**นิพนธ์ต้นฉบับ**

# การศึกษาความไวและความจำเพาะของปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนในการวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิดของโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

**ปกป้อง ณ สงขลา, พ.บ.[*],พรไพลิน สมพีร์วงศ์, พ.บ.[**], ชฎา ศาสตร์สุข, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)[***]**

[*]กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี,

[**]กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย,

[***]กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

**Received:** *August 16, 2019* **Revised:** *September 23, 2019* **Accepted:** *February 5, 2020*

## บทคัดย่อ

**ที่มาของปัญหา:** ภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิดเป็นสาเหตุสำคัญและเพิ่มอัตราการตายของทารก การวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อ โดยเฉพาะการเพาะเชื้อในเลือดนั้นทำได้ยากเนื่องจากการเพาะเชื้อในเลือดต้องได้ปริมาณเลือดในปริมาณที่เหมาะสม มีโอกาสปนเปื้อนได้ง่าย ต้องใช้เวลาในการรอผล ดังนั้นจึงมีการนำปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนจากการตรวจเลือดซึ่งได้ผลเร็วและราคาถูกมาช่วยในการวินิจฉัย

**วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาความไวและความจำเพาะของปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนกับภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิดของโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

**วิธีการศึกษา:** การศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบตัดขวาง (analytic cross sectional study) โดยการเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยทารกแรกเกิดที่สงสัยภาวะติดเชื้ออายุ 0-28 วันที่รักษาในหออภิบาลผู้ป่วยกุมารโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี โดยเก็บข้อมูลจากเวชระเบียนผู้ป่วยของโรงพยาบาลพระปกเกล้า ระหว่างวันที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ ถึงวันที่ 30 เดือนกันยายน พ.ศ. 2561

**ผลการศึกษา:** มีทารกเข้าร่วมการศึกษา 295 คน แบ่งเป็นทารกคลอดก่อนกำหนด 120 คน และทารกคลอดครบกำหนด 175 คน ผลเพาะเชื้อในเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 17 คน (ร้อยละ 5.7) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนในกลุ่มทารกแรกเกิดที่สงสัยภาวะติดเชื้อและมีผลเพาะเชื้อในเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรียมีค่าความไว (sensitivity) ร้อยละ 37.5 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 68.9 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มทารกแรกเกิดที่สงสัยภาวะติดเชื้อและไม่พบแบคทีเรียจากผลเพาะเชื้อในเลือด

**สรุป:** จากการศึกษานี้ปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนที่สูงกว่าปกติ ไม่สามารถนำมาเป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยการติดเชื้อในเลือดของทารกแรกเกิดที่สงสัยภาวะติดเชื้อได้ จำเป็นต้องมีการเก็บข้อมูลผู้ป่วยเพิ่มเติมเพื่อค้นหาปัจจัยอื่นๆ ที่สามารถนำไปใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในเลือดของทารกแรกเกิดต่อไป

**คำสำคัญ:** ทารกแรกเกิด, ภาวะติดเชื้อ, เม็ดเลือดขาวตัวอ่อน, ผลเพาะเชื้อในเลือด, แบคทีเรีย

**Original article**

# Sensitivity and Specificity of Immature Granulocyte Count for Diagnosis of Neonatal Sepsis at Prapokklao Hospital

**Pokpong Na Songkla, M.D.[*], Pornpailin Sompeewong, M.D.[**], Chada Sartsuk, B.Sc. (Medical Technology)[***]**

[*]Department of Pediatrics, Prapokklao Hospital, Chanthaburi Province

[**]Department of Pediatrics, King Chulalongkorn Memorial Hospital

[***]Department of Medical Technology, Prapokklao Hospital, Chanthaburi Province

**Abstract**

**Background :** Neonatal sepsis is a significant cause of morbidity and mortality in neonates. It is difficult to establish a diagnosis of neonatal sepsis. The gold standard for establishing sepsis is by microbiology method. Thus, using hematology parameters like immature granulocytes can be used as markers to diagnose sepsis more efficiently, faster and cost-effectively.

**Objectives:** To study the sensitivity and specificity of immature granulocytes in the diagnosis of neonatal sepsis at Prapokklao Hospital.

**Materials and methods:** This was an analytic cross-sectional study of neonatal sepsis at Prapokklao Hospital. Data was collected by using data records forms and inpatient data from Prapokklao Hospital between February 1st and September 30th 2018.

**Results:** Two hundred and ninety-five newborn patients were enrolled. 120 patients were preterm newborns, while 175 patients were term newborns. Total positive blood culture were 17 patients (5.7%). Sensitivity and specificity of %IG for diagnosis of neonatal sepsis was 37.5% and 68.9%, respectively. There was no statistical difference between immature granulocyte percentage of hemoculture-positive and hemoculture-negative suspected neonatal sepsis patients.

**Conclusion:** Immature granulocyte percentage cannot predict positive hemoculture in patients with suspected neonatal sepsis. Further studies must be done to explore alternative ways to help in the diagnosis of this condition.

**Keywords:** newborn, sepsis, immature granulocyte count, hemoculture, bacteria

**บทนำ**

การติดเชื้อในทารกแรกเกิดเป็นปัญหาที่มีความสำคัญ เพิ่มอัตราทุพลภาพและอัตราตายในทารกแรกเกิด ภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิด (neonatal sepsis) หมายถึงการติดเชื้อที่มีผลเพาะเชื้อในเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย (bacteremia) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ภาวะลำไส้เน่าอักเสบ (necrotizing enterocolitis) ปอดอักเสบ การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ และการติดเชื้อในข้อหรือกระดูก ซึ่งการติดเชื้อในทารกแรกเกิดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ การติดเชื้อในระยะแรก (early onset sepsis; EOS) คือ มีอาการก่อนอายุ 72 ชั่วโมง และการติดเชื้อในระยะหลัง (late onset sepsis; LOS) มีอาการหลังอายุ 72 ชั่วโมง ยกเว้นการติดเชื้อ Group B Streptococcus (GBS) หรือการติดเชื้อของ Streptococcus agalactiae ก่อนอายุ 7 วัน จัดเป็น EOS และหากติดเชื้อ GBS ภายในอายุ 7-89 วันจัดเป็น LOS[1]

เริ่มมีรายงานการเกิด Neonatal sepsis ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2513 พบอุบัติการณ์ 0.7-3.7 ต่อทารกแรกเกิดมีชีวิต 1,000 ราย โดยในประเทศกำลังพัฒนาพบ 49-170 รายต่อ 1,000 การเกิดมีชีพ หรือร้อยละ 3.0 -19.6 ของทารกที่รับไว้ในหออภิบาลทารกแรกเกิดวิกฤต (neonatal intensive care unit; NICU) การศึกษาในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ปี พ.ศ. 2538 ถึง พ.ศ. 2553 พบ Neonatal sepsis 2.7 ต่อ 1,000 การเกิดมีชีพ หรือร้อยละ 4.3 ของทารกที่รับไว้ใน NICU แม้ว่าปัจจุบันจะมีแนวทางป้องกันการเกิด Neonatal sepsis จากองค์กรต่าง ๆ เช่น Centers for Disease Control and Prevention (CDC), American Academy of Pediatrics (AAP) เป็นต้น ทำให้สามารถลดอุบัติการณ์การเกิด Neonatal sepsis ได้ แต่กลับพบอัตราตายของทารกที่มีภาวะ Neonatal sepsis เพิ่มมากขึ้นถึงร้อยละ 25[2] มีการศึกษาพบว่าทารกที่พบภาวะ Neonatal sepsis ที่มีการติดเชื้อรุนแรงหรือให้การรักษาช้าแต่รอดชีวิต อาจพบปัญหาด้านพัฒนาการและสติปัญญาตามมา ทำให้เมื่อสงสัยภาวะ Neonatal sepsis แพทย์จึงให้ยาปฏิชีวนะในการรักษาไปก่อน โดยไม่รอผลเพาะเชื้อในเลือด (hemoculture) ทำให้ได้รับยาปฏิชีวนะเกินความจำเป็น และสูญเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมาก นอกจากนี้ยังอาจเกิดผลเสียต่อทารก เช่น แพ้ยา เชื้อดื้อยา การทำลายแบคทีเรียปกติของทารก (normal flora) และเพิ่มความกังวลให้ญาติผู้ป่วย

โอกาสการติดเชื้อในเลือดของทารกแรกเกิดนั้นขึ้นกับโอกาสและระยะเวลาที่ทารกสัมผัสเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ได้รับ ระบบภูมิคุ้มกันของทารก และความรุนแรงของเชื้อก่อโรค (virulence) ภาวะ EOS ส่วนใหญ่เกิดจากการได้รับเชื้อจากมารดา ถ้าได้รับเชื้อจากเลือดของมารดาก่อนคลอดมักเป็นเชื้อ *Listeria* spp. หรือถ้าได้รับเชื้อในระหว่างการคลอด มักพบเป็นเชื้อ GBS ปัจจัยเสี่ยงต่อภาวะ EOS คือทารกคลอดก่อนกำหนด น้ำเดินก่อนคลอดนานกว่า 18 ชั่วโมง มารดามีไข้มากกว่า 38 องศาเซลเซียส ระหว่างคลอดมารดามีถุงน้ำคร่ำอักเสบ มารดามีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ พบเชื้อ GBS ในช่องคลอดของมารดาหรือมารดาเคยมีบุตรครรภ์ก่อนติดเชื้อ GBS ส่วนภาวะ LOS ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อม เช่น *Coagulase-negative Staphylococcus* (CoNS), เชื้อรูปแท่งแกรมลบ (*Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli*) หรือได้รับจากมารดาแต่มีอาการของโรคในภายหลัง ปัจจัยเสี่ยงของ LOS คือทารกเกิดก่อนกำหนด ได้รับสารอาหารทางหลอดเลือด การใช้เครื่องช่วยหายใจเป็นเวลานาน การใส่สายสวนหลอดเลือดดำ การใช้ยาลดกรดในกระเพาะอาหาร เป็นต้น สำหรับโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในปี พ.ศ. 2538 ถึง พ.ศ. 2553 รายงานเชื้อที่เป็นสาเหตุของ EOS และ LOS เหมือนกัน คือ เชื้อแกรมบวกที่พบบ่อย ได้แก่ CoNS และ Enterococcus เชื้อแกรมลบที่พบบ่อย เช่น *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* และ *Acinetobacter* spp. เป็นต้น[1]

การวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิดไม่มีเกณฑ์การวินิจฉัยที่ชัดเจน ส่วนใหญ่วินิจฉัยจากอาการซึ่งไม่จำเพาะเจาะจง โดยแบ่งการวินิจฉัยตามผลการเพาะเชื้อในเลือดได้ 2 แบบ คือ Clinical sepsis และ Culture-proven sepsis และในส่วนของ Culture-proven sepsis จำเป็นต้องอาศัย Hemoculture ในการวินิจฉัย แต่การตรวจนี้ต้องใช้เวลารอผลตรวจอย่างน้อย 48–72 ชั่วโมง และผลเพาะเชื้ออาจไม่พบเชื้อแบคทีเรียในทารกทุกรายที่สงสัยมีการติดเชื้อ[2]

จากการศึกษาของ Manucha V, Rusia U, Sikka M. พบว่าการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ที่ช่วยในการ

วินิจฉัยภาวะ Neonatal sepsis เช่น การใช้ C-reactive protein (CRP) ในการทำนายการติดเชื้อในเลือดของทารกแรกเกิดในต่างประเทศพบว่า มีความไวร้อยละ 76 และความจำเพาะร้อยละ 79 และการพิจารณา Hematologic parameters จาก Complete blood count (CBC) โดยการนับคะแนนจาก Total white blood cell (WBC), อัตราส่วนของ Immature ต่อ Total neutrophil count (I:T ratio), Band form count, Abnormal granule & vacuolization ของ WBC และปริมาณเกล็ดเลือด (platelets count) หากมีความผิดปกติมากกว่าเท่ากับ 3 ขึ้นไป จะมีความไวสูงถึงร้อยละ 86 และมี Negative predictive value สูงถึงร้อยละ 96 ในการทำนายภาวะติดเชื้อเมื่อเทียบกับผล Hemoculture, Immature granulocyte count (%IG) ในการทำนายการติดเชื้อในเลือดของทารกแรกเกิดพบว่ามีความไวและความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 92-96[2] เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อในเลือด เป็นต้น

จากการศึกษาของ M. Ali Ansari-Lari MD.[3] และคณะ ทำการศึกษาเรื่อง Immature granulocyte measurement using the sysmex XE-2100 ที่ Johns Hopkins Hospital ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ Immature granulocyte count เทียบกับการใช้ Total WBC และ Absolute neutrophil count (ANC) เพื่อช่วยในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในร่างกาย และการเพาะเชื้อขึ้นในเลือด โดยตรวจเลือดของผู้ป่วยกลุ่มที่มีภาวะติดเชื้อ 102 คน และผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่มีภาวะติดเชื้อ 69 คน โดยผลการศึกษาพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อตรวจพบร้อยละของ Immature granulocyte count (%IG) และปริมาณเม็ดเลือดขาวมีปริมาณที่สูงกว่าในกลุ่มที่ไม่มีภาวะติดเชื้อ จากการศึกษาสามารถนำเลือดไปเพาะเชื้อในเลือดได้ทั้งหมด 142 คน พบว่าเชื้อขึ้นในเลือดทั้งหมด 91 คน และเชื้อไม่ขึ้นในเลือดทั้งหมด 51 คน โดยใช้ค่าร้อยละของ IG > 1 และ IG > 3 ซึ่งหากมีร้อยละของ IG > 3 จะมีความจำเพาะต่อภาวะการติดเชื้อในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 รวมถึงตรวจพบปริมาณ Total WBC และ ANC ก็มีค่าสูงเช่นกัน ค่าเฉลี่ยของ Total WBC ในเชื้อขึ้นในเลือดคือ 10,300±7,300 และค่าเฉลี่ยในคนที่เชื้อไม่ขึ้นในเลือดคือ 10,200±5,500 แต่หากเป็นผู้ป่วยในกลุ่มอายุ 3-36 เดือน ปริมาณ Total WBC และ ANC ที่สูงขึ้นจะสามารถบอกถึงภาวะการติดเชื้อในเลือดได้ดีกว่าปริมาณของ Band form count

Kelly G. Nigro MD.[4] และคณะ ทำการศึกษาเรื่อง Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis ซึ่งเป็นการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการอ่านค่าร้อยละของ Immature granulocyte count (IG) จากการนับจำนวนผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยนักเทคนิคการแพทย์ (technician) และ Hematologist resident และการนับโดยใช้เครื่อง Automated Sysmex XE-2100 เพื่อช่วยในการวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อในเลือด ซึ่งผลการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยกลุ่มที่มี Positive blood culture จะมีค่าของ Immature granulocyte count ที่สูง ทั้งแบบ Manual IG count และ Automated IG count (พบความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 80 แต่ความไวต่ำเพียงแค่ร้อยละ 33) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Iddles C [5]และคณะ ทำการศึกษาเรื่อง Evaluation of the immature granulocyte count in the diagnosis of sepsis using the sysmex XE-2100 analyser ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของ Immature granulocyte count, IG ratio (%IG/ total WBC) และ IT ratio (%IG/total neutrophil count) เพื่อช่วยในการวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อ เปรียบเทียบกับ Clinical, Hemoculture และ ค่า CRP ซึ่งผลการศึกษาพบว่าในกลุ่มตัวอย่างที่มีอาการติดเชื้อ ตรวจพบค่า Immature granulocyte count (โดยมีค่าความไวร้อยละ 74 และความจำเพาะร้อยละ 35) และ I:T ratio (โดยมีค่าความไวร้อยละ 74 และความจำเพาะร้อยละ 50) ที่มีค่าสูงและตรวจพบว่ามี Positive hemoculture ร่วมด้วย

