

การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี
กับอาการทางคลินิก

- 
- | | | |
|--------------------|---------------|------------|
| 1. นายธงชัย | คุณช่างทอง | 6036722133 |
| 2. นายธนกร | งามวงศ์เวชกุล | 6036723833 |
| 3. นางสาวอาทิตย์ยา | วรรณศรัทธา | 6036798933 |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โครงการปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

เภสัชศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการบริหารทางเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2564

The correlation of dengue viral load and clinical presentation in dengue patients

- | | | |
|------------------|------------------|-------------|
| 1. Mr. Thongchai | Koonchangtong | 6036722133 |
| 2. Mr. Thanakorn | Ngamvongvechakul | 6036723833 |
| 3. Miss Atittaya | Wakwatanyoo | 60367989333 |



A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Doctor of Pharmacy Program in Pharmaceutical Care

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

หัวข้อโครงการปริญญาโท การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี
กับอาการทางคลินิก

นิสิตผู้ดำเนินโครงการ นายธงชัย คุณช่างทอง 6036722133, นายธนกร งามวงศ์เวชกุล
6036723833, นางสาวอาทิตยา วรรณศรีวิทยุ 6036798933

สาขาวิชา/ภาควิชา การบริหารทางเภสัชกรรม / เภสัชกรรมปฏิบัติ

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท ศ.ภญ.ดร.พรอนงค์ อร่ามวิทย์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร.นพ.ฉัฐชัย ศรีสวัสดิ์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญาโทฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

พรอนงค์ อร่ามวิทย์

คณบดี

(ศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.พรอนงค์ อร่ามวิทย์)

ฉัฐชัย

รองคณบดีฝ่ายวิชาการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.ฉัฐชัย เชาว์ธรรม)

พรอนงค์ อร่ามวิทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.พรอนงค์ อร่ามวิทย์)

ฉัฐชัย

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร.ฉัฐชัย ศรีสวัสดิ์)

บทคัดย่อปริญาานิพนธ์

ชื่อโครงการ : การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีกับอาการทางคลินิก

หัวหน้าโครงการ : นายธงชัย คุณช่างทอง 6036722133

ผู้ร่วมโครงการ : นายธนกร งามวงศ์เวชกุล 6036723833
นางสาวอาทิตยา วรศรัยวัญญู 6036798933

อาจารย์ที่ปรึกษา : ศ.ภญ.ดร.พรอนงค์ อร่ามวิทย์, รศ.ดร.นพ.ณัฐชัย ศรีสวัสดิ์

สาขา/ภาควิชา : ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ สาขาการบริบาลทางเภสัชกรรม

โรคติดเชื้อเดงกี (Dengue illness) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี ซึ่งมี 4 สายพันธุ์ คือ DENV-1, DENV-2, DENV-3 และ DENV-4 โดยมีอยู่หลายเป็นพาหะนำโรค อาการของโรคเป็นได้ทั้งไม่มีอาการหรือมีอาการน้อย ที่เรียกว่า ไข้เดงกี (DF) จนถึงมีอาการระดับรุนแรง คือ ไข้เลือดออกเดงกี (DHF) หรือ ไข้เลือดออกช็อค (DSS) ในประเทศไทยมีการแพร่ระบาดทั่วประเทศ และพบการเกิดโรคได้ในทุกกลุ่มอายุ มีอัตราการเสียชีวิตสูง หากไม่ได้รับการรักษาทันเวลา และเหมาะสม ในปัจจุบัน ยังไม่ทราบกลไกการเกิด DHF และ DSS ที่แน่ชัด แต่พบว่าเกิดจากหลายปัจจัยร่วมกัน เช่น ปัจจัยจากตัวผู้ป่วย ได้แก่ อายุ เพศ โรคร่วม หรือปัจจัยจากไวรัส ได้แก่ สายพันธุ์ของไวรัส ปริมาณเชื้อไวรัส ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่ต่างกัน ดังนั้นเพื่อที่จะหาตัวบ่งชี้ในการเกิดโรคที่รุนแรง จึงทำการศึกษาหาปริมาณเชื้อไวรัสเดงกี (viral load) ในเลือดที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อที่เกิดอาการรุนแรง (ไข้เลือดออกเดงกี และ ไข้เลือดออกช็อค) ร่วมกับสังเกตปัจจัยอื่นที่มีผลร่วมด้วย

การศึกษานี้เป็นการศึกษารูปแบบ prospective observation study โดยวิเคราะห์ข้อมูลผู้ป่วยจากศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านโรคไตในภาวะวิกฤต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย จากเก็บข้อมูล ณ โรงพยาบาลบ้านโป่ง และ โรงพยาบาลโพธาราม ได้แก่ ปริมาณไวรัส (viral load) ในรูปแบบปริมาณ RNA copies ชนิด serotype อายุ เพศ อาการร่วม ระหว่างกลุ่มที่มีอาการรุนแรงและกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรงทั้งสิ้น 274 คน จัดเป็นกลุ่มที่อาการไม่รุนแรง (DF) 248 คน (ร้อยละ 90.55) และกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (DHF/DSS) 26 คน (ร้อยละ 9.45) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปัจจัยที่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้แก่ ปริมาณไวรัสเดงกีในเลือด (dengue viral load) (p -value = 0.037) และผู้ป่วยที่มีโรคเบาหวานร่วม (p -value = 0.046) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การตรวจพบปริมาณไวรัสเดงกีในเลือด (dengue viral load) มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการทางคลินิกที่รุนแรง (DHF/DSS) แต่เนื่องจากการแจกแจงความถี่ของทั้ง 2 กลุ่มที่ไม่ต่างกันมาก ทำให้ไม่สามารถระบุจุดตัดของปริมาณไวรัสที่บ่งบอกภาวะไข้เลือดออกรุนแรงได้ และโรคเบาหวานเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้เกิดอาการรุนแรง ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมสำหรับการศึกษาในอนาคตอาจศึกษาในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเดงกีที่เกิดอาการรุนแรงจำนวนมากว่านี้ และควบคุมลักษณะผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ให้มีลักษณะที่คล้ายกันมากขึ้น เช่น มี โรคประจำตัวเหมือนกัน เพื่อลดปัจจัยรบกวนที่อาจจะส่งผลต่อปริมาณไวรัส หรืออาการแสดงทางคลินิก

คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ธงชัย คุณช่างทอง

พรอนงค์ อร่ามวิทย์

Abstract

Senior project title : The correlation of dengue viral load and clinical presentation in dengue patients

Students' name : Mr. Thongchai Koonchangtong 6036722133

: Mr. Thanakorn Ngamvongvechakul 6036723833

: Miss Atittaya Wakwatanyoo 60367989333

Advisor/Co-advisor : Prof. Pornanong Aramwit Ph.D., Assoc. Prof. Dr. Nattachai Srisawat M.D.

Field/Department : Pharmacy practice/Pharmaceutical care

Dengue is a viral disease caused by the dengue virus which has four serotypes, called DENV-1, DENV-2, DENV-3, and DENV-4, and Aedes mosquitoes are vectors. Clinical symptoms can be asymptomatic or mild symptoms including dengue fever (DF) or severe symptoms such as dengue hemorrhagic fever (DHF) or dengue shock syndrome (DSS). In Thailand, there is an epidemic all over the country that was found in all age groups. It has a high mortality rate if not given timely and appropriate treatment.


Currently, there is no explicit mechanism of how DHF or DSS happened but many factors either from host factors such as age and gender or viral factors such as serotype and viral load contribute to different immune responses. Therefore, to find the viral load amount that can be an indicative factor for predicting severe symptoms of dengue patients, we are doing a prospective observational study to find a relationship between viral load and severe clinical symptoms, moreover, we also observed other factors that may be associated. Information of patients from Photharam Hospital and Banpong Hospital was collected from Excellence Center for Critical Care Nephrology Chulalongkorn University including viral load (in RNA copies form), virus serotype, gender, and co-morbidity of both mild and severe groups. From 274 data collected, 248 patients (90.55%) were classified as mild (DF) and 26 (9.45%) were severe (DHF/DSS). From the statistical analysis, it was found that the factors that had a statistically significant effect were dengue viral load (p -value = 0.037) and patients with concomitant diabetes (p -value = 0.046). However, since the frequency distribution of the two groups is not very different, this makes it impossible to determine the cut-point of viral loads to indicate severe dengue fever. To conclude, this study shows the detection of higher blood dengue viral load and host factor that is diabetes mellitus may be associated with the occurrence of severe clinical symptoms (DHF/DSS). Further recommendations for future studies are to investigate more severe cases of dengue infection and control the characteristics of patients in both groups to have more similar characteristics, such as having the same chronic disease to reduce interference factors that may affect viral load or clinical symptoms.


Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Student's signature

Advisor's signature

..... 

..... 

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทระดับนี้ คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ เกษัษฐหฤณี ดร. พรอนงค์ อร่ามวิทย์ อาจารย์ที่ปรึกษา และรองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. ญัฐชัย ศรีสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ชี้แนะแนวทางในการทำงานวิจัย ตั้งแต่เริ่มโครงการ แนะนำขั้นตอนต่างๆในการดำเนินงานรวมทั้งการวิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล พร้อมช่วยตรวจสอบแก้ไขโครงการนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ ตลอดจนให้ความรู้ แนวคิดและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการวิจัยให้สำเร็จลุล่วง บรรลุวัตถุประสงค์ไปด้วยดี

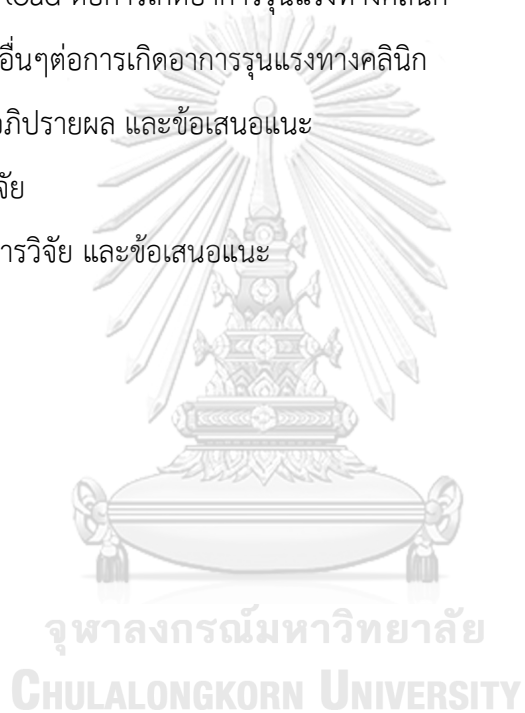
นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านโรคไตในภาวะวิกฤต โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย รวมทั้งโรงพยาบาลโพธาราม และโรงพยาบาลบ้านโป่ง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์และความสะดวกในการเข้าไปเก็บข้อมูลงานวิจัย กลุ่มตัวอย่าง รวมถึงผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลอันเป็นประโยชน์ที่นำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย	2
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
1.5 ขอบเขตการวิจัย	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1.ความรู้ทั่วไปและกลไกการเกิดโรค	4
2.1.1 โรคติดเชื้อไวรัสเดงกี	4
2.1.2 กลไกการเกิดโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี	5
2.2. ความรู้เกี่ยวกับตัวชี้วัดทางชีวภาพในภาวะติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง	12
2.2.1 บทนำ	12
2.2.2 ตัวชี้วัดทางชีวภาพในภาวะติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง (biomarkers in severe dengue)	13
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13

