

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

โรคติดเชื้อไวรัสเดงกี เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งของประเทศไทย ในปัจจุบัน การติดเชื้อนี้พบได้ตลอดทั้งปี และพบได้ชุกชุมในฤดูฝน ถึงแม้ว่าในปัจจุบัน จะมีการดูแลรักษาที่ดีขึ้น ก็ยังพบมีผู้เสียชีวิตจากการติดเชื้อที่มีอาการรุนแรง คือ โรคไข้เลือดออก (dengue hemorrhagic fever) และ dengue shock syndrome เกิดขึ้นทุกปี

การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกี อาศัยข้อมูลดังต่อไปนี้ [1]

1. ลักษณะทางคลินิก คือ อาการไข้สูงเฉียบพลัน ซึ่งมักจะมีระยะเวลาในช่วง 1-7 วัน ก่อนมาพบแพทย์อาจมีอาการออกผื่น ตรวจร่างกายพบหน้าแดง ตับโต อาจมีผื่น ตรวจ Tourniquet test ได้ ผลบวก ประกอบกับการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น ซึ่งอาจพบฮีมาโตคริตปกติหรือเพิ่มสูงขึ้นเม็ดเลือดขาวปกติหรือต่ำ ตรวจพบ atypical lymphocyte เพิ่มขึ้น เกร็ดเลือดต่ำ อาจพบเลือดออกตามอวัยวะต่างๆ อาจมีอาการช็อคได้
2. การวินิจฉัยที่แน่นอน ได้จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่จำเพาะ ซึ่งจำแนกเป็นหมวดใหญ่ๆ ได้เป็น

2.1 การตรวจทางปฏิกิริยาน้ำเหลือง (serologic diagnosis) ได้แก่ การตรวจเลือดเพื่อหา dengue specific antibody ด้วยวิธีการมาตรฐานต่างๆ ที่ใช้ในทางคลินิก ได้แก่ hemagglutination inhibition test (HAI), ELISA test, และ immunochromatographic test

2.2 การเพาะแยกเชื้อจากเลือดผู้ป่วย ซึ่งทำได้เฉพาะในสถาบันวิจัยบางแห่งเท่านั้น

2.3 การตรวจทางชีวโมเลกุล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การทำ reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ตรวจหาเชื้อ ซึ่งมักนิยมทำในซีรัมหรือพลาสมา

2.4 การตรวจวิธีอื่นๆ ซึ่งไม่มีใครนำมาใช้ในทางคลินิก เช่น การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ ในอวัยวะต่างๆ ด้วยวิธี immunofluorescence เป็นต้น

ข้อจำกัดของวิธีการวินิจฉัยที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน คือความจำเป็นของการเจาะเลือดผู้ป่วย เพื่อนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรค ซึ่งอาจต้องเจาะมากกว่าหนึ่งครั้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรณีการตรวจหาแอนติบอดี ซึ่งจะแปลผลได้แม่นยำขึ้น หากมีการเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีสองครั้ง ในช่วงเวลาต่างกัน ในขณะที่ผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีจำนวนมาก เป็นผู้ป่วยเด็ก ซึ่งอาจมีปัญหาและอุปสรรคในการเจาะเลือดเพื่อการตรวจวินิจฉัยดังกล่าวหลายๆ ครั้ง หากสามารถนำสิ่งส่งตรวจอื่นๆ ที่น่าจะได้รับความร่วมมือจาก

ผู้ป่วยมากกว่า มาตรวจวินิจฉัยได้ น่าจะเป็นตัวเลือกที่ดี ที่แพทย์จะพิจารณานำมาใช้ในการวินิจฉัยโรค สิ่งส่งตรวจที่คณะผู้วิจัยสนใจนำมาศึกษา ได้แก่ สิ่งคัดหลั่งในช่องปาก (oral brush) ซึ่งได้แก่ น้ำลาย (saliva) และน้ำคัดหลั่งจาก ร่องเหงือก (gingivocrevicular หรือ crevicular fluid) รวมถึงปัสสาวะ (urine)