ดังนั้นการศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อประเมินความไวและความจำเพาะของร้อยละของ Immature granulocyte count ในการช่วยวินิจฉัยภาวะ Neonatal sepsis ซึ่งยังไม่ปรากฏการศึกษานี้ในประเทศไทย

## วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

### วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาความไวและความจำเพาะของปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนในการวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิดของโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

**วัตถุประสงค์รอง**

1. เพื่อศึกษาอุบัติการณ์ (incidence) ของภาวะการติดเชื้อในทารกแรกเกิดโดยใช้ปริมาณเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนร่วมกับการตรวจร่างกายและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ในทารกที่สงสัยภาวะการติดเชื้อในโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการติดเชื้อในทารกแรกเกิดในโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

**วัสดุและวิธีการ**

**รูปแบบงานวิจัย:** รูปแบบการวิจัยเป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบตัดขวาง (analytic cross sectional study)

**ประชากรที่ศึกษา:** ประชากร ได้แก่ ทารกแรกเกิดที่อายุน้อยกว่า 28 วันทั้งที่คลอดครบกำหนดและคลอดก่อนกำหนด กลุ่มตัวอย่างได้แก่ ทารกแรกเกิดที่อายุน้อยกว่า 28 วันทั้งที่คลอดครบกำหนดและคลอดก่อนกำหนด ร่วมกับสงสัยภาวะติดเชื้อที่ได้รับการรักษาในโรงพยาบาล พระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี ระหว่างวันที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ ถึงวันที่ 30 เดือนกันยายน พ.ศ. 2561

**เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าทำการศึกษา (inclusion criteria):** ทารกแรกเกิดที่อายุน้อยกว่า 28 วันที่มีอาการเข้าได้กับภาวะติดเชื้อ โดยกลุ่มตัวอย่างทุกคนต้องได้รับการยินยอมจากผู้ปกครองเนื่องจากยังไม่บรรลุนิติภาวะ

**เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (exclusion criteria):** Down syndrome, Congenital leukemia, Suspected TORCH infection, Suspected inherited bone marrow failure syndrome, มีประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนหน้านี้

**กลุ่มตัวอย่าง:** ขนาดตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้คำนวณด้วยโปรแกรม StatCal ของ EpiInfo Version 6 ของ CDC โดยใช้การคำนวณแบบงานวิจัยชนิด 1:1 ratio of case to crossectinal study โดยกำหนด power 80%, 95% confidence interval และ Risk ratio เท่ากับ 2 โดยอ้างอิงค่า Disease in exposed จากอุบัติการณ์การพบทารกแรกเกิดสงสัยการติดเชื้อในโรงพยาบาลพระปกเกล้าในช่วง 3 เดือนก่อนหน้าเริ่มการวิจัย ได้จำนวนตัวอย่าง อย่างน้อย 280 คน โดยพิจารณาเก็บตัวอย่างเพิ่มอีกร้อยละ 10 เนื่องจากอาจมีกลุ่มตัวอย่างบางรายที่อาจพบโรคร่วมหรืออาการที่เข้าได้กับเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา ปรากฏขึ้นมาภายหลัง

**เครื่องมือในการรวบรวมข้อมูลวิจัย:** ตารางบันทึกข้อมูลวิจัย

**การรวบรวมข้อมูล:** เริ่มตั้งแต่วันที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ ถึงวันที่ 30 เดือนกันยายน พ.ศ. 2561 เก็บข้อมูลจากผู้ป่วยที่เข้าได้กับเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้ารับการศึกษา โดยใช้ข้อมูลจากแฟ้มบันทึกข้อมูลผู้ป่วยขณะเข้าทำการรักษาในโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

**การพิทักษ์สิทธิ์ของกลุ่มตัวอย่าง:** คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการพิทักษ์สิทธิ์ของกลุ่มตัวอย่าง โดยการศึกษานี้ได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในมนุษย์จังหวัดจันทบุรี/เขตสุขภาพที่ 6 ตามหนังสืออนุมัติเลขที่ 057 ปี พ.ศ. 2561

วิธีการดำเนินงานวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. สร้างแบบบันทึกข้อมูล และหนังสือชี้แจงวัตถุประสงค์งานวิจัย

2. ขออนุมัติการทำวิจัยเสนอคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จังหวัดจันทบุรี

3. คัดเลือกทารกแรกเกิดที่สงสัยภาวะติดเชื้อที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤติทารกแรกเกิด (NICU) หอผู้ป่วยทารกแรกเกิด (sick newborn) และหอผู้ป่วยกุมารเวชกรรมโรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี โดยกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการคัดเลือกทุกราย จะได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะในวันแรกที่เริ่มมีอาการ

4. ค้นหาประวัติจากเวชระเบียนขณะตั้งครรภ์ของมารดาว่ามีภาวะแทรกซ้อนใด ๆ หรือไม่และทารกเคยได้รับการรักษาด้วยวิธีการใด เช่น การได้รับ Surfactant การใส่ท่อช่วยหายใจ เป็นต้น มาก่อนหรือไม่

5. เจาะเลือดส่งตรวจ CBC, Immature granulocyte count, Hemoculture ทุกราย และตรวจ Urine culture, Cerebrospinal fluid culture, Fungal culture ในรายที่สงสัยภาวะ LOS และตรวจนับค่า I:T ratio ทุกราย โดยแพทย์ประจำบ้านกุมารเวชศาสตร์โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี โดยจะใช้ปริมาณเลือดทั้งหมด 1.5–2 มล. ปัสสาวะ 0.5-1 มล. และ น้ำไขสันหลัง

(หากมีข้อบ่งชี้ในการทำ) 0.5-1 มล.

6. บันทึกประวัติและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ ลงในแบบฟอร์มที่กำหนดไว้

7. ผู้วิจัยเก็บรวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกและนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อหาวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

**การวิเคราะห์ข้อมูล:** ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับข้อมูลเชิงพรรณนา ใช้ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับข้อมูล Parametric และค่ามัธยฐาน (median) และพิสัยควอไทล์ สำหรับข้อมูล Non-parametric ในส่วนของสถิติวิเคราะห์นั้น ใช้ Independent t test เปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มที่มีการแจกแจงปกติ และใช้ Mann-Whitney U-test เปรียบเทียบข้อมูลที่แจกแจงไม่ปกติ รวมทั้งใช้ Fisher's Exact test เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่ม ส่วนข้อมูล ความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), ทำนายผลบวก (positive predictive value), ทำนายผลลบ (negative predictive value) และความแม่นยำ (accuracy) ใช้ Cross-tabulation ในการสร้างตาราง 2×2 และคำนวณค่าดังกล่าว

## ผลการศึกษา

ข้อมูลพื้นฐานทางประชากร: ข้อมูลผู้ป่วยทารกแรกเกิดที่มีอายุตั้งแต่ 0-28 วันที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤติทารกแรกเกิด (NICU) หอผู้ป่วยทารกแรกเกิด (sick newborn) และหอผู้ป่วยกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่วันที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ ถึงวันที่ 30 เดือนกันยายน พ.ศ. 2561 พบผู้ป่วยเข้าเกณฑ์การศึกษาทั้งสิ้น จำนวน 295 คน เป็นทารกคลอดครบกำหนด 175 คน และทารกคลอดก่อนกำหนด 120 คน เมื่อพิจารณาข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ อายุครรภ์ของมารดาขณะคลอด ปัจจัยเสี่ยงขณะตั้งครรภ์ของมารดา และปัจจัยเสี่ยงของทารก พบว่ากลุ่มทารกคลอดครบกำหนด และทารกคลอดก่อนกำหนด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางด้านปัจจัย อายุครรภ์ของมารดาขณะคลอด (median 38.8 และ 33.8; $p$ = 0.01) ประวัติมารดามีน้ำเดินก่อนคลอด (prolonged premature ruptured of membranes; PPROM) มากกว่า 18 ชั่วโมง (median 2 และ 7; $p$ = 0.03) ประวัติมารดาได้รับยา Dexamethasone ก่อนคลอด (median 0 และ 10; $p$ < 0.01)

ส่วนอาการแสดงและการวินิจฉัยการติดเชื้อพบปอดอักเสบในกลุ่มทารกคลอดครบกำหนดและทารกคลอดก่อนกำหนดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$ = 0.02) และการวินิจฉัยการติดเชื้อ (neonatal sepsis) ในกลุ่มทารกคลอดครบกำหนดและทารกคลอดก่อนกำหนด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$ = 0.02) และภาวะหายใจลำบากในกลุ่มทารกคลอดครบกำหนดและทารกคลอดก่อนกำหนด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$ < 0.01) ดังแสดงในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** ข้อมูลการวินิจฉัยและอาการแสดงของภาวะติดเชื้อ (n=295)

| ตัวแปร | กลุ่มประชากร | | *p* - value |
|---|---|---|---|
| | ทารกคลอดก่อนกำหนด, n (%) | ทารกคลอดครบกำหนด, n (%) | |
| ***การวินิจฉัย*** **(Diagnosis)** | | | |
| **Congenital pneumonia** | 35 (29.2) | 76 (43.4) | 0.02 |
| **Neonatal sepsis** | 84 (70) | 98 (56) | 0.02 |
| **Necrotizing enterocolitis** | 1 (0.8) | 1 (0.6) | 1.00 |
| ***อาการแสดงของภาวะติดเชื้อ*** | | | |
| **Respiratory distress** | 55 (45.8) | 24 (13.7) | < 0.01 |
| **Hyperthermia** | 5 (4.2) | 19 (10.9) | 0.05 |
| **Hypoglycemia** | 10 (8.3) | 11 (6.3) | 0.5 |
| **Unexplained metabolic acidosis** | 1 (0.8) | 6 (3.4) | 0.25 |
| **Feeding intolerance** | 3 (2.5) | 8 (4.6) | 0.53 |

จากข้อมูลเกี่ยวกับหัตถการ การให้สารอาหารทางหลอดเลือดดำ (total parenteral nutrition; TPN) และระยะเวลานอนโรงพยาบาลในทารกที่สงสัยการติดเชื้อ พบว่ากลุ่มทารกคลอดครบกำหนดและทารกคลอดก่อนกำหนด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในด้านระยะเวลาการให้ TPN การใส่สายสวนหลอดเลือด (central line catheter) ระยะเวลางดน้ำงดอาหาร (NPO time) ระยะเวลานอนโรงพยาบาล การใส่เครื่องช่วยหายใจ และการรักษาด้วยสารลดแรงตึงผิว (surfactant) อย่างชัดเจน ($p < 0.01$)

เมื่อพิจารณาข้อมูลผลตรวจทางห้องปฏิบัติการและผลเชื้อในเลือดพบว่าปริมาณเม็ดเลือดขาว (WBC) และปริมาณเม็ดเลือดขาวนิวโตรฟิว (ANC) ในทารกที่คลอดครบกำหนดและทารกคลอดก่อนกำหนดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$ <0.01) สำหรับผลเพาะเชื้อแบคทีเรียจากสิ่งส่งตรวจต่างๆ พบว่าผลเพาะเชื้อจากเลือด เสมหะ และปัสสาวะ ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p$ = 0.32, $p$ = 0.37 และ $p$ = 0.61) เมื่อเทียบกับทารกคลอดก่อนกำหนด ส่วนผลเพาะเชื้อในน้ำไขสันหลังไม่สามารถประเมินได้ เนื่องจากไม่มีกลุ่มที่พบเชื้อในน้ำไขสันหลัง ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการและผลเพาะเชื้อแบคทีเรีย (n=295)

| ตัวแปร | ประชากรตัวอย่าง | | *p* - valve |
|---|---|---|---|
| | ทารกคลอดก่อนกำหนด | ทารกคลอดครบกำหนด | |
| ***ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ*** | | | |
| WBC (/mm$^3$), median (Q1, Q3) | 12,150 (8,100 , 15,300) | 17,600 (12,500, 24,300) | < 0.01 |
| Platelet (/mm$^3$), median (Q1, Q3) | 261,000 (211,500, 315,000) | 280,000 (229,000, 326,000) | 0.06 |
| Hemoglobin (g/L), median (Q1, Q3) | 16.5 (14.8, 17.7) | 16.4 (14.7, 17.8) | 0.96 |
| Hematocrit (%), median (Q1, Q3) | 49.8 (44.5, 53.4) | 48.9 (44.2, 53.9) | 0.48 |
| I:T ratio, median (Q1, Q3) | 0.12 (0.04, 0.2) | 0.08 (0.04, 0.16) | 0.41 |
| ANC (/mm$^3$), median (Q1, Q3) | 5,400 (3,100, 9,200) | 10,800 (7,000 ,16,300) | < 0.01 |
| Hemoculture | | | |
| Negative | 111 (92.5) | 167 (95.4) | |
| Positive | 9 (7.5) | 8 (4.6) | 0.32 |
| Tracheal suction culture | | | |
| Negative | 67 (55.8) | 70 (40) | |
| Positive | 8 (6.7) | 4 (2.3) | 0.37 |
| CSF Culture | | | |
| Negative | 9 (7.5) | 29 (16.6) | |
| Positive | 0 | 0 | NA |
| Urine culture | | | |
| Negative | 7 (5.8) | 25 (14.3) | |
| Positive | 2 (1.7) | 4 (2.3) | 0.61 |

จากข้อมูลผลเพาะเชื้อในเลือดพบทารกที่มีเชื้อแบคทีเรียขึ้นในเลือดเพียง 17 คนจากทารกแรกเกิดทั้งหมด 295 คน คิดเป็นร้อยละ 5.7 โดยพบในทารกคลอดก่อนกำหนด 9 คน (ร้อยละ 7.5) และทารกคลอดครบกำหนด 8 คน (ร้อยละ 4.6) โดยพบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด 11 คน (ร้อยละ 64.7) และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 6 คน (ร้อยละ 35.3)

เชื้อที่พบในทารกคลอดก่อนกำหนด มากที่สุดคือ *Staphylococcus epidermidis* (3 ราย) รองลงมาเป็น *Haemophilus influenzae* (2 ราย) และ *Klebsiella pneumoniae* (Extended spectrum beta-lactamase; ESBL), *Klebsiella pneumoniae* (non-ESBL), *Bacillus* spp. อย่างละ 1 ราย

เชื้อที่พบในทารกคลอดครบกำหนด มากที่สุดคือ *Staphylococcus epidermidis* (4 ราย) รองลงมาเป็น *Staphylococcus aureus* (2 ราย) และ *Klebsiella pneumoniae* (Extended spectrum beta-lactamase; ESBL), *Klebsiella pneumoniae* (non-ESBL), *Strepto-*

*coccus viridans*. อย่างละ 1 ราย

เมื่อเปรียบเทียบผลตรวจทางห้องปฏิบัติการระหว่างกลุ่มผลเพาะเชื้อไม่ขึ้นเชื้อก่อโรค (hemoculture negative) และกลุ่มผลเพาะเชื้อพบเชื้อก่อโรค (hemoculture positive) ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในด้านร้อยละของ Immature granulocyte, WBC และ ANC ($p$ = 0.77, 0.15 และ 0.44 ตามลำดับ) แต่เมื่อพิจารณาด้าน Platelet count พบกว่ากลุ่มผลเพาะเชื้อพบเชื้อก่อโรค มีเกล็ดเลือดต่ำกว่ากลุ่มผลเพาะเชื้อไม่ขึ้นเชื้อก่อโรค อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$ = 0.005)

**ตารางที่ 3** เปรียบเทียบผลตรวจค่าร้อยละของ Immature granulocyte (IG), WBC, platelet, ANC ระหว่างกลุ่มผลเพาะเชื้อไม่ขึ้นเชื้อและกลุ่มผลเพาะเชื้อพบเชื้อก่อโรค

| | Hemoculture negative (N=278) | Hemoculture positive (N=17) | *p*-value |
|---|---|---|---|
| **Maturity: Term (%)** | 267/278 (93) | | |
| **%immature granulocyte (%), median (Q1, Q3)** | (0.8, 3.7) 14,900 | 8/17 (47) | 0.77 |
| **WBC (/mm$^3$), median (Q1, Q3)** | 14,900 (10,175, 21,300) | 1.9 (0.85, 3.2) | 0.15 |
| **ANC (/mm$^3$), median (Q1, Q3)** | 8,500 (4,350, 14,425) | 12,500 (7,450, 19,600) | 0.44 |
| **Platelet (/mm$^3$), median (Q1, Q3)** | 274,000 (225,500, 326,000) | 229,000 (138,500, 272,000) | 0.005 |

เมื่อพิจารณาค่าร้อยละของ Immature granulocyte (IG) ร่วมกับผลเพาะเชื้อในเลือดที่ขึ้นเชื้อแบคทีเรีย พบว่า หากเทียบกับผู้ป่วยทารกแรกเกิดทุกรายที่สงสัยภาวะติดเชื้อ รวมทารกคลอดครบกำหนดและคลอดก่อนกำหนด (295 คน) ค่าร้อยละ IG มีค่าความไวร้อยละ 29.4 และค่าความจำเพาะร้อยละ 68.3 ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 5.4 ค่าทำนายผลลบร้อยละ 94.1 และค่าความแม่นยำร้อยละ 66.1 ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อที่มีผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบร้อยละของ IG ด้วย Fisher's Exact test ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างกลุ่มผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรียและไม่ขึ้นเชื้อแบคทีเรีย ($p$ = 1.0)

เมื่อพิจารณาเฉพาะทารกคลอดครบกำหนด (รวม 175 คน) ค่าร้อยละของ IG มีค่าความไวร้อยละ 37.5 และค่าความจำเพาะร้อยละ 68.9 ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 5.5 ค่าทำนายผลลบร้อยละ 94.1 และค่าความแม่นยำร้อยละ 67.4 ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อที่มีผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบร้อยละของ IG ด้วย Fisher's Exact test ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างกลุ่มผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรียและไม่ขึ้นเชื้อแบคทีเรีย ($p$ = 0.71)

เมื่อพิจารณาเฉพาะทารกคลอดก่อนกำหนด (รวม 120 คน) ค่าร้อยละของ IG มีค่าความไวร้อยละ 22.2 ค่าความจำเพาะร้อยละ 67.6 ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 5.3 ค่าทำนายผลลบร้อยละ 91.5 และค่าความแม่นยำร้อยละ 65 ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อที่มีผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย ตามตารางที่ 4 และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบร้อยละของ IG ด้วย Fisher's Exact test ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างกลุ่มผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรียและไม่ขึ้นเชื้อแบคทีเรีย ($p$ = 0.72)

**ตารางที่ 4** การใช้ %IG ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อที่มีผลเพาะเชื้อในเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย

| | Sensitivity (%) | Specificity (%) | PPV (%) | NPPV (%) | Accuracy | *p*-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Term (N=175)** | 37.5 | 68.9 | 5.5 | 94.1 | 67.4 | 0.71 |
| **Preterm (N=120)** | 22.2 | 67.6 | 5.3 | 91.5 | 65 | 0.72 |
| **Total (N=295)** | 29.4 | 68.3 | 5.4 | 94.1 | 66.1 | 1.0 |

## อภิปรายผล

จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบว่าร้อยละ IG ≥ 3 กับภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิดที่มีผลเพาะเชื้อขึ้นเชื้อแบคทีเรียไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบการศึกษาก่อนหน้านี้ของ M. Ali Ansari-Lari MD.[16] และคณะ ทำการศึกษาเรื่อง Immature granulocyte measurement using the sysmex XE-2100 ซึ่งเป็นการศึกษาโดยใช้ Immature granulocyte count เทียบกับการใช้ Total WBC และ ANC เพื่อช่วยในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในทารก 293 คน พบว่าปริมาณของร้อยละของ IG ≥ 3 จะมีความจำเพาะต่อภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดมากกว่าร้อยละ 90 เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Kelly G. Nigro MD.[13] และ Iddles C[17] แต่เนื่องจากการศึกษาดังกล่าวไม่ได้กำหนดช่วงอายุที่ชัดเจนเหมือนกับการศึกษาครั้งนี้ จึงมีโอกาสที่ผลจะแตกต่างกันได้ เนื่องจากผลความไวของการศึกษาครั้งนี้ ได้ผลเพียงร้อยละ 29.4, 37.5, 22.2 ในกลุ่มของทารกทั้งหมด ทารกคลอดครบกำหนด และทารกคลอดก่อนกำหนดที่มีผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย ตามลำดับ และผลความจำเพาะของการศึกษาครั้งนี้ ได้ผลเพียงร้อยละ 68.3, 68.9, 67.6 ในกลุ่มของทารกทั้งหมด ทารกคลอดครบกำหนด และทารกคลอดก่อนกำหนดที่มีผลเพาะเชื้อในกระแสเลือดขึ้นเชื้อแบคทีเรีย ตามลำดับ ซึ่งทั้งผลความไวและความจำเพาะของการศึกษาครั้งนี้ มีค่าสูงไม่เพียงพอที่จะใช้ค่าร้อยละของ IG ในการช่วยวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิดได้ ผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่า หากในอนาคตมีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของร้อยละของ IG ในทารกแรกเกิดปกติที่ไม่มีภาวะติดเชื้อเทียบกับทารกแรกเกิดที่สงสัยภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิตว่ามีค่าร้อยละของ IG แตกต่างกันอย่างไร เพื่อหาค่าร้อยละของ IG ที่เป็นค่าที่มีความจำเพาะมากที่สุดในกลุ่มที่สงสัย ภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิด ซึ่งจะมีประโยชน์มากขึ้น ในการช่วยวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิดต่อไป แต่เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดทางเวลา จึงไม่สามารถทำการศึกษาได้ และมีข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้และข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป คือการศึกษานี้พบว่าการใช้ร้อยละของ IG ≥ 3 ไม่สัมพันธ์กับภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิด จะเห็นได้ว่าการใช้ ร้อยละของ IG เพียงตัวเดียว ไม่สามารถนำมาใช้วินิจฉัยได้ ดังนั้นการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิด จึงควรใช้อาการอาการแสดง และตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ร่วมด้วย เพื่อความถูกต้องในการวินิจฉัย จากการวิจัยนี้ผู้วิจัยขอเสนอให้ผู้ทำวิจัยเรื่องนี้ต่อไปในอนาคต รวบรวมปัจจัยอื่นๆ ที่สามารถทำนาย การเกิดภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิดมาใช้ในการพัฒนาเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในทารกแรกเกิดร่วมกับร้อยละของ IG เพื่อความแม่นยำในการวินิจฉัยต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง


1. Thatreemontreechai A, Vejvanishsanong P, Neonatal infection. Bangkok: Sahamitpattana Printing; 2018..
2. Manucha V, Rusia U, Sikka M, Faridi MM, Madan N. Utility of haematological parameters and Creactive protein in the detection of neonatal sepsis. J Paediatr Child Health 2002;38:459-64.
3. Ansari-Lari MA, Kickler TS, Borowitz MJ. Immature granulocyte measurement using the sysmex XE-2100. relationship to infection and sepsis. Am J Clin Pathol 2003;120:795-99.
4. Nigro KG , O'Riordan M, Moloy EJ, Walsh MC, Sandhaus LM. Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. Am J Clin Pathol 2005;123:618-24.
5. Iddles C, Taylor J, Cole R, Hill FGH. Evaluation of the immature granulocyte count in the diagnosis of sepsis using the sysmex XE-2100 analyser. Sysmex Journal International 2007;17(Suppl1): 20-9.
6. Suandok P. Neonatal infection. PIDST Gazette 2015;21(4):2-3.
7. Cloherty JP, Eichenwald EC, Hansen AR, Stark AR. Manual of neonatal care. 7th ed. Philadelphia: LWW; 2012.
8. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. J Pediatr 1988; 112:761-7.
9. Fowlie PW, Schmidt B. Diagnostic tests for bacterial infection from birth to 90 days: a systematic review. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 1998;78:F92-8.
10. Weiland TH, Kalkman H, Heihn H. Evaluation of the automated immature granulocyte count (IG) on Sysmex

XE-2100 automated haematology analyser vs. visual microscopy (NCCLS H20-A). Sysmex Journal International 2002;12:63-70.

11. Ansari-Lari MA, Kickler TS, Borowitz MJ. Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100: relationship to infection and sepsis. Am J Clin Pathol 2003;120:795-9.
12. Gregory J, Hey E. Blood neutrophil response to bacterial infection in the first month of life. Arch Dis Child 1972;47:747-53.
13. Punnahitanont S. Highlights in neonatal problems. Bangkok: Active printing, 2018.
14. Angus DC. Linde-Zwirbe WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States : analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med 2001;29:1303-10.
15. Ferrieri P, Wallen LD. Neonatal bacterial sepsis. In: Gleason CA, Devaskar SU, editors. Avery's diseases of the newborn. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. p.538-50.
16. Stoll BJ, Shane AL. Infections of the neonatal infant. In: Kliegman RM, Stanton BMD, St. Geme J, Schor NF, editors. Nelson textbook of Pediatrics. 20th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. p.909-25.