

การประเมินวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์เพื่อบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวี

อัจฉริยา จันปุ่ม¹, สุทธิพรรณ กิจเจริญ^{2,*}

Received: July 28, 2016

Revised & Accepted: December 14, 2016

บทคัดย่อ

การติดเชื้อเอชไอวีมีผลทำให้จำนวนลิมโฟไซต์ CD4 ลดลง และยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของลิมโฟไซต์ CD4 เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้หลักการของวิธีเอสเทคโนโลยีสามารถตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของเม็ดเลือดขาวได้ การศึกษาแบบย้อนหลังครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประโยชน์ทางคลินิกของค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ในการบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวี โดยได้วิเคราะห์ข้อมูลค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Beckman Coulter LH 780 ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 58 ราย และกลุ่มผู้ไม่มีสุขภาพดีจำนวน 80 ราย และได้คำนวณค่าดัชนีลิมโฟไซต์จากสูตร $[(MLV \times LV-SD) \div MLC]$ ผู้วิจัยพบว่า ค่าเฉลี่ยของวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และค่าดัชนีลิมโฟไซต์ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีแตกต่างไปจากกลุ่มผู้ไม่มีสุขภาพดีทุกพารามิเตอร์ ยกเว้นค่าเฉลี่ยของปริมาตรเซลล์ (MLV) เมื่อคำนวณค่า cut-off ของแต่ละพารามิเตอร์ด้วย ROC curve พบว่า ค่า cut-off ของ LV-SD ที่ ≥ 16.4 และ LC-SD ที่ ≥ 15.6 มีค่าความไวและความจำเพาะในการบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวีอยู่ในเกณฑ์ดี คือ ความไวเท่ากับ 75.86% และ 79.31% และความจำเพาะเท่ากับ 91.25% และ 93.75% นอกจากนี้ค่า LV-SD ยังมีแนวโน้มความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าสัมบูรณ์ของลิมโฟไซต์ CD4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = -0.208$, $p\text{-value} = 0.025$) จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงประโยชน์ในการนำใช้เพื่อประเมินผลการรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีด้วยต้านไวรัส การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า LV-SD และ LC-SD เป็นตัวบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวีที่ดี จึงควรมีการศึกษาแบบไปข้างหน้าในกลุ่มผู้ที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อเอชไอวีที่มีขนาดตัวอย่างมากกว่านี้ เพื่อประเมินศักยภาพในการใช้ประโยชน์ทางคลินิกของพารามิเตอร์ทั้งสองนี้

คำสำคัญ : ลิมโฟไซต์, วิธีเอสพารามิเตอร์, เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ, การติดเชื้อเอชไอวี

¹นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาสาขาพยาบาลวิเทศคลินิกและการจัดการ คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²กลุ่มวิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Evaluation of lymphocyte VCS parameters for prediction of HIV infection

Aschareeya Chanpum¹, Suttiphan Kitcharoen^{2*}

Abstract

Human immune deficiency virus (HIV) infection leads to a reduction in the number and morphologic changes of CD4 lymphocytes. A hematology analyzer with VCS (volume, conductivity and light scatter) technology can determine morphologic properties of leukocytes. The aim of this retrospective study was to evaluate the clinical usefulness of lymphocyte VCS parameters in predicting HIV infection. We analyzed the lymphocyte VCS parameters obtained from Beckman Coulter LH780 of 58 HIV-infected cases comparing to 80 healthy subjects. The lymphocyte index was calculated from $[(MLV \times LV-SD) \div MLC]$. We observed significant differences in all parameters including lymphocyte index, but not mean lymphocyte volume (MLV). Cut-off values were established for each parameter based on receiver operator characteristics (ROC) curves. LV-SD with cut-off value ≥ 16.4 and LC-SD with cut-off value ≥ 15.6 showed good sensitivity (75.86% and 79.31%) and specificity (91.25% and 93.75%) in predicting HIV infection. Moreover, LV-SD also showed a significant inverted correlation with absolute CD4 count ($r = -0.208$, $p\text{-value} = 0.025$). The clinical usefulness of the LV-SD for monitoring the efficacy of antiretroviral therapy among HIV-infected patients should be further evaluated. This study demonstrates that LV-SD and LC-SD may be promising indicators for HIV infection. The potential clinical usefulness of these parameters merits further exploration in a larger prospective study in a population at risk for HIV infection.

Keywords : Lymphocyte, VCS parameters, Automated hematology analyzer, HIV infection

¹Postgraduate student in Clinical Pathology and Management, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

²Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

*Corresponding author: (e-mail: sutpra@kku.ac.th)

บทนำ

การติดเชื้อเอชไอวี (human immune deficiency virus; HIV) ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย จากรายงานปี 2558 ของสำนักงานสถิติวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข พบว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีส่วนใหญ่เป็นประชาชนในวัยแรงงานซึ่งเป็นทรัพยากรหลักในการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของประเทศ⁽¹⁾ ภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ติดเชื้อเอชไอวีจะลดลงจนถึงระดับที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อฉวยโอกาสได้หลายประเภท ส่งผลให้อัตราความเจ็บป่วยและอัตราการเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อเอชไอวีเพิ่มขึ้น^(2,3) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) CD4 เป็นลิมโฟไซต์ที่มีจำนวนมากที่สุดในกระแสเลือดของคนปกติ^(4,5) ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ลิมโฟไซต์ CD4 เป็นเซลล์เป้าหมายสำคัญของเชื้อเอชไอวีที่จะเข้าไปเพิ่มจำนวนและกระตุ้นให้ลิมโฟไซต์ CD4 ถูกทำลายโดยการเกิด apoptosis⁽⁶⁾ เป็นสาเหตุให้ผู้ติดเชื้อเอชไอวีทุกราย มีจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 ลดลง ในการเกิด apoptosis เซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงทั้งนิวเคลียส (nucleus) และไซโทพลาสซึม (cytoplasm) นอกจากนี้ยังพบว่าลิมโฟไซต์ CD4 ของผู้ติดเชื้อเอชไอวี มีคุณสมบัติของเยื่อเลือกผ่าน (cell membrane permeability) เปลี่ยนแปลงไป ส่งเสริมให้เกิดการเสียสภาพภายในเซลล์ที่เรียกว่า balloon degeneration มีผลทำให้ลิมโฟไซต์ CD4 แตกง่าย การติดเชื้อเอชไอวียังมีลักษณะเฉพาะทางชีวภาพที่สำคัญ คือ การเชื่อมเซลล์กัน (syncytia) ระหว่างลิมโฟไซต์ CD4 ทำให้เซลล์มีหลายนิวเคลียส (multinucleated cell)^(7,8) การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมของเซลล์ดังกล่าวมานี้ สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้วิธีเอสเทคโนโลยี (VCS technology; volume, conductivity and light scatter) เช่น Beckman Coulter LH750, LH780 และ DxH800^(9,10) Zhu และคณะ^(11,12) ได้นำค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ (VCS parameter) ของลิมโฟไซต์ที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Beckman Coulter LH750 มาคำนวณเป็นค่าดัชนีลิมโฟไซต์ (lymph index) โดยใช้สูตร $[MLV \times LV-SD] \div MLC$ พบว่าสามารถใช้ช่วยบ่งชี้การติดเชื้อไวรัสได้หลายชนิด

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้ศึกษาค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และดัชนีลิมโฟไซต์ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และคำนวณหาค่า cut-off ที่เหมาะสมของวิธีเอสพารามิเตอร์ของ

ลิมโฟไซต์และดัชนีลิมโฟไซต์เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวี รวมทั้งได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และดัชนีลิมโฟไซต์กับค่าสมบูรณ์ของลิมโฟไซต์ CD4 เพื่อประโยชน์ในการนำมาใช้ติดตามผลการรักษา

วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลัง โดยการเก็บข้อมูลทั่วไปและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของตัวอย่างที่มารับการรักษา ณ โรงพยาบาลมุกดาหาร ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ.2556 ถึงมกราคม พ.ศ. 2557 โดยได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE572091) มีรายละเอียดการศึกษาดังนี้

1. กลุ่มตัวอย่าง

เกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างมีดังนี้

- 1) อายุ 20 ปีขึ้นไป ทั้งเพศชายและเพศหญิง
- 2) มีผลตรวจยืนยันว่าติดเชื้อเอชไอวี
- 3) เป็นผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเอชไอวี
- 4) มีผลตรวจจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 ก่อนการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเอชไอวี

5) มีผลตรวจจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 ของเดือนที่ 6 หลังได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเอชไอวี

เกณฑ์การปฏิเสธตัวอย่างมีดังนี้

- 1) กำลังตั้งครรภ์
- 2) ผู้ป่วยที่ไม่มาตามนัด

2. กลุ่มควบคุม เป็นผู้ที่มีสุขภาพดีที่มารับบริการตรวจสุขภาพประจำปี ณ โรงพยาบาลมุกดาหาร ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2556 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2557

3. วิธีการศึกษา

3.1 เก็บข้อมูลของกลุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วย อายุ (ปี) เพศ ผลการตรวจจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 และวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ ได้แก่ mean lymphocyte volume (MLV), standard deviation of lymphocyte volume (LV-SD), mean lymphocyte conductivity (MLC), standard deviation of lymphocyte conductivity (LC-SD), mean lymphocyte scatter (MLS) และ standard deviation of lymphocyte scatter (LS-SD) โดย

เก็บข้อมูลทั้งก่อนและหลังได้รับยาต้านไวรัส และคำนวณค่าดัชนีลิมโฟไซต์จากสูตร $[MLV \times LV-SD] \div MLC$ (11,12)
 3.2 เก็บข้อมูลของกลุ่มควบคุม ประกอบด้วย อายุ (ปี) เพศ และวีซีเอสพารามิเตอร์ของ ลิมโฟไซต์ ได้แก่ MLV, LV-SD, MLC, LC-SD, MLS และ LS-SD และคำนวณค่าดัชนีลิมโฟไซต์ตามสูตรข้างต้น

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ใช้โปรแกรม STATA 10 เพื่อวิเคราะห์ลักษณะการกระจายตัวของข้อมูลแต่ละกลุ่มโดยใช้สถิติ Shapiro-Wilk test เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลที่ศึกษาของกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนและหลังได้รับยาต้านไวรัสโดยใช้สถิติ Wilcoxon Signed Ranks test คำนวณ receiver operating characteristic (ROC) curve และพื้นที่ใต้กราฟ (area under the curve; AUC) ของพารามิเตอร์ที่ศึกษา และคำนวณค่า cut-off และความไวและความจำเพาะของค่า cut-off ของพารามิเตอร์ที่ศึกษา

4.2 ใช้โปรแกรม MINITAB คำนวณสถิติ Mann-Whitney U-test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของ

ข้อมูลที่ศึกษา เนื่องจากมีข้อมูลบางชุดมีลักษณะการกระจายตัวของข้อมูลไม่เป็นแบบปกติ (non-normal distribution) และคำนวณความสัมพันธ์ (r) ระหว่างจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 กับวีซีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และดัชนีลิมโฟไซต์

ผลการศึกษา

การศึกษานี้กลุ่มควบคุมเป็นผู้มีสุขภาพดีที่มาตรวจสุขภาพประจำปี และมีผลการตรวจทาง โลหิตวิทยาอยู่ในช่วงค่าอ้างอิงปกติ⁽¹³⁾ จำนวน 80 คน เป็นเพศชาย 40 คน (ร้อยละ 50) มีอายุเฉลี่ย 38.3 ± 7.6 ปี และเพศหญิง 40 คน (ร้อยละ 50) มีอายุเฉลี่ย 38.5 ± 9.1 ปี กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มารับการรักษา ณ คลินิกสถานใจรักโรงพยาบาลมุกดาหาร ที่มีผลตรวจยืนยันการติดเชื้อเอชไอวี (anti HIV) เป็นบวก (positive) จำนวน 58 ราย เป็นเพศชาย 35 ราย (ร้อยละ 56.9) มีอายุเฉลี่ย 40.1 ± 7.3 ปี และเพศหญิง 23 ราย (ร้อยละ 43.1) มีอายุเฉลี่ย 38.7 ± 9.2 ดังแสดงใน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณลักษณะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อเอชไอวี

คุณลักษณะ	กลุ่มควบคุม (n = 80)	กลุ่มตัวอย่าง (n = 58)
เพศ, n (%)		
ชาย	40 (50)	35 (56.9)
หญิง	40 (50)	23 (43.1)
อายุ (ปี), mean $\pm$ SD		
ชาย	38.3 ± 7.6	40.1 ± 7.3
หญิง	38.5 ± 9.1	38.7 ± 9.2

ผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยาต้านไวรัสส่วนใหญ่มีจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 อยู่ในระดับ 200 - 499 cells/mm³ (ร้อยละ 55.2) ในขณะที่ระดับ CD4 < 200 cells/mm³ และที่ระดับ CD4 $\geq$ 500 cells/mm³ มีจำนวนใกล้เคียงกันคิดเป็นร้อยละ 20.7 และ 24.1 ตามลำดับ หลังจากได้รับยาต้านไวรัสเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีจำนวนลิมโฟ

ไซต์ CD4 $\geq$ 500 cells/mm³ มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นจากเดิมเป็นร้อยละ 34.5 แต่ยังคงพบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีส่วนใหญ่มีจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 อยู่ในช่วง 200 - 499 cells/mm³ (ร้อยละ 48.3) และผู้ป่วยที่มีระดับ CD4 < 200 cells/mm³ มีจำนวนลดลงเหลือร้อยละ 17.2 (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 กลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำแนกตามระดับลิมโฟไซต์ CD4

ระดับ CD4 (cells/mm ³)	Mean $\pm$ SD	จำนวนตัวอย่าง (%)
ก่อนได้รับยาต้านไวรัส		
< 200	144.4 $\pm$ 99.9	12 (20.7)
200 - 499	364.7 $\pm$ 98.1	32 (55.2)
$\geq$ 500	644.0 $\pm$ 130.6	14 (24.1)
หลังได้รับยาต้านไวรัส		
< 200	130.7 $\pm$ 44.3	10 (17.2)
200 - 499	332.8 $\pm$ 80.2	28 (48.3)
$\geq$ 500	668.6 $\pm$ 159.4	20 (34.5)

การเปรียบเทียบค่าวิชีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ ได้แก่ MLV, MLC, MLS, LV-SD, LC-SD และ LS-SD ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งก่อนและหลังรับยาต้านไวรัส พบว่า MLV เป็นพารามิเตอร์ที่ไม่มีความแตกต่างในทั้งสามกลุ่ม MLS ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยาต้านไวรัสมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มหลังรับยาต้านไวรัส (ตารางที่ 3) MLC และ LV-SD เป็นพารามิเตอร์ที่มีความแตกต่างกันทั้งสามกลุ่ม โดยพบว่า MLC ของกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีหลังรับยามีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยก่อนรับยา และ LV-SD ของกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยามีค่าสูงสุด เมื่อได้รับยาต้านไวรัสค่า LV-SD ลดต่ำลง แต่ยังสูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วน LC-SD และ LS-SD เป็นพารามิเตอร์ที่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนและหลังรับยาต้านไวรัส แต่เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าทั้งสองพารามิเตอร์มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 3) การเปรียบเทียบค่าดัชนีลิมโฟไซต์ของทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.001 และเท่ากับ 0.01) โดยกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยาต้านไวรัส

มีค่าเฉลี่ยดัชนีลิมโฟไซต์สูงที่สุดเท่ากับ 13.4 ± 2.3 กลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีหลังรับยาต้านไวรัสและกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.6 ± 2.2 และ 10.7 ± 1.6 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) กลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนและหลังรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ย ร้อยละของ CD4 ไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ย ร้อยละของ CD4 คือ ร้อยละ 16.7 ± 7.4 และกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีหลังรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ย ร้อยละของ CD4 คือ ร้อยละ 17.0 ± 6.9 แต่เมื่อเปรียบเทียบเป็นค่าสัมบูรณ์ CD4 (cells/mm³) หรือ absolute count of CD4 พบว่ากลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีหลังรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ยของค่าสัมบูรณ์ CD4 สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยก่อนรับยาต้านไวรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.011) โดยกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ยของค่าสัมบูรณ์ CD4 คือ 386.5 ± 196.2 cells/mm³. และกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีหลังรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ยของค่าสัมบูรณ์ CD4 เพิ่มขึ้นเป็น 413.8 ± 227.8 cells/mm³ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 พารามิเตอร์ต่างๆ ของลิมโฟไซต์ของกลุ่มควบคุม กลุ่มผู้ป่วยก่อนรับยาต้านไวรัส และกลุ่มผู้ป่วยหลังรับยาต้านไวรัส

พารามิเตอร์	กลุ่มควบคุม (I)	กลุ่มผู้ป่วยก่อน รับยา (II)	กลุ่มผู้ป่วยหลัง รับยา (III)	<i>p</i> -value		
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	I vs II ^a	I vs III ^a	II vs III ^b
Lymphocyte *	2.5 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.8	2.5 $\pm$ 1.0	0.002	0.865	0.012
MLV	87.8 $\pm$ 3.3	86.6 $\pm$ 7.0	87.1 $\pm$ 5.6	0.215	0.816	0.441
MLC	121.4 $\pm$ 9.7	123.1 $\pm$ 4.5	126.8 $\pm$ 8.0	0.007	< 0.001	0.003
MLS	66.1 $\pm$ 4.9	62.9 $\pm$ 5.6	65.7 $\pm$ 5.1	< 0.001	0.701	0.004
LV-SD	14.6 $\pm$ 1.5	19.2 $\pm$ 3.9	16.9 $\pm$ 3.5	< 0.001	< 0.001	< 0.001
LC-SD	12.1 $\pm$ 2.4	18.1 $\pm$ 4.0	17.8 $\pm$ 3.2	< 0.001	< 0.001	0.536
LS-SD	17.4 $\pm$ 1.6	19.5 $\pm$ 1.9	19.2 $\pm$ 1.4	< 0.001	< 0.001	0.192
Lymph Index	10.7 $\pm$ 1.6	13.4 $\pm$ 2.3	11.6 $\pm$ 2.2	< 0.001	0.010	< 0.001
%CD4	–	16.7 $\pm$ 7.4	17.0 $\pm$ 6.9	–	–	0.296
#CD4 **	–	386.5 $\pm$ 196.2	413.8 $\pm$ 227.8	–	–	0.011

*absolute lymphocyte count (x10³ cells/mm³), **absolute CD4 count (x10³ cells/mm³)

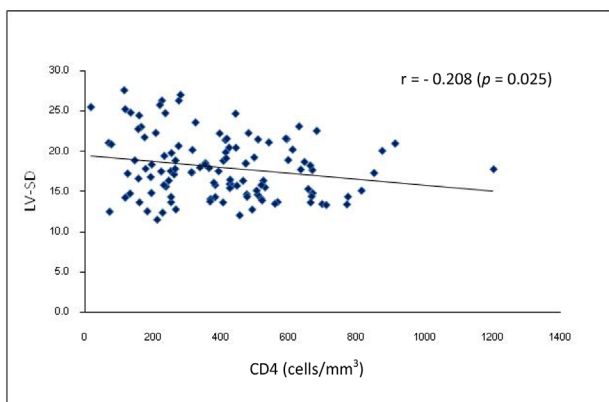
^a วิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Mann-Whitney U-test, ^b วิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Wilcoxon Signed Ranks test

การศึกษาค่าดัชนีลิมโฟไซต์และวีชีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟต์ เพื่อใช้ช่วยบ่งชี้การติดเชื้อ เอชไอวี โดยพิจารณาจากค่า cut-off ที่มีความไว ความจำเพาะและพื้นที่ใต้กราฟที่เหมาะสม พบว่าค่าดัชนีลิมโฟไซต์, LV-SD, LC-SD, LS-SD เป็นค่าที่มีความไว ความจำเพาะและพื้นที่ใต้กราฟสูงกว่าพารามิเตอร์อื่นๆ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่า cut-off ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของดัชนีลิมโฟไซต์และวีชีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์โดยใช้ receiver operating characteristic (ROC) curve

พารามิเตอร์	Cut-off	Sensitivity (%)	Specificity (%)	AUC	95 % CI
Lymph Index	≥ 12.3	74.14	81.25	0.829	0.756 – 0.888
MLV	≥ 89.4	36.21	88.75	0.461	0.452 – 0.624
MLC	≥ 118.9	87.93	68.84	0.669	0.585 – 0.747
MLS	≥ 72.8	44.83	83.70	0.327	0.588 – 0.751
LV-SD	≥ 16.4	75.86	91.25	0.867	0.799 – 0.919
LC-SD	≥ 15.6	79.31	93.75	0.905	0.843 – 0.948
LS-SD	≥ 19.0	67.24	85.01	0.825	0.752 – 0.885

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าวีซีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และดัชนีลิมโฟไซต์กับค่าสมบรูณ์ CD4 พบว่าค่า LV-SD มีความสัมพันธ์กับค่าสมบรูณ์ CD4 มากที่สุด โดยมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าสมบรูณ์ CD4 ที่ค่า $r = -0.208$ ($p\text{-value} = 0.025$) (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง LV-SD และค่าสมบรูณ์ของลิมโฟไซต์ CD4

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับการรักษา ณ คลินิกสถานใจรักโรงพยาบาลมุกดาหาร ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2556 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2557 จำนวน 58 ราย เป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิงประมาณ 1.5 เท่า (เพศชาย 35 ราย และเพศหญิง 23 ราย) และอายุเฉลี่ยของผู้ติดเชื้อเอชไอวีอยู่ในช่วงวัยทำงาน ข้อมูลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานประจำปี 2558 ของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข⁽¹⁾ การเจ็บป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อเอชไอวีจะทำให้สมรรถภาพในการทำงานลดลง และยังอาจทำให้ผู้ติดเชื้อเอชไอวีเสียชีวิตก่อนวัยอันควรอีกด้วย นับเป็นการสูญเสียทรัพยากรที่สำคัญในการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของประเทศ ในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีเมื่อได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสนานเป็นเวลา 6 เดือน เมื่อมาตรวจติดตามผลการรักษา พบว่ามีจำนวนเฉลี่ยของลิมโฟไซต์ CD4 เพิ่มขึ้นอีกทั้งมีจำนวนผู้ติดเชื้อที่มีจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 ≥ 500 cells/mm³ มากกว่าก่อนการให้การรักษา และมีจำนวนผู้ติดเชื้อที่มีจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 < 200 cells/mm³ น้อยกว่าก่อนการให้การรักษา แสดงถึงผลการรักษาที่ดีขึ้น การติดตามการเปลี่ยนแปลงของจำนวนลิมโฟไซต์ CD4 อย่างต่อเนื่องจะช่วยให้การประเมินผลการรักษาได้ดียิ่งขึ้น

วีซีเอสพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดขาว เป็นพารามิเตอร์ที่บอกถึงรูปพรรณสัณฐาน (morphology) ของเม็ดเลือดขาวแต่ละเซลล์ เรียกข้อมูลส่วนนี้ว่า cell population data (CPD) ซึ่งเทียบได้กับการศึกษาลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดขาวบนฟิล์มเลือด แต่มีข้อดีที่เหนือกว่าเนื่องจากใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัย ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น โดยแต่ละตัวอย่างเลือดเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติจะตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดขาวมากถึง 8,000 เซลล์ ในขณะที่การตรวจฟิล์มเลือดโดยทั่วไปจะนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวและตรวจดูลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดขาวเพียง 100 เซลล์เท่านั้น⁽¹⁴⁾ วีซีเอสพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดขาวนี้ สามารถใช้บ่งชี้สาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดขาวได้ เช่น ค่าวีซีเอสพารามิเตอร์ของนิวโทรฟิลที่เปลี่ยนแปลงไป บ่งชี้ถึงการติดเชื้อแบคทีเรียเฉียบพลัน (acute bacteria infection) ทั้งในผู้ใหญ่⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ ทารกแรกเกิด⁽¹⁸⁾ คนชรา⁽¹⁹⁾ และหลังการผ่าตัด⁽²⁰⁾ สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าวีซีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ พบได้ในการติดเชื้อไวรัสหลายชนิด ได้แก่ Epstein Barr virus, hepatitis A virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus, herpes virus, cytomegalovirus, human herpes virus 8, Dengue virus และ human immunodeficiency virus^(11,21) นอกจากนี้ Zhu และคณะ ได้รายงานค่าดัชนีลิมโฟไซต์จากสูตร $[MLV \times LV-SD] \div MLC$ ที่ค่า cut-off ≥ 12.92 มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสสูงถึง ร้อยละ 91.7 และร้อยละ 97.2 ตามลำดับ⁽¹²⁾

ในการศึกษานี้ ได้ศึกษาวีซีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และดัชนีลิมโฟไซต์ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งก่อนและหลังการได้รับยาต้านไวรัส รวมทั้งได้แสดงความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์เหล่านี้กับค่าลิมโฟไซต์ CD4 ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ ผลจากการศึกษาจะทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์เหล่านี้ ซึ่งอาจมีส่วนช่วยในการวินิจฉัยและเริ่มให้การรักษาด้วยยาต้านไวรัสตั้งแต่วัยเริ่มแรกที่ผู้ติดเชื้อยังไม่มีอาการรุนแรง ส่งผลให้การรักษามีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

จากการศึกษาเปรียบเทียบค่าวีซีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งก่อนและหลังรับยาต้านไวรัส พบว่า MLV เป็นพารามิเตอร์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 3 กลุ่ม ในขณะที่ LV-SD ของกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งก่อนและหลังรับยามี

ค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งค่า LV-SD ที่สูงนี้แสดงให้เห็นว่าลิมโฟไซต์ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีนั้น มีความหลากหลายของขนาดหรือปริมาตร ตั้งแต่ขนาดเล็กมาก ปกติ ไปจนถึงใหญ่มาก เมื่อคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยของขนาดหรือปริมาตร (MLV) อาจจะไม่เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนเหมือนค่าเฉลี่ย LV-SD สำหรับค่าวิธีเอสพารามิเตอร์อื่นๆ ของลิมโฟไซต์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทุกพารามิเตอร์มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม ยกเว้นค่า MLS ที่มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้อาจเป็นลักษณะเฉพาะของการติดเชื้อเอชไอวี ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่ศึกษาพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ในกลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสรวมหลายชนิด ซึ่งพบว่าพารามิเตอร์ที่มีการเปลี่ยนแปลงในกลุ่มผู้ที่ติดเชื้อไวรัสที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมคือ MLV, LV-SD และ MLC โดยค่าเฉลี่ยของ MLV และ LV-SD ของกลุ่มผู้ที่ติดเชื้อไวรัสสูงขึ้น และค่าเฉลี่ยของ MLC ต่ำลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม^(11, 21) การเปลี่ยนแปลงค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ที่พบในผู้ติดเชื้อเอชไอวีนี้ น่าจะเป็นผลเนื่องมาจากพยาธิสภาพที่เกิดกับลิมโฟไซต์ CD4 ได้แก่ การเกิด apoptosis⁽⁸⁾ ซึ่งนิวเคลียสจะรวมตัวแน่นเป็น pyknotic nucleus ก่อนแตกเป็นก้อนเล็กๆ ห่อหุ้มด้วยไซโทพลาซึมและเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่า apoptotic bodies นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อเลือกผ่านทำให้เซลล์เสียสภาพแบบ balloon degeneration และการเชื่อมต่อกันของเซลล์เป็นเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียส⁽⁷⁾ คุณลักษณะของลิมโฟไซต์ CD4 ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่เปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากการเปลี่ยนแปลงที่พบในการติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น⁽²²⁾ ส่งผลทำให้ค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีไม่เหมือนกับการติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น

ในการศึกษาที่ผู้วิจัยได้คำนวณค่าดัชนีลิมโฟไซต์โดยใช้สูตรเดียวกันกับการศึกษาของ Zhu และคณะ^(11,12) แม้ค่าเฉลี่ย MLV ของผู้ติดเชื้อทั้งสองกลุ่มจะไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และค่าเฉลี่ย MLC ของกลุ่มผู้ติดเชื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Zhu และคณะซึ่งค่าเฉลี่ยของ MLC ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่เมื่อคำนวณเป็นค่าดัชนีลิมโฟไซต์แล้ว ยังพบว่ากลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งก่อนและหลังรับยาต้านไวรัสมีค่าเฉลี่ยดัชนีลิมโฟไซต์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เป็นเพราะผู้ติดเชื้อทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ย LV-SD สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ โดยเฉพาะกลุ่มก่อนรับยาต้านไวรัสมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมมาก ค่าดัชนีลิมโฟไซต์จึงอาจยังมีประโยชน์ในการช่วยบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวีได้ ผู้วิจัยจึงได้นำค่าดัชนีลิมโฟไซต์ไปคำนวณค่า cut-off โดย ROC curve ด้วย