การนำสิ่งคัดหลั่งในช่องปาก มาใช้ประโยชน์ในการตรวจด้วย PCR หรือ RT-PCR มีการศึกษาในไวรัสหลายชนิด นับตั้งแต่ไวรัสตับอักเสบบี [2] ไวรัสโรคหัด [3] ไวรัสจีบี (GB virus) [4,5] และไวรัสทีที (TT virus) [6] เป็นต้น แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาในไวรัสไข้เลือดออก ส่วนการตรวจ PCR หรือ RT-PCR ในปัสสาวะนั้น มีการศึกษาจำนวนมากเช่นกัน เช่น ไวรัสโรคหัด ไวรัสจีบี [5] ไวรัสพิษสุนัขบ้า [7] ไวรัสตับอักเสบบี [8] ไวรัลซีเอ็มวี (CMV) [9] เป็นต้น สำหรับไวรัสไข้เลือดออกนั้น กลุ่มคณะผู้วิจัยนี้ เป็นกลุ่มแรก และกลุ่มเดียวในโลกในขณะนี้ ที่ศึกษา การตรวจ RT-PCR ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อเดงกี โดยใช้ปัสสาวะ (ดังบทความย่อในงานประชุม Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases และ 41st Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America) และพบว่ามีความไวในการตรวจพบ ประมาณ 80% และความจำเพาะ 100% แต่การศึกษาที่ผ่านมาเป็นการตรวจ RT-PCR ในช่วงท้ายๆ ของระยะไข้ หรือช่วงต้นของระยะหลังไข้แล้ว (ซึ่งความไวในการตรวจอาจพบไวรัสน้อยกว่าการตรวจ RT-PCR ตั้งแต่ในระยะไข้)

ดังนั้น คณะผู้วิจัยครั้งนี้ จึงมีความสนใจที่จะศึกษาความเป็นไปได้ ที่จะตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกี ด้วยวิธี RT-PCR ตั้งแต่ในระยะไข้ (febrile stage) เพื่อความสะดวกและรวดเร็วในการวินิจฉัย ผู้ป่วยได้ตั้งแต่มีไข้ 2-3 วันแรก แม้ว่าจะมีผู้ทำการศึกษาการใช้เทคนิคดังกล่าวมาแล้วเป็นจำนวนมากก็ตาม แต่เป็นการศึกษาในเลือดทั้งสิ้น โดยใช้ซีรัม/พลาสมาเป็นส่วนใหญ่ และศึกษาใน peripheral blood mononuclear cells (PBMC) บ้าง โดยใช้เทคนิคแตกต่างกันไป ไม่ว่าจะเป็น single-step PCR [10-14] nested PCR [10, 15-17] การหา 'viral load' ด้วย quantitative RT-PCR [18, 19] real-time PCR [20-25] หรือ NASBA (nucleic acid sequence-based analysis) สิ่งทีคณะผู้วิจัยต้องการศึกษา คือความเป็นไปได้ที่จะใช้ปัสสาวะ และสิ่งคัดหลั่งในช่องปาก (oral brush) มาตรวจด้วยวิธี RT-PCR เพื่อประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อเดงกี ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก และหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดเพื่อการวินิจฉัย

1.2 คำถามการวิจัย (Research Question)

คำถามหลักของการวิจัย (primary research question) การใช้เทคนิค reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ตรวจปัสสาวะของผู้ใหญ่ในโรคติดเชื้อเดงกีตั้งแต่ระยะมีไข้ของโรคมีความไวและความจำเพาะเท่าไรเมื่อเทียบกับการตรวจโดยวิธีมาตรฐานการตรวจทางปฏิบัติกริยา น้ำเหลือง (ELISA) ในปัจจุบัน

คำถามรองของการวิจัย (secondary research question) การใช้เทคนิค reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ตรวจน้ำลายและ เซลล์เยื่อในช่องปากของผู้ใหญ่ในโรคติดเชื้อเดงกีตั้งแต่ระยะมีไข้ของโรคมีความไวและความจำเพาะเท่าไรเมื่อเทียบกับการตรวจโดยวิธีมาตรฐานการตรวจทางปฏิกิริยาน้ำเหลือง (ELISA) ในปัจจุบัน

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (objectives)

เพื่อศึกษาถึง ความไว ความจำเพาะ ผลบวกปลอม และผลลบปลอม ในการตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกีโดยวิธี reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) จากน้ำลาย เซลล์เยื่อในช่องปาก และปัสสาวะใน ระยะมีไข้ (febrile stage) และเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานการตรวจทางปฏิกิริยาน้ำเหลือง โดยวิธี ELISA

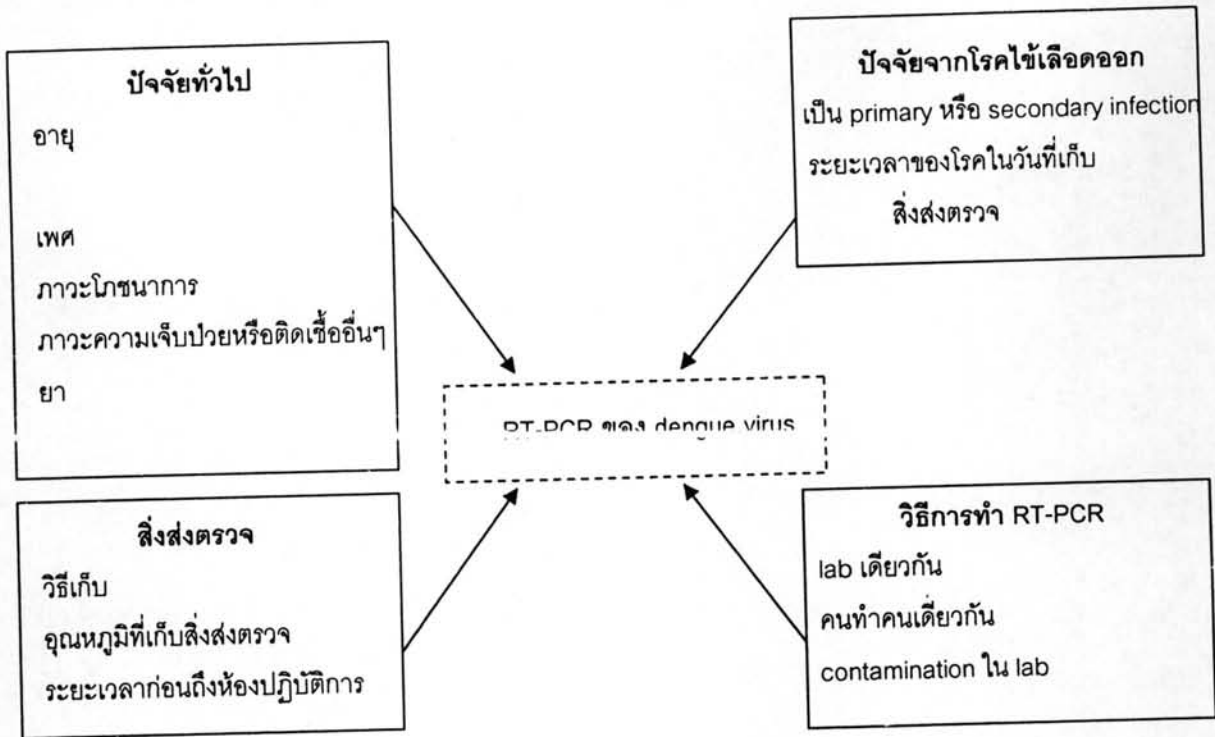
1.4 รูปแบบการวิจัย (Research Design)

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา (Descriptive study)

1.5 สมมุติฐานของการวิจัย (hypothesis)

1. การใช้เทคนิค reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ตรวจปัสสาวะของผู้ใหญ่ในโรคติดเชื้อเดงกีตั้งแต่ระยะมีไข้ของโรคมีความไวและความจำเพาะไม่ต่างกับการตรวจโดยวิธีมาตรฐานการตรวจทางปฏิกิริยาน้ำเหลือง (ELISA) ในปัจจุบัน
2. การใช้เทคนิค reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ตรวจน้ำลายและเซลล์เยื่อในช่องปากของผู้ใหญ่ในโรคติดเชื้อเดงกีตั้งแต่ระยะมีไข้ของโรคมีความไวและความจำเพาะไม่ต่างกับการตรวจโดยวิธีมาตรฐานการตรวจทางปฏิกิริยาน้ำเหลือง (ELISA) ในปัจจุบัน

1.6 กรอบความคิดในการทำวิจัย (Conceptual Framework)



1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational Definition)

- Non blood specimen

Urine : ปัสสาวะผู้ป่วยที่เก็บอย่างถูกวิธีตามวิธีการเก็บปัสสาวะทั่วไป (ไม่มีการปนเปื้อนด้วยเม็ดเลือดแดงและเซลล์เยื่อทางเดินปัสสาวะ) และเก็บปริมาณอย่างน้อย 10 cc

Saliva : ผู้ป่วยต้องทำความสะอาดช่องปากให้สะอาดก่อนที่จะเก็บน้ำลาย 1 ครั้ง ปริมาณอย่างน้อย 3 cc ในภาชนะเก็บน้ำลาย

Oral brush : แพทย์ผู้ตรวจใช้แปรงสีฟันถูเบาๆ ที่กระพุ้งแก้มทั้งสองข้างลงในภาชนะที่บรรจุ oral buffer และพิสูจน์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนว่าไม่มีเม็ดเลือดแดงปนเปื้อน

- Blood specimen : เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย 2 หลอด หลอดละ 5 CC เพื่อส่งตรวจ ELISA และ RT-PCR

- วันที่ไข้ลง หมายถึง วันที่วัดอุณหภูมิทางปากได้ต่ำกว่า 37.5 องศาเซลเซียส โดยที่ไม่มีอุณหภูมิสูงกว่า 37.5 องศาเซลเซียสอีกเลยหลังจากนั้น ทั้งนี้ไม่นับกรณีที่มีหลักฐานว่าผู้ป่วยมีไข้ขึ้นอีกจากสาเหตุอื่น หรือภาวะแทรกซ้อนอื่นขณะที่อยู่ในโรงพยาบาล

- โรคติดเชื้อไวรัสเดงกี (Dengue Infection) หมายความว่ารวมถึง กลุ่มอาการไข้ไม่ทราบสาเหตุที่เกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี (Undifferentiated fever or viral syndrome), ไข้เดงกี (Dengue Fever, DF), โรค

ไข้เลือดออก (Dengue Hemorrhagic fever, DHF) และ ไข้เลือดออกช็อค (Dengue Shock Syndrome, DSS)

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected Benefits & Application)

ผลการวิจัย จะทำให้มีองค์ความรู้เกี่ยวกับขอบเขตของการตรวจพบไวรัสเดงกี ในสิ่งคัดหลั่งประเภทต่างๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่ความเข้าใจของพยาธิกำเนิดของไวรัส (viral pathogenesis) ชนิดนี้มากขึ้นกว่าเดิม (ซึ่งยังขาดอยู่อีกมาก) นอกจากนั้น หากการตรวจทางห้องปฏิบัติการในโครงการนี้ได้ผลดี อาจมีโอกาที่จะพัฒนานำมาใช้ในทางคลินิก เพื่อให้สามารถตรวจวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกได้ตั้งแต่วันแรกๆ ของเขาโดยไม่ต้องเจาะเลือดตรวจ โดยเนกาตอย่างอื่นในผู้ป่วยเด็ก