	หน้า
3. วิธีดำเนินการวิจัย	16
3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	16
3.2 วิธีดำเนินการวิจัยและเก็บข้อมูล	16
3.3 สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล	17
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	18
4.1 ข้อมูลผู้ป่วย	18
4.2 ผลของ viral load ต่อการเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก	19
4.3 ผลของปัจจัยอื่นๆต่อการเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก	20
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	21
5.1 สรุปผลการวิจัย	21
5.2 อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	21
รายการอ้างอิง	24
ภาคผนวก	27



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 การตรวจสอบ วิธีการทดสอบ และการแปลผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกี	6
ตารางที่ 2 ตารางแสดงการเปรียบเทียบแนวทางการวินิจฉัยและจำแนกความรุนแรง ของการติดเชื้อเดงกีโดยองค์การอนามัยโลกฉบับปี WHO 1997 (WHO 2011 SEARO) และ WHO 2009	11
ตารางที่ 3 ข้อมูลประชากรกลุ่มตัวอย่าง ค่าวงเล็บแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ใน กลุ่มอาการของโรคเดงกีแบบเดียวกัน	18
ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณไวรัสของทั้งกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรง และมีอาการรุนแรง	19
ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของอายุของทั้งกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรง และมีอาการรุนแรง	20
ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของปัจจัยต่างๆ ได้แก่ Serotype เพศ และภาวะร่วม ของทั้งกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรง และมีอาการรุนแรง	20

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
รูปที่ 2 การดำเนินโรคของ DHF รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงลักษณะอาการทางคลินิก และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น	10
รูปที่ 3 กราฟความถี่ของปริมาณไวรัสของทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อตัดกลุ่มที่ไม่พบปริมาณViral Load	20



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

โรคติดเชื้อเดงกี (Dengue illness) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี มีทั้งหมด 4 สายพันธุ์ โดยมีผู้กลายเป็นพาหะนำโรคไวรัสสามารถแพร่ไปยังผู้ที่ถูกกัดได้ เชื้อที่เข้าสู่ร่างกายคนจะใช้ระยะเวลาฟักตัวประมาณ 5-8 วัน¹ จึงเกิดอาการของโรค เป็นได้ทั้งไม่มีอาการจนถึงมีอาการระดับรุนแรง สามารถจำแนกการป่วยเป็นกลุ่มอาการ ได้แก่ ไข้เดงกี (Dengue Fever; DF) ไข้เลือดออกเดงกี (Dengue Hemorrhagic Fever; DHF) และไข้เลือดออกช็อค (Dengue Shock Syndrome; DSS)²

โรคไข้เลือดออกเดงกี (DHF) เป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อหลายประเทศทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศในทวีปเอเชียและแอฟริกา รวมถึงประเทศไทยด้วย เนื่องจากมีอัตราการเสียชีวิตสูง หากไม่ได้รับการรักษาทันเวลาและเหมาะสม อาการที่สำคัญ ได้แก่ ไข้สูง มีเลือดออกตามบริเวณต่าง ๆ ในร่างกายภาวะตับโต และระบบไหลเวียนเลือดผิดปกติ จนในที่สุดสามารถนำไปสู่ภาวะช็อคได้ ในรายที่รุนแรงระยะที่มีไข้จะพบเกล็ดเลือดต่ำและมีการรั่วของพลาสมา เมื่อผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใด สายพันธุ์หนึ่งแล้ว ยังสามารถติดเชื้อซ้ำได้อีก 3 สายพันธุ์ และพบว่าส่วนใหญ่การติดเชื้อซ้ำมักทำให้เกิด อาการรุนแรงกว่าเดิม โดยยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด^{1,2} แต่สามารถอธิบายได้จากกลไกของภูมิคุ้มกันในร่างกายที่เกิด cross reactive โดย non-neutralizing antibodies ที่เป็น permanent immunity จับกับเชื้อไวรัสชนิดใหม่ที่เข้ามา antigen-presenting cells เพิ่มมากขึ้น เกิดการกระตุ้น T-lymphocytes ทำให้เกิดการหลั่ง cytokines และ chemical mediators ส่งผลให้เกิดการรั่วของพลาสมา³ จากข้อมูลการติดเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศไทย พบทั้ง 4 สายพันธุ์หมุนเวียนกันไปในแต่ละปี ทำให้เพิ่มโอกาสที่จะติดเชื้อซ้ำมากขึ้น⁴