เมื่อนำค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์และค่าดัชนีลิมโฟไซต์ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีก่อนรับยาต้านไวรัสมาคำนวณค่า cut-off โดย ROC curve พบว่า LC-SD ที่ค่า cut-off ≥ 15.6 มีความไว ความจำเพาะ และพื้นที่ใต้กราฟสูงที่สุด และ LV-SD ที่ค่า cut-off ≥ 16.4 มีความไว ความจำเพาะ และพื้นที่ใต้กราฟเป็นรองจาก LC-SD โดยค่าความไว ความจำเพาะ และพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากทั้ง 2 พารามิเตอร์อยู่ในช่วงค่าที่ยอมรับได้⁽²³⁾ การนำค่า cut-off ของ LC-SD และ LV-SD ไปตั้งเป็นเกณฑ์การตัดสินใจ (decision rule) ในเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้หลักการวิธีเอสเทคโนโลยี จะเป็นประโยชน์ในการช่วยบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวีได้ โดยไม่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติม เนื่องจากค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดขาวทุกชนิดเป็นค่าที่เครื่องวิเคราะห์ให้อยู่แล้ว ผู้ใช้เพียงแต่เข้าไปเปิดดูข้อมูล CPD ของลิมโฟไซต์ นอกจากนี้ LV-SD ยังอาจมีประโยชน์ในการตรวจติดตามผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้อีกด้วย เนื่องจากมีแนวโน้มความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าสมบูรณ์ของลิมโฟไซต์ CD4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อค่า LV-SD สูงขึ้นบ่งชี้ว่าค่าสมบูรณ์ของลิมโฟไซต์ CD4 ลดลง แสดงว่าผู้ติดเชื้อมีอาการรุนแรงมากขึ้น ในทางกลับกันเมื่อค่า LV-SD ลดลงบ่งชี้ว่าค่าสมบูรณ์ของลิมโฟไซต์ CD4 เพิ่มขึ้น แสดงว่าผู้ติดเชื้อมีอาการดีขึ้น ข้อมูลในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่าค่า LV-SD น่าจะเป็นพารามิเตอร์ที่สามารถนำมาใช้ประเมินผลการรักษาด้วยยาต้านไวรัสในเบื้องต้นได้ ซึ่งหากการรักษาได้ผลดี ค่า LV-SD ควรค่อยๆ ลดลงจนเข้าใกล้ค่าอ้างอิงจากกลุ่มคนปกติ อย่างไรก็ตามค่าความสัมพันธ์ที่ได้มีค่าน้อย ($r = -0.208$) ส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากมีจำนวนผู้ติดเชื้อเอชไอวีเพียง 50 คน หากมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้ขนาดตัวอย่างที่มากขึ้น อาจเห็นความสัมพันธ์ที่ดีขึ้น

การศึกษานี้สรุปได้ว่า การติดเชื้อเอชไอวีทำให้ค่าวิธีเอสพารามิเตอร์ของลิมโฟไซต์มีการเปลี่ยนแปลงไป โดยค่า LC-SD และ LV-SD เป็นพารามิเตอร์ที่น่าสนใจนำค่า cut-off ไปกำหนดเป็นเกณฑ์การตัดสินใจในเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้หลักการวิธีเอสเทคโนโลยี และประเมินผลการช่วยบ่งชี้การติดเชื้อเอชไอวี โดยทำการศึกษา

เปรียบเทียบกับกรณีวินิจฉัยโดยวิธีมาตรฐานในกลุ่มตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ขณะเดียวกันควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการใช้ค่า LV-SD ในการติดตามผลการรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีด้วยยาต้านไวรัสเปรียบเทียบกับการใช้ค่าลิมโฟไซต์ CD4 อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานกว่า 6 เดือน

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. สรุปสถานการณ์ผู้ป่วยเอดส์และการติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2558. เข้าถึงได้จาก <http://www.boe.moph.go.th/report.php?cat=19&year=2015> [เข้าถึงเมื่อ 11 พ.ค. 2558].
2. ปราโมทย์ ธีรพงษ์. เอดส์การรักษา ยา และวัคซีน. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: บริษัท ที.ซี.เอเซีย (2000) จำกัด; 2546: 32-87.
3. กนกพร จิรติกาลวงศ์. การดูแลรักษาผู้ป่วยโรคเอดส์แบบองค์รวม. พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา: ชานเมืองการพิมพ์; 2550: 1-55.
4. Choi J, Lee SJ, Lee YA, Maeng HG, Lee JK, Kang YW. Reference values for peripheral blood lymphocyte subsets in a healthy Korean population. *Immune Netw.* 2014; 14: 289-95.
5. Tosato F, Bucciol G, Pantano G, Putti MC, Sanzari MC, Basso G, et al. Lymphocytes subsets reference values in childhood. *Cytometry A* 2015; 87: 81-5.
6. ประพันธ์ ถานุภาค, มนูญ ลีเชวงวงศ์, ทวีทรัพย์ ศิริประภาศิริ, วสันต์ จันทราทิตย์, วิชัย เตชะสาธิต, อัจฉรา ธีรรัตน์กุล และคณะ. แนวทางการตรวจวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ระดับชาติ พ.ศ. 2553. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด; 2553.
7. รวงผึ้ง สุทเธนทร์, วรณี กัญญกมลกุล. เอชไอวีและพยาธิกำเนิดโรคเอดส์ (HIV and the Pathogenesis of AIDS). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัทโอกรูปเพรส จำกัด; 2555: 32-8.
8. Oyaizu N, McCloskey TW, Coronesi M, Chirmule N, Kalyanaraman VS, Pahwa S. Associated apoptosis in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from human immunodeficiency virus type-1 infected patients and in CD4 cross-linked PBMCs from normal individuals. *Blood.* 1993; 82: 3392-400.
9. นวพรรณ จารุรักษ์. การวิเคราะห์เม็ดเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติและกรณีศึกษา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัทเท็กซ์แอนด์เจอร์นัลพับลิเคชั่น จำกัด; 2545: 39-54.
10. นวพรรณ จารุรักษ์. เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ เทคโนโลยีแห่งปัจจุบันและอนาคต. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต* 2545; 4: 309-29.
11. Zhu Y, Cao X, Xu D. Detection of morphologic changes in peripheral mononuclear cells in hepatitis B virus infection using the Beckman coulter LH 750. *Lab Hematol.* 2011; 17: 22-6.
12. Zhu Y, Cao X, Tao G, Xie W, Hu Z, Xu D. The lymph index: a potential hematological parameter for viral infection. *Int J Infect Dis.* 2013; 17: e490-3.
13. ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. ค่าอ้างอิงของการทดสอบทางโลหิตวิทยา. เข้าถึงได้จาก <http://www.pathology.psu.ac.th/index.php/about/sectionservice/hematoservice/hematorefm> [เข้าถึงเมื่อ 1 ก.พ. 2558].
14. Xu D. Clinical applications of leukocyte morphological parameters. *Int J Pathol Clin Res.* 2015; 1: 002.
15. Bagdasaryan R, Zhou Z, Tierno B, Rosenman D, Xu D. Neutrophil VCS parameters are superior indicators for acute infection. *Lab Hematol.* 2007; 13: 12-6.
16. Mardi D, Fwity B, Lobmann R, Ambrosch A. Mean cell volume of neutrophils and monocytes compared with C-reactive protein, interleukin-6 and white blood cell count for prediction of sepsis and nonsystemic bacterial infections. *Int J Lab Hematol.* 2010; 32: 410-8.
17. Charafeddine KM, Youssef AM, Mahfouz RA, Saredine DS, Daher RT. Comparison of neutrophil volume distribution width to C-reactive protein and procalcitonin as a proposed new marker of

- acute infection. *Scand J Infect Dis.* 2011; 43: 777-84.
18. Celik IH, Demirel G, Aksoy HT, Erdeve O, Tuncer E, Biyikli Z, et al. Automated determination of neutrophil VCS parameters in diagnosis and treatment efficacy of neonatal sepsis. *Pediatr Res.* 2012; 71: 121-25.
 19. Lee AJ, Kim SG. Mean cell volumes of neutrophils and monocytes are promising markers of sepsis in elderly patients. *Blood Res.* 2013; 48: 193-7.
 20. Zhu Y, Cao X, Zhang K, Xie W, Xu D, Zhong C. Delta mean neutrophil volume (Δ MNV) is comparable to procalcitonin for predicting post-surgical bacterial infection. *J Clin Lab Anal.* 2014; 28: 301-5.
 21. Silva M, Fourcade C, Fartoukh C, Lenormand B, Buchonnet G, Callat MP, et al. Lymphocyte volume and conductivity indices of the haematology analyser Coulter GEN.S in lymphoproliferative disorders and viral diseases. *Clin Lab Haematol.* 2006; 28: 1-8.
 22. Hislop AD, Taylor GS, Sauce D, Rickinson AB. Cellular response to viral infection in human: lesson from Epstein-Barr virus. *Ann Rev Immunol.* 2007; 25: 587- 617.
 23. Swets JA, Pickett RM. Evaluation of diagnostic systems: methods from signal detection theory. New York; Academic Press, 1982.