

การวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกจากปัสสาวะ น้ำลายและ เซลล์เยื่อใน ช่องปากในระยะมีไข้โดยวิธีทางชีว  
โมเลกุล เพื่อหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดเพื่อการวินิจฉัย

นาย กำพล สุวรรณพิมลกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EARLY DIAGNOSIS OF DENGUE INFECTION USING SALIVA, ORAL BRUSH, AND URINE  
DURING FEBRILE STAGE BY RT-PCR, TO AVOID DIAGNOSTIC VENIPUNCTURE

Mr. Gompol Suwanpimolkul

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 2007

Copyright of Chulalongkorn University

500607

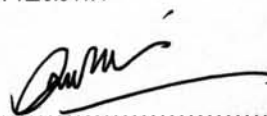
หัวข้อวิทยานิพนธ์      การวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกจากปัสสาวะ น้ำลายและ เซลล์เยื่อในช่อง  
ปากในระยะมีไข้ โดยวิธีทางชีวโมเลกุล เพื่อหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดเพื่อ  
การวินิจฉัย

โดย                              นาย กำพล สุวรรณพิมลกุล


สาขาวิชา                      อายุรศาสตร์

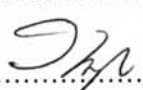
อาจารย์ที่ปรึกษา              ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วันล่ำ กุลวิจิต

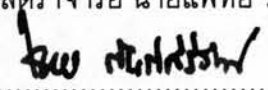
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


.....  ..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติศร ภัทราดุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....  ..... ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมมันต์ พันธุมจินดา)

.....  ..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วันล่ำ กุลวิจิต)

.....  ..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ วรพจน์ ตันตศิริวัฒน์)

.....  ..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประวิตร อัครวานนท์)

กําพล สุวรรณพิมลกุล: การวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกจากปัสสาวะ น้ำลายและ เซลล์เยื่อในช่องปากในระยะมีไข้โดยวิธีทางทางชีวโมเลกุล เพื่อหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดเพื่อการวินิจฉัย (EARLY DIAGNOSIS OF DENGUE INFECTION USING SALIVA, ORAL BRUSH, AND URINE DURING FEBRILE STAGE BY RT-PCR, TO AVOID DIAGNOSIS VENIPUNCTURE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ.นพ.วันลา กุลวิจิต, 57 หน้า.

ความสำคัญและที่มา : การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกีจากสิ่งส่งตรวจอื่นที่ไม่ใช่เลือดด้วยวิธีการขยายสารพันธุกรรม (RT-PCR) มีความจำเพาะเจาะจงในการวินิจฉัยสูงแต่ความไวยังคงค่อนข้างต่ำในช่วงระยะไข้ลง แต่ยังไม่มีการศึกษาใดที่ใช้ปัสสาวะ น้ำลายและเซลล์เยื่อกระดูกหุ้มแก้วเป็นสิ่งส่งตรวจและวินิจฉัยไข้เลือดออกตั้งแต่ระยะก่อนไข้ลงโดยไม่ต้องเจาะเลือด

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาความไว, ความจำเพาะ, positive และ negative predictive value ของวิธีการขยายสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเดงกีจากปัสสาวะ น้ำลาย และ/หรือ เซลล์เยื่อกระดูกหุ้มแก้วที่ระยะก่อนไข้ลง

ระเบียบวิธีวิจัย : เก็บปัสสาวะ น้ำลายและเซลล์เยื่อกระดูกหุ้มแก้วจากผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นไข้เลือดออก เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกีโดยวิธีขยายสารพันธุกรรมโดยเทียบกับวิธีการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเดงกีโดยวิธี ELISA จากเลือด

ผลการวิจัย : ความไวในการวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกที่สามวันแรกของไข้โดยใช้ปัสสาวะ น้ำลาย และเซลล์เยื่อกระดูกหุ้มแก้วเป็น 36%, 36% และ 32% ตามลำดับ ความจำเพาะในการวินิจฉัยโดยใช้สิ่งส่งตรวจทั้งสามชนิดเท่ากันคือ 100% เมื่อใช้สิ่งส่งตรวจทั้งสองชนิดร่วมกัน โดยเฉพาะปัสสาวะและ/หรือน้ำลายทำให้ความไวในการวินิจฉัยเพิ่มขึ้นเป็น 72% และความจำเพาะ 100%

สรุป : วิธี ตรวจ RT-PCR เมื่อใช้สิ่งส่งตรวจที่ไม่ใช่เลือดทั้งสองชนิดร่วมกันในระยะไข้สามวันแรกสามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีได้ดีโดยเฉพาะถ้าใช้ปัสสาวะและ/หรือน้ำลายทั้งสองชนิดร่วมกัน

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์... ลายมือชื่อนิสิต..... กิพล สุวรรณพิมลกุล  
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....  
ปีการศึกษา.....2550.....

## : MAJOR MEDICINE (INFECTIOUS DISEASE)

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

GOMPOL SUWANPIMOLKUL : EARLY DIAGNOSIS OF DENGUE INFECTION USING SALIVA, ORAL BRUSH, AND URINE DURING FEBRILE STAGE BY RT-PCR, TO AVOID DIAGNOSIS VENIPUNCTURE. THESIS PRINCIPAL ADVISOR : ASSOC. PROF. WANLA KULWICHIT, M.D., 60 pp.

Background : Diagnosis of dengue infection by ELISA and RT-PCR using non-blood samples were performed with high specificity but low sensitivity during convalescence stage. No previous study using urine saliva and buccal mucosal cells as the clinical specimens for dengue RT-PCR in order to diagnose dengue infection earlier during febrile stage

Objective : To determine the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of RT-PCR using urine saliva and buccal mucosal cells for early diagnosis of dengue infection during febrile stage

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

Results : The sensitivity to early diagnosis of dengue infection during febrile stage using urine saliva and buccal mucosal cells were 36%, 36% and 32%, respectively. The specificity of each type of urine and oral specimens were 100%. Using both types of specimens, especially urine and saliva increased the sensitivity to 72% and gave the same specificity.

Conclusions : RT-PCR using urine saliva and buccal mucosal cells can be utilized for early diagnosis of dengue infection, particularly when using both types of urine and saliva specimens.

Department....Medicine.... Student's signature..... *Gompol Suwanpimolkul*  
Field of study...Medicine.... Principal advisor's signature..... *Assoc. Prof. Wanla Kulwichit*  
Academic year .....2007.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วันลา กุลวิจิต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่มีประโยชน์ต่อการวิจัยด้วยดีมาตลอด

ขอขอบพระคุณผู้ที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิจัยได้แก่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงมัทนา หาญวนิชย์  
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์

พยาบาลและผู้ช่วยพยาบาลผู้ป่วยใน

นายแพทย์ จักรพันธ์ ภูไพบูลย์

นายแพทย์ โสภาส พุทธเจริญ

หัวหน้าสาขาวิชาโรคติดเชื้อ  
ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์

ภาควิชาอายุรศาสตร์  
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

แพทย์ประจำบ้านต่อยอด  
สาขาวิชาโรคติดเชื้อ

แพทย์ประจำบ้านต่อยอด  
สาขาวิชาโรคติดเชื้อ

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ผ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.4 รูปแบบการวิจัย.....	3
1.5 สมมติฐานของการวิจัย.....	3
1.6 กรอบความคิดในการทำวิจัย.....	4
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....	4
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ความรู้พื้นฐานและระบาดวิทยาเกี่ยวกับเชื้อไวรัสเดงกี.....	6
2.2 พยาธิกำเนิดและอาการ/อาการแสดงของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	6
2.3 การเปลี่ยนแปลงทางห้องปฏิบัติการที่สำคัญ.....	8
2.4 การวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกเดงกี/ไข้เลือดออกเดงกีซ้็อค.....	10
2.5 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรคติดเชื้อ ไวรัสเดงกี.....	10

บทที่	หน้า
3 การทำ RT-PCR.....	21
3.1 หลักทั่วไปของกระบวนการ RT-PCR.....	21
3.2 ขั้นตอนการทำ RT-PCR สำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกี.....	21
4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
4.1 รูปแบบการวิจัย.....	23
4.2 ระเบียบวิธีวิจัย.....	23
4.3 วิธีและขั้นตอนการทำวิจัย.....	24
4.4 การสังเกตและการวัด.....	26
4.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	26
4.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	27
4.7 ปัญหาทางจริยธรรม.....	27
4.8 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	27
4.9 อุปสรรคที่คาดว่าจะเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข.....	28
4.10 การบริหารงานวิจัยและตารางปฏิบัติงาน.....	28
4.11 งบประมาณ.....	28
5 ผลการวิจัย.....	29
5.1 ข้อมูลของผู้ป่วยที่เข้าการศึกษา.....	29
5.2 ผลการศึกษาการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีจากสารคัดหลั่งต่างๆในผู้ป่วย เด็กและผู้ใหญ่.....	30
5.3 ผลการศึกษาการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีจากสารคัดหลั่งต่างๆในผู้ป่วย ผู้ใหญ่.....	32
5.4 ความไวในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากปัสสาวะน้ำลาย และเยื่อหุ้มกระพุ้งแก้มในระยะสามวันแรกของไข้ใน ผู้ป่วยเด็กเทียบกับผู้ป่วยผู้ใหญ่.....	33
6 อภิปรายผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	41
6.1 อภิปรายข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย.....	41
6.2 อภิปรายผลตรวจทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วย.....	42
6.3 อภิปรายผลการศึกษา.....	42
6.4 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	43



บทที่	หน้า
6.5 ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัยและการนำไปใช้.....	44
6.6 การศึกษาในอนาคต.....	44
รายการอ้างอิง.....	45
ภาคผนวก.....	51
ภาคผนวก ก. ข้อมูลสำหรับผู้ป่วย.....	52
ภาคผนวก ข. คำยินยอมจากผู้ป่วย.....	55
ภาคผนวก ค. แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย.....	57
ประวัติผู้เขียนวิทยานพนธ์.....	60

## สารบัญตาราง

ตารางลำดับที่	หน้า
2.1 ร้อยละของผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีที่อายุมากกว่า 15 ปี ระหว่างปี พ.ศ. 2541-2545.....	15
2.2 การมาตรการป้องกันและควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข 2548.....	15
2.3 สถานการณ์โรคไข้เลือดออกในประเทศไทย ปี 2551.....	16
2.4 แปลผล Hemagglutination-inhibition test ของเชื้อไวรัสเดงกี.....	20
5.1 ลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	34
5.2 ผลการตรวจ CBC ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	35
5.3 ผลการตรวจการทำงานของตับและไตของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	36
5.4 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากปัสสาวะ น้ำลาย และ เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มที่ระยะสามวันแรกและวันที่สี่ของไข้ ของทั้งผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่.....	37
5.5 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากปัสสาวะ น้ำลายและ เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มที่ระยะสามวันแรกหรือวันที่สี่ของไข้อย่างใดอย่างหนึ่งที่ได้ผลเป็นบวก ของทั้งผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่.....	37
5.6 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จาก ปัสสาวะและ/หรือ น้ำลาย, ปัสสาวะและ/หรือ เยื่อบุกระพุ้งแก้ม, น้ำลาย และ/หรือ เยื่อบุกระพุ้งแก้มที่ ระยะสามวัน แรกหรือวันที่สี่ของไข้ ของทั้งผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่.....	38
5.7 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากปัสสาวะ น้ำลาย และ เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มที่ระยะสามวันแรกและวันที่สี่ของไข้ ของผู้ป่วยผู้ใหญ่.....	38
5.8 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากปัสสาวะ น้ำลาย และ เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มที่ระยะสามวันแรกหรือวันที่สี่ของไข้อย่างใดอย่างหนึ่ง ให้ผลเป็นบวก ของผู้ป่วยผู้ใหญ่.....	39
5.9 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จาก ปัสสาวะและ/หรือ น้ำลาย, ปัสสาวะและ/หรือ เยื่อบุกระพุ้งแก้ม, น้ำลาย และ/หรือ เยื่อบุกระพุ้งแก้มที่ ระยะสามวันแรกหรือวันที่สี่ของไข้ ของผู้ป่วยผู้ใหญ่.....	39
5.10 ความไวในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากปัสสาวะน้ำลาย และ เยื่อบุกระพุ้งแก้มในระยะสามวันแรกของไข้ในผู้ป่วยเด็กเทียบกับผู้ป่วยผู้ใหญ่.....	40

## สารบัญภาพ

ภาพลำดับที่	หน้า
2.1 ระบาดวิทยาของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศต่าง ๆ.....	14
2.2 อัตราป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกปี พ.ศ. 2503-2545.....	14
2.3 จำนวนผู้ป่วยด้วยไข้เลือดออกแยกตามอาการและกลุ่มอายุ.....	16
2.4 รูปแบบของอาการ/อาการแสดงของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	17
2.5 ระดับความรุนแรงของไข้เลือดออกเดงกี.....	18
2.6 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเดงกี.....	19
2.7 ระยะฟักตัวและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเดงกีที่แต่ละช่วงเวลา.....	19

## 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