เกณฑ์การวินิจฉัยซึ่งอาศัยการแสดงอาการทางคลินิกเพื่อจัดว่าผู้ป่วยมีภาวะติดเชื้อเดงกีรุนแรง (severe dengue) อย่างน้อยหนึ่งอย่าง คือ มีการรั่วของพลาสมาที่รุนแรงนำไปสู่การเกิดภาวะช็อค หรือภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวที่เกิดจากการคั่งของน้ำ การเลือดออกรุนแรง อวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกายทำงานผิดปกติ เช่น ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ transaminases $\geq 1,000$ IU/L⁵ และหากผู้ป่วยเกิดอาการ ช็อคร่วมด้วยจะเรียกว่า DSS โดยเพื่อความเข้าใจง่ายในงานวิจัยนี้จะเรียกรวม DHF และ DSS เป็นกลุ่มที่มี อาการทางคลินิกรุนแรง ปัจจัยที่ทำให้ไข้เลือดออกมีอาการรุนแรงมากขึ้นนั้น อาจขึ้นกับ Host Factor เช่น อายุ กรรมพันธุ์ โรคร่วม ภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อเดงกีมาก่อน^{6,7} และ viral Factor เช่น serotype⁶ และ viral load⁸ เนื่องจากอาจเกิด การกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมากขึ้น ส่งผล

ให้เกิดการหลังสารเคมี ที่ทำให้เกิดการรั่วของพลาสมามากขึ้น นำไปสู่การเกิดโรคที่รุนแรงได้ จึงนำไปสู่ การทำการศึกษาว่า ปริมาณเชื้อไวรัส เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่สามารถบ่งบอกการเกิดการดำเนินของโรค เป็นไปอย่างรุนแรงเพิ่มขึ้นหรือไม่ ในการตรวจหาเชื้อไวรัส นั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การตรวจหา RNA ของไวรัส เช่น การใช้วิธี PCR การตรวจหาแอนติบอดี (IgM) เช่น การใช้ ELISAs หรือการตรวจหา โปรตีน อย่างเช่น NS1 Antigen Capture เป็นต้น⁹

Reverse Transcription PCR (RT-PCR) เป็นวิธีการทำ PCR เพื่อหา genome จาก RNA ของ ไวรัส ซึ่งสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว แต่สามารถเริ่มพบได้ในช่วงแรกของการเกิดไข้เท่านั้น โดยใน ปัจจุบัน มีการพัฒนาวิธีการตรวจหาเพื่อให้สามารถบอกปริมาณของไวรัส (viral load) ในแต่ละ serotype ที่พัฒนา มาจากวิธี RT-PCR และเป็นวิธีที่ใช้ศึกษาตัวอย่างในงานวิจัยนี้เรียกว่า real-time RT-PCR ซึ่งเป็นวิธี ที่เหนือกว่าวิธีตรวจแบบ RT-PCR ธรรมดา เนื่องจากสามารถทำได้รวดเร็วภายในไม่กี่ ชั่วโมง มีความไวกว่า และสามารถวัดปริมาณไวรัสได้ ในขณะที่วิธีเก่าอย่าง virus Isolation อาจต้องใช้ เวลาเป็นสัปดาห์ และดีกว่าวิธี serology เนื่องจาก IgM จะถูกตรวจพบได้น้อยลงในการติดเชื้อครั้งที่ 2 และ antibody อาจ cross-reactivity กับไวรัสอื่นในวงศ์เดียวกันอาจทำให้แปลผลผิดพลาด¹⁰

โดยโครงการนี้เป็นส่วนวิเคราะห์เพิ่มเติมของโครงการ ศึกษาการใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพ เพื่อทำนายภาวะการติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง (Determination of using novel biomarkers as an early marker for predicting severe dengue) ของ รศ.ดร.นพ.ณัฐชัย ศรีสวัสดิ์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

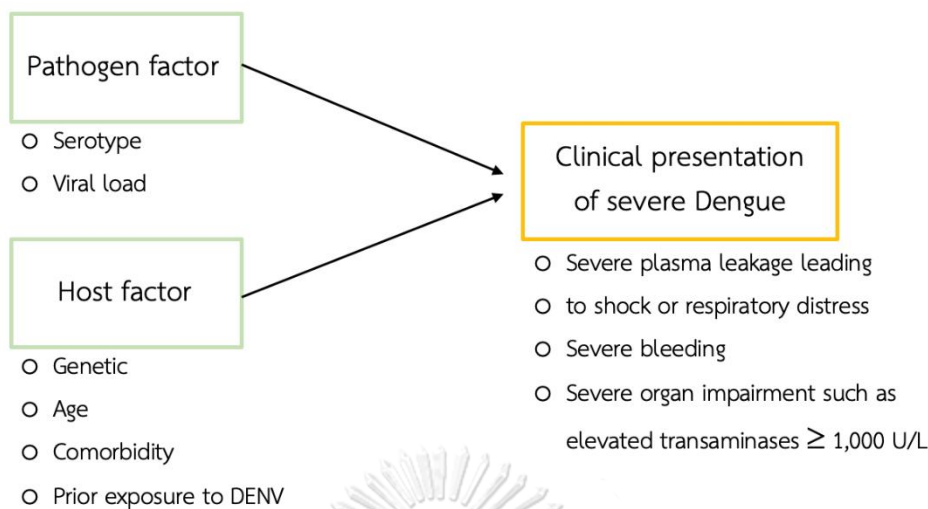
1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาปริมาณเชื้อไวรัสเดงกี (viral load) ในเลือดที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อที่เกิดอาการรุนแรง (ใช้เลือดออกเดงกี และใช้เลือดออกช็อค)
2. เพื่อหาว่าปัจจัยต่าง ๆ ทั้งจาก host และ ไวรัส ส่งผลกับการเกิดอาการรุนแรงจริงหรือไม่

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1. เมื่อผู้ป่วยที่ได้รับวินิจฉัยว่าติดเชื้อไวรัสเดงกีตรวจพบปริมาณเชื้อไวรัสเดงกีในเลือด ถึงระดับหนึ่ง ผู้ป่วยจะเกิดอาการรุนแรง
2. ปัจจัยต่าง ๆ ทั้งจาก host และ ไวรัส ส่งผลกับการเกิดอาการรุนแรง

1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

1.5 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเพื่อหาความสัมพันธ์ของตัวชี้วัดทางชีวภาพกับอาการแสดงของโรค โดยทำการศึกษาวิจัยในอาสาสมัครที่เป็นโรคไข้เลือดออก อายุตั้งแต่ 6 ปี ขึ้นไป จากโรงพยาบาลบ้านโป่ง โรงพยาบาลโพธาราม

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบจุดตัดของปริมาณไวรัสที่สามารถบ่งบอกการเกิดภาวะไข้เลือดออกรุนแรง และ ทราบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไวรัสแดงก็แต่ละ serotype เพศ อายุ และภาวะร่วม กับการเกิดไข้เลือดออกที่มีอาการรุนแรง เพื่อให้สามารถวินิจฉัย รักษา และป้องกันผู้ป่วยไข้เลือดออกไม่ให้เกิดภาวะ ที่มีอาการรุนแรงได้

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (วรรณกรรมปริทัศน์)

2.1. ความรู้ทั่วไปและกลไกการเกิดโรค

2.1.1 โรคติดเชื้อไวรัสเดงกี

เชื้อไวรัสเดงกี (Dengue) เป็น single stranded RNA virus อยู่ใน Family Flaviviridae มี 4 serotypes คือ DENV-1, DENV-2, DENV-3 และ DENV-4 โดยมียุงลายเพศเมียเป็นพาหะ 2 ชนิด คือ ยุงลายบ้าน (Aedes aegypti) และยุงลายสวน (Aedes albopictus) เชื้อไวรัสที่เพิ่มจำนวนในตัวยุงบางส่วน ไปอยู่ที่ต่อมน้ำลาย เมื่อยุงลายกัดคนก็สามารถแพร่เชื้อไวรัสไปได้ ระยะฟักตัวในร่างกายคนนานประมาณ 5-8 วัน (เร็วสุด 3 วัน และนานสุด 15 วัน) โรคติดเชื้อไวรัสเดงกีเป็นสาเหตุทำให้เกิดกลุ่มอาการที่ไม่รุนแรงคือ ไข้เดงกี (dengue fever; DF) และกลุ่มอาการที่รุนแรงอาจอันตรายถึงชีวิตได้ คือ ไข้เลือดออกเดงกี (dengue hemorrhage fever; DHF) และไข้เลือดออกช็อค (dengue shock syndrome; DSS) หลังจากมีการติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใดแล้วจะมีภูมิคุ้มกันต่อสายพันธุ์นั้นตลอดชีวิต (permanent immunity) แต่เนื่องจากแต่ละสายพันธุ์จะมี antigens ร่วมกันบางชนิด ทำให้สามารถมีภูมิคุ้มกันต่อ Dengue อีก 3 สายพันธุ์ได้ในช่วงระยะสั้น ๆ (partial immunity) ประมาณ 6 เดือน จากรายงานอุบัติการณ์ของ โรคติดเชื้อไวรัสเดงกี พบมากในทวีปเอเชียที่อยู่ในแถบเขตร้อนชื้น (tropical ari) ซึ่งประเทศไทย เป็นประเทศที่อยู่ในบริเวณดังกล่าว เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนประชากรของยุงลาย จึงพบการแพร่ระบาดของโรคจำนวนมาก¹²

การระบาดของไข้เลือดออกในประเทศไทย กรมควบคุมโรครายงานว่า สถานการณ์โรคไข้เลือดออก ในปี พ.ศ. 2564 ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม - 17 พฤศจิกายน พ.ศ. 2564 พบผู้ป่วย 8,754 ราย อัตราป่วย 13.17 ต่อประชากรแสนคน เสียชีวิต 6 ราย อัตราร้อยละ 0.07 เป็นเพศชาย 5 ราย เพศหญิง 1 ราย อยู่ในกลุ่มอายุ 5-14 ปี (กลุ่มวัยเรียน) ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดมีอัตราป่วยสูงสุด 35.05 ต่อประชากรแสนคน และกลุ่มอายุ 65 ปีขึ้นไป โดยในเด็กมีปัจจัยเสี่ยงต่อการเสียชีวิต คือ มีน้ำหนักเกินหรือโรคอ้วน ส่วนในผู้สูงอายุ คือ มีโรคประจำตัวเรื้อรังร่วมด้วย ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสียชีวิตที่สำคัญ ได้แก่ การวินิจฉัยที่ล่าช้า บริเวณที่พื้กอาศัยมีแหล่งเพาะพันธุ์ยุงลาย ถึงแม้ว่าจะเข้าสู่ช่วงฤดูฝน แต่การระบาดก็ไม่เพิ่มขึ้นตามฤดูกาล อาจเป็นข้อสังเกตได้ว่ามาตรการควบคุมโรคโควิด 19 ในขณะนั้น อาจมีผลกระทบต่ออุบัติการณ์ ของไข้เลือดออก โดยโรคไข้เลือดออกมีการระบาดต่อเนื่องสูงกว่าค่ามาตรฐาน 5 ปี ย้อนหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2561-2562 และลดลงใกล้เคียงกับค่ามัธยฐานในปี พ.ศ.2563 ซึ่งเป็นธรรมชาติของโรคที่หลังจาก การระบาดต่อเนื่องนานกว่า 1 ปีจะมีจำนวนผู้ป่วยลดลงเนื่องจากประชากรยังมีภูมิคุ้มกันของโรคอยู่ แต่คาดการณ์ว่าในปี 2565 จะมีการระบาดมากขึ้นเนื่องจากเริ่มมีการผ่อนคลายมาตรการของ

โรคโควิด 19 ประชาชนสามารถเดินทางไปในที่สาธารณะได้มากขึ้น สถานศึกษาเปิดเรียนตามปกติ จึงมีความเสี่ยงที่อุบัติการณ์ของโรคจะสูงขึ้น และโรคไข้เลือดออกจะระบาดปีเว้นปี หรือปีเว้น 2 ปี เนื่องจากภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติในคนลดลง โดยจากการพยากรณ์แนวโน้มการเกิดโรคไข้เลือดออก ด้วยวิธีอนุกรมเวลาเวลาพบว่า ในปี พ.ศ. 2565 จะมีจำนวนผู้ป่วยตลอดทั้งปีประมาณ 95,000 ราย โดยสูงสุดในช่วงของฤดูฝน (เดือนมิถุนายน - กันยายน) ประมาณ 10,000-16,000 รายต่อเดือน¹³

2.1.2 กลไกการเกิดโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี¹⁴

2.1.2.1 พยาธิสภาพ

แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

- 1) พยาธิสภาพของไข้เดงกี เมื่อยุงที่มีเชื้อไวรัสเดงกีกัดคน เชื้อไวรัสจะเข้าไป ทางหลอดเลือดฝอย ไปเพิ่มจำนวนที่ผนังหลอดเลือดและ Reticuloendothelial cells ของต่อมน้ำเหลือง ตับและม้าม จากนั้นไวรัสจะเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้มีการแสดงอาการไข้ หนาวสั่น ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว ปวดข้อ ต่อมน้ำเหลืองโต และพบความผิดปกติของเม็ดเลือด แต่พบจำนวนเกล็ดเลือดปกติ เมื่อระยะเวลาผ่านไปไวรัสออกจากกระแสเลือดไปยัง อวัยวะเป้าหมาย ทำให้ผู้ป่วยไข้ลดลง มีผื่นขึ้นตามตัว
- 2) พยาธิสภาพของไข้เลือดออกเดงกี การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสรีรวิทยาที่สำคัญ คือ มีการรั่วของพลาสมาทำให้มีภาวะเลือดออก ซึ่งยังไม่ทราบกลไกการเกิดโรคที่แน่ชัด

2.1.2.2 อาการทางคลินิก

องค์การอนามัยโลกให้เกณฑ์การวินิจฉัยไข้เดงกีและแนวทางการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีในผู้ใหญ่ พ.ศ. 2563 โดยกรมการแพทย์ ดังนี้

- 1) Probable case (น่าจะเป็นไข้เดงกี) คือ มีอาการไข้เฉียบพลัน 2-7 วัน ร่วมกับอาการ อาการแสดง หรือผลตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 2 ข้อ ดังต่อไปนี้
 - ปวดศีรษะ
 - ปวดเข่า
 - ปวดกล้ามเนื้อ
 - ปวดข้อหรือปวดกระดูก
 - ผื่นแดงบริเวณผิวหนัง

- ภาวะเลือดออกผิดปกติ โดยพบว่า ผลการทดสอบด้วย tourniquet test เป็นผลบวก มีจุดเลือดออกบริเวณผิวหนัง หรือมีเลือดกำเดาไหล
 - ปริมาณเม็ดเลือดขาว < 5,000 ตัว/ลบ.มม. (< $5.0 \times 10^9/L$)
 - เม็ดเลือดขาวชนิด atypical lymphocytes เพิ่มขึ้น
 - ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นร้อยละ 5-10
 - ปริมาณเกล็ดเลือด < 150,000 ตัว/ลบ.มม. (< $150 \times 10^9/L$)
- 2) Definite case (ยืนยันว่าเป็นไข้เดงกี) คือ ผู้ป่วยที่ได้ผลบวกจากการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกี

ตารางที่ 1 การตรวจสอบ วิธีการทดสอบ และการแปลผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกี

	Sample characteristics	Diagnostics method	Methadology	Time to results	Interpretation
Confirmed dengue infection	Acute serum (วันที่ 1-5 ของการมีไข้)	Nucleic acid detection*	RT-PCR, real time RT-PCR	1-2 วัน	Positive, serotype
		Antigen detection*	NS-1 Ag rapid tests	นาที	Positive
			NS-1 Ag ELISA	1 วัน	Positive
Acute serum (วันที่ 1-5 ของการมีไข้) และ convalescent serum (วันที่ 15-21 หลังจากตรวจซีรัมครั้งแรก)	IgM & IgG seroconversion	ELISA	1-2 วัน	- From negative IgM to positive IgM in paired sera	
		HIA	1-2 วัน	- From negative IgG to positive IgG in paired sera or 4-fold increase IgG levels among paired sera	
		Neutralization test	≥ 7 วัน		

Probable dengue	Single serum (หลังจากวันที่ 5 ของการมีไข้)	IgM & IgG detection	Rapid tests	นาที	- Positive IgM - High IgG levels by ELISA or HIA (≥ 1280)
			ELISA**	1-2 วัน	
			HIA	1-2 วัน	

*ผลบวกจากการทดสอบ มักลดลงในกรณีที่ส่งตรวจหลังจากมีไข้เกิน 3 วัน

**การวินิจฉัยด้วยวิธี ELISA โดย anti DEN IgM : anti DEN IgG ≥ 1.8 ให้วินิจฉัยว่าเป็น primary infection

แต่ถ้าหาก anti DEN Ab IgM L anti DEN Ab IgG < 1.8 ให้วินิจฉัยว่าเป็น secondary infection

องค์การอนามัยโลกให้เกณฑ์การวินิจฉัยไข้เลือดออกเดงกีและแนวทางการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีในผู้ใหญ่ พ.ศ. 2563 โดยกรมการแพทย์ ดังนี้

- มีอาการไข้เฉียบพลันและสูงลอย 2-7 วัน ร่วมกับมีอาการทางคลินิกข้อ 1 และข้อ 2 ร่วมกับ มีการเปลี่ยนแปลงทางห้องปฏิบัติการทั้ง 2 ข้อ ดังต่อไปนี้

○ ลักษณะอาการทางคลินิก

1) ภาวะเลือดออกผิดปกติ

- เลือดออกบริเวณผิวหนัง ได้แก่ ผลการทดสอบด้วย tourniquet test ให้ผลบวก มีจุดเลือดออก หรือมีจ้ำเลือด
- เลือดออกในบริเวณเยื่อเมือกต่าง ๆ ได้แก่ เลือดออกตามไรฟัน เลือดกำเดาไหล เลือดออกในทางเดินอาหาร และประจำเดือนมานอกรอบ หรือมามากผิดปกติจากเดิม

2) ตับโต มักกดเจ็บ ปวดท้อง หรืออาเจียน

3) ภาวะเดงกีช็อก (dengue shock syndrome: DDS)

- มีการไหลเวียนเลือดล้มเหลว (circulatory failure) โดยตรวจพบว่ามีชีพจร เต็มเร็วและเบา (rapid and weak pulse) ผิวหนังเย็นซีด (cold clammy skin) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง มือและเท้าเย็นค่า pulse pressure < 20 mmHg
- มีค่าความดันเลือดต่ำ (hypotension) ร่วมกับมีภาวะ tissue hypoperfusion เช่น หน้ามืด จะเป็นลม เวียนศีรษะ ปัสสาวะลดลง กระสับกระส่าย ระดับความรู้สึกตัว ลดลง หรือมี capillary refill time มากกว่า 2 วินาที

○ ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

- 1) มีหลักฐานการรั่วของพลาสมาได้แก่ภาวะเลือดชั้นขึ้นโดยมีการเพิ่มขึ้นของค่าฮีมาโทคริต มากกว่า/เท่ากับร้อยละ 20 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าฮีมาโทคริตเดิม มี pleural effusion มี ascites และ/หรือมีระดับอัลบูมินในเลือดต่ำ (< 3.5 กรัม/ มิลลิลิตร ในผู้ป่วยที่มีภาวะโภชนาการปกติ หรือ < 4 กรัม/มิลลิลิตรในผู้ป่วยที่มีภาวะอ้วน)
- 2) มีปริมาณเกล็ดเลือด < 100,000 ตัว/ลบ.มม. (< 100x10⁹/L)

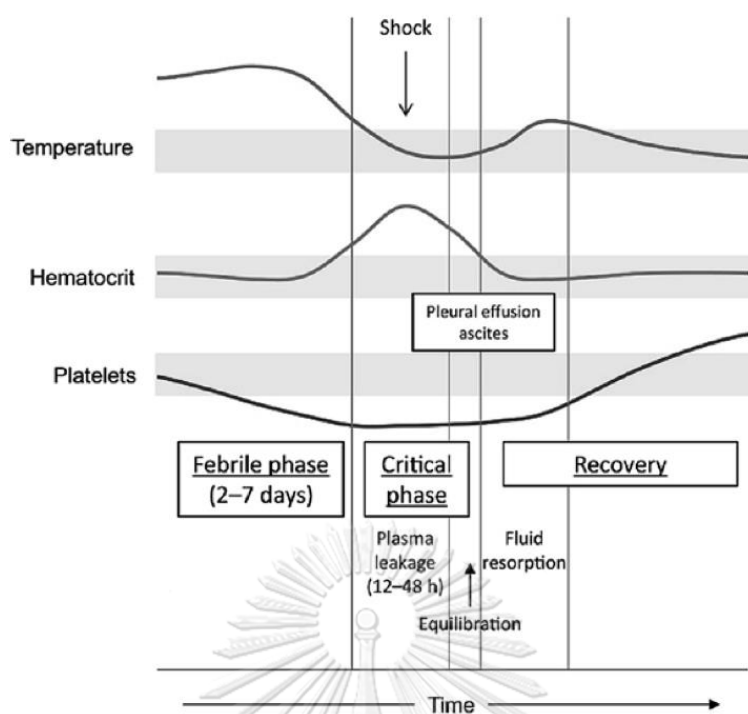
2.1.2.3 การดำเนินโรคของไข้เลือดออกเดงกี (DHF)

แบ่งออกเป็น 3 ระยะ

1. ระยะไข้ (febrile phase) มักมีไข้สูง มีอุณหภูมิของร่างกายสูงกว่า 38.5 องศาเซลเซียส และไข้มักจะลดลงในระยะเวลาประมาณ 3-7 วัน อาจมีอาการร่วมอื่น ๆ ที่พบได้ เช่น ปวดศีรษะ ปวดเข่าตา ปวดกล้ามเนื้อ ปวดข้อ ปวดกระดูก หน้าแดง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และเบื่ออาหาร เป็นต้น ทำการทดสอบด้วยวิธี tourniquet test ได้ผลการทดสอบเป็นบวกได้ตั้งแต่ 2-3 วันแรกของไข้ ตรวจร่างกายอาจพบว่า มีภาวะตับโตและภาวะเลือดออกที่ไม่รุนแรง เช่น จุดเลือดออกบริเวณผิวหนัง เลือดออกใต้ผิวหนัง เลือดกำเดาไหล และเลือดออกตามไรฟัน เป็นต้น ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่า มีปริมาณเม็ดเลือดขาวและ ปริมาณเกล็ดเลือดลดต่ำ ผู้ป่วยเดงกีในระยะไข่นี้ มีลักษณะ อาการทางคลินิก คล้ายคลึงจากการติดเชื้อไวรัสอื่น ๆ
2. ระยะวิกฤต (critical phase) ส่วนใหญ่เข้าสู่ระยะวิกฤตในวันที่ 5-7 ของไข้ เป็นระยะที่มีการรั่วของพลาสมาออกนอกหลอดเลือดฝอย (plasma leakage) เนื่องจากมี vascular permeability เพิ่มมากขึ้นและปริมาณเกล็ดเลือดลดต่ำลงมาก เฉพาะในผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี (DHF) สามารถเข้าสู่ระยะนี้ได้ตั้งแต่วันที่ 3 ภายหลังมีไข้ ในระยะนี้จะเป็นช่วงที่ไข้เริ่มลดลง (defervescence) และมีระยะวิกฤต อยู่ประมาณ 24-48 ชั่วโมง ผู้ป่วยที่อยู่ในระยะวิกฤตนี้ มักมีปริมาณเกล็ดเลือด < 100,000 (< 100x10⁹/L) ส่งผลให้มีเลือดชั้นขึ้น จะทำให้ปริมาณพลาสมา ในหลอดเลือดลดลง บางครั้งอาจมีความรุนแรงมากจนทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะเดงกีช็อค (DSS) และยังพบว่า มีระดับโปรตีนและระดับอัลบูมินในเลือดลดต่ำลง ส่วน pleural

effusion หรือ ascites มักพบในระยะท้ายของการรั่วของพลาสมา ทำให้ผู้ป่วยอาจมีอาการหน้ามืด เป็นลม กระสับกระส่าย ปวดท้อง ปัสสาวะลดลง มือและเท้าเย็น ซีพจรเบา มี capillary refill time มากกว่า 2 วินาที และมีความดันเลือดเปลี่ยนแปลง โดยตรวจพบ pulse pressure ≤ 20 mmHg หรือมีความดันเลือดลดลง อาการดังกล่าวอาจตามมาด้วยการทำงานของอวัยวะต่างๆ ล้มเหลว หากผู้ป่วยเหล่านี้ มีการเปลี่ยนแปลงของระดับความรู้สึกตัว คล้ำซีพจรหรือวัดความดันเลือดไม่ได้ แสดงว่าผู้ป่วยมีภาวะ profound shock และมักจะเสียชีวิตภายใน 12-24 ชั่วโมง นอกจากนี้มักพบภาวะเลือดออก ซึ่งมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการมีเกล็ดเลือดต่ำและความผิดปกติของผนังหลอดเลือดทั้งในผู้ป่วยไข้แดงกึ่งและผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี มักพบในช่วงวันที่ 5-8 ของการมีไข้ ผู้ป่วยเดงกีที่เป็นผู้ใหญ่มักมีปริมาณ เกล็ดเลือด $< 100,000$ ($< 100 \times 10^9/L$) และพบภาวะเลือดออกผิดปกติได้บ่อยกว่าผู้ป่วยเด็ก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ภาวะเลือดออกในทางเดินอาหาร อาเจียนเป็นเลือด ถ่ายดำหรือถ่ายเป็นเลือด ซึ่งเกิดจากปริมาณเกล็ดเลือดที่ลดลง และมีความผิดปกติใน ระบบการแข็งตัวของเลือด (coagulation cascade)

3. ระยะฟื้นตัว (recovery phase) ก่อนที่ผู้ป่วยจะเข้าสู่ระยะฟื้นตัว ผู้ป่วยจะอยู่ในระยะ equilibrium ที่ไม่มีการรั่วของพลาสมาประมาณ 12 ชั่วโมง หลังจากที่เข้าสู่ระยะฟื้นตัว พลาสมาที่รั่วซึมออกนอกหลอดเลือดฝอยจะถูกดูดซึมกลับเข้าสู่ หลอดเลือดอีกครั้ง พบว่ามีค่าฮีมาