiol. 2018;56(4).

27. Ruan Y, Guo W, Liang S, Xu Z, Niu T. Diagnostic performance of cytomegalovirus (CMV) immune monitoring with ELISPOT and QuantiFERON-CMV assay in kidney transplantation: A PRISMA-compliant article. Medicine (Baltimore). 2019;98(16):e15228.

28. Bruminhent J, Autto S, Rotjanapan P, Ngarmjanyaporn P, Bushyakanist A, Kirdlarp S, et al. A Prospective Study of Cytomegalovirus-Specific Cell-Mediated Immune Monitoring and Cytomegalovirus Infection in Patients With Active Systemic Lupus Erythematosus Receiving Immunosuppressants. Open Forum Infect Dis. 2021;8(6):ofab248.

29. Kritsada Pongsakornkullachart MC, Attapong Vongwivatana, Peenida Skulratanasak, Wannee Kantakamalakul, Pakpoom Phoompoung. Quantiferon-cytomegalovirus Assay for Prediction of Cytomegalovirus Viremia in Kidney Transplant Recipients[Abstract]. The 36th Annual Meeting The Royal College of Physicians of Thailand

'Internal Medicine in Disruptive World'; 29th – 31st October 2020; PEACH Royal Cliff Beach Resort, Pattaya, Chonburi, Thailand2020.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

30. Panomvana Na Ayudhaya D PK, Tewthanom K. The incidence of cytomegalovirus infection in renal transplant patients:single-center study. CHULA MED J. Jun 2004 48(6):343-55.

31. Watcharananan SP, Louhapanswat S, Chantratita W, Jirasiritham S, Sumethkul V. Cytomegalovirus viremia after kidney transplantation in Thailand: predictors of symptomatic infection and outcome. Transplant Proc. 2012;44(3):701-5.

32. Bruminhent J, Bushyakanist A, Kantachuvesiri S, Kiertiburanakul S. A Nationwide Survey of Cytomegalovirus Prevention Strategies in Kidney Transplant Recipients in a Resource-Limited Setting. Open Forum Infect Dis. 2019;6(9):ofz322.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นพ. กมลาสน์ อำนวย
วัน เดือน ปี เกิด	26 มีนาคม 2531
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
วุฒิการศึกษา	- แพทยศาสตร์บัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย - วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์ - แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	89/631 ซอยนวมินทร์ 45 ถ.นวมินทร์ แขวงคลองกุ่ม เขตบึงกุ่ม กรุงเทพมหานคร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University