

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกีในผู้ใหญ่ด้วยวิธีการขยายสารพันธุกรรม  
ของเชื้อไวรัสเดงกีจากน้ำลายและ/หรือเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม



นาย จักรพันธ์ ภูไพบูลย์

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์


คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-53-2927-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DIAGNOSIS OF DENGUE INFECTION IN ADULT BY REVERSE-TRANSCRIPTION  
POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR) FROM  
SALIVA AND/OR BUCCAL MUCOSAL CELLS



Mr. Jakrapun Pupaibool

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-53-2927-4



จักรพันธ์ ภูไพบูลย์ : การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกีในผู้ใหญ่ด้วยวิธีการขยายสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเดงกีจากน้ำลายและ/หรือเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม (DIAGNOSIS OF DENGUE INFECTION IN ADULT BY REVERSE-TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR) FROM SALIVA AND/OR BUCCAL MUCOSAL CELLS)  
 อ.ที่ปรึกษา : ผศ.นพ.วันลา กุลวิจิต; 60 หน้า. ISBN 974-53-2927-4.

ความสำคัญและที่มา : การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกีจากสิ่งส่งตรวจอื่นที่ไม่ใช่เลือดด้วยวิธีการขยายสารพันธุกรรม (RT-PCR) และการตรวจหาแอนติบอดีมีความจำเพาะเจาะจงและความไวในการวินิจฉัยสูง แต่ยังไม่มีการศึกษาใดในผู้ใหญ่ที่ใช้น้ำลายและเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มเป็นสิ่งส่งตรวจ

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาความไว, ความจำเพาะ, positive และ negative predictive value ของวิธีการขยายสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเดงกีจากน้ำลาย และ/หรือ เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม

ระเบียบวิธีวิจัย : เก็บน้ำลาย และเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มจากผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นไข้เลือดออก เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกีโดยวิธีขยายสารพันธุกรรมโดยเทียบกับวิธีการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเดงกีโดยวิธี ELISA จากเลือด

ผลการวิจัย : ความไวในการวินิจฉัยโรคโดยใช้น้ำลาย และเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มเป็น 42.86% และ 35.71% ตามลำดับ ความจำเพาะในการวินิจฉัยโดยใช้สิ่งส่งตรวจทั้งสองชนิดเท่ากันคือ 95.83% เมื่อใช้สิ่งส่งตรวจทั้งสองชนิดร่วมกันทำให้ความไวในการวินิจฉัยเพิ่มเป็น 54.76% ความจำเพาะ 91.67% ความไวในการตรวจจะเพิ่มขึ้นอีกเมื่อใช้สิ่งส่งตรวจที่เก็บเฉพาะในวันก่อนไข้ลง

สรุป : วิธี RT-PCR จากน้ำลายและเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีได้ดี โดยเฉพาะถ้าเก็บสิ่งส่งตรวจดังกล่าวในวันก่อนไข้ลง

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....จักรพันธ์ ภูไพบูลย์.....  
 สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
 ปีการศึกษา.....2548..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... -.....



# # 4774711530 : MAJOR MEDICINE (INFECTIOUS DISEASE)

KEYWORD : DENGUE INFECTION / RT-PCR / SALIVA / BUCCAL MUCOSAL CELLS

JAKRAPUN PUPAIBOOL : DIAGNOSIS OF DENGUE INFECTION IN ADULT BY REVERSE-TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR) FROM SALIVA AND/OR BUCCAL MUCOSAL CELLS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. WANLA KULWICHIT, MD. 60 pp. ISBN 974-53-2927-4.

Background : Diagnosis of dengue infection by ELISA and RT-PCR using non-blood samples were performed with high specificity and sensitivity. No previous study using saliva and buccal mucosal cells as the clinical specimens for dengue RT-PCR.

Objective : To determine the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of RT-PCR using saliva and/or buccal mucosal cells for diagnosis of dengue infection.

Study and Methods : Saliva and buccal mucosal cells were collected from patients whom were suspected of dengue infection for diagnosis of dengue infection by RT-PCR comparing with standard dengue diagnosis by ELISA method using serum samples.

Results : The sensitivity using saliva and buccal mucosal cells were 42.86% and 35.71%, respectively. The specificity of each type of oral specimens were 95.83%. Using both types of oral specimens increased the sensitivity to 54.76% and gave the specificity 91.67%. The sensitivity increased if using specimens collecting during fever.

Conclusions : RT-PCR using saliva and buccal mucosal cells can be utilized for dengue infection, particularly when specimens are collected early in the course of illness.

Department.....Medicine.....	Student's signature.. <i>Jakrapun Pupaibool</i>
Field of study.....Medicine.....	Advisor's signature.. <i>Wanla Kulwichit</i>
Academic year.....2005.....	Co-Advisor's signature..... ~ .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วันลา กุลวิจิต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่มีประโยชน์ต่อการวิจัยด้วยดีมาตลอด

ขอขอบพระคุณผู้ที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิจัยได้แก่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร	ประธานคณะกรรมการบัณฑิตศึกษา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์มนต์ชัย ชลาประวรัตน์	กรรมการบัณฑิตศึกษา
รองศาสตราจารย์นาวาโทนายแพทย์ชิษณุ พันธุ์เจริญ	กรรมการบัณฑิตศึกษา
รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงพรพรรณพิศ สุวรรณกุล	หัวหน้าสาขาวิชาโรคติดเชื้อ
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์	ภาควิชาอายุรศาสตร์
	คณะแพทยศาสตร์
พยาบาลและผู้ช่วยพยาบาลผู้ป่วยใน	ภาควิชาอายุรศาสตร์
	โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
แพทย์หญิงเลลานี ไพฑูรย์พงษ์	แพทย์ประจำบ้านต่อยอด
	สาขาวิชาโรคติดเชื้อ
แพทย์หญิงอภิษมา พึ่งจิตต์ประไพ	แพทย์ประจำบ้านต่อยอด
	สาขาวิชาโรคติดเชื้อ
นางสาวอัญชลี พัตราภรณ์	เจ้าหน้าที่งานบัณฑิตศึกษา
	ภาควิชาอายุรศาสตร์

ศูนย์วิทยุโทรพยาธิวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฏ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.4 รูปแบบการวิจัย.....	2
1.5 สมมุติฐานของการวิจัย.....	3
1.6 กรอบความคิดในการทำวิจัย.....	3
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....	3
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ความรู้พื้นฐานและระดับวิทยาเกี่ยวกับเชื้อไวรัสเดงกี.....	5
2.2 พยาธิกำเนิดและอาการ/อาการแสดงของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	5
2.3 การเปลี่ยนแปลงทางห้องปฏิบัติการที่สำคัญ.....	8
2.4 การวินิจฉัยโรคไขเลือดออกเดงกี/ไขเลือดออกเดงกีซ็อค.....	9
2.5 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัย โรคติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	10



	หน้า
3 การทำ RT-PCR.....	21
3.1 หลักทั่วไปของกระบวนการ RT-PCR.....	21
3.2 ขั้นตอนการทำ RT-PCR สำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกี.....	21
4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	24
4.1 รูปแบบการวิจัย.....	24
4.2 ระเบียบวิธีวิจัย.....	24
4.3 วิธีและขั้นตอนการทำวิจัย.....	26
4.4 การสังเกตและการวัด.....	27
4.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	27
4.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	27
4.7 ปัญหาทางจริยธรรม.....	28
4.8 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	28
4.9 อุปสรรคที่คาดว่าจะเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข.....	28
4.10 การบริหารงานวิจัยและตารางปฏิบัติงาน.....	29
4.11 งบประมาณ.....	29
5 ผลการวิจัย.....	31
5.1 ข้อมูลของผู้ป่วยที่เข้าการศึกษา.....	31
5.2 ผลการศึกษาการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีจากน้ำลาย.....	34
5.3 ผลการศึกษาการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม.....	34
5.4 ผลการศึกษาการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีจากน้ำลายและ/หรือ เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม.....	34
6 อภิปรายผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	43
6.1 อภิปรายข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย.....	43
6.2 อภิปรายผลตรวจทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วย.....	44
6.3 อภิปรายผลการศึกษา.....	45
6.4 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	45
6.5 ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัยและการนำไปใช้.....	46
6.6 การศึกษาในอนาคต.....	46
รายการอ้างอิง.....	48



ภาคผนวก.....	52
ภาคผนวก ก. ข้อมูลสำหรับผู้ป่วย.....	53
ภาคผนวก ข. คำยินยอมจากผู้ป่วย.....	55
ภาคผนวก ค. แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย.....	57
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	60



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญญัตราสาร

ตารางลำดับที่	หน้า
2.1 ร้อยละของผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีที่อายุมากกว่า 15 ปี ระหว่างปี พ.ศ. 2541-2545.....	16
2.2 การแปลผล Hemagglutination-inhibition test ของเชื้อไวรัสเดงกี.....	20
5.1 ลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	36
5.2 ผลการตรวจ CBC ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	38
5.3 ผลการตรวจการทำงานของตับและไตของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	39
5.4 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากน้ำลาย.....	40
5.5 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากเซลล์ เยื่อกระดูกพุงแก้ม.....	41
5.6 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากน้ำลาย และ/หรือเซลล์เยื่อกระดูกพุงแก้ม.....	42

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญภาพ

ภาพลำดับที่	หน้า
2.1 ระบาดวิทยาของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศต่าง ๆ.....	14
2.2 อัตราป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกปี พ.ศ. 2503-2545.....	15
2.3 รูปแบบของอาการ/อาการแสดงของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	17
2.4 ระดับความรุนแรงของไข้เลือดออกเดงกี.....	18
2.5 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	19
5.1 แผนภูมิแท่งแสดงวันที่เก็บสิ่งส่งตรวจโดยเทียบกับวันที่ใช้ลง.....	37



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## คำอธิบายคำย่อ

ALT	=	Alanine transaminase
AST	=	Aspartate transaminase
BUN	=	Blood urea nitrogen
CBC	=	Complete blood count
cDNA	=	Complimentary DNA
CF	=	Complement fixation
CI	=	Confidence interval
CPE	=	Cytopathic effect
DIC	=	Disseminated intravascular coagulation
DF	=	Dengue fever
DHF	=	Dengue hemorrhagic fever
DNA	=	Deoxyribonucleic acid
DSS	=	Dengue shock syndrome
ECL	=	Electrochemiluminescence
EDTA	=	Ethylene diamine tetra-acetate
ELISA	=	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESR	=	Erythrocyte sedimentation rate
HAI, HI	=	Hemagglutination-inhibition test
Hct	=	Hematocrit
HIV	=	Human immunodeficiency virus
IF	=	Immunofluorescence
JEV	=	Japanese encephalitis virus
MAC-ELISA	=	Immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assay
NASBA	=	Nucleic acid sequence-based amplification
PBMC	=	Peripheral blood mononuclear cell
PT	=	Prothrombin time



PTT	=	Partial thromboplastin time
PRNT	=	Plaque reduction neutralization test
RNA	=	Ribonucleic acid
RT	=	Reverse transcriptase
RT-PCR	=	Reverse transcription – polymerase chain reaction
SLE	=	Systemic lupus erythematosus
UF	=	Undifferentiated fever
WHO	=	World Health Organization



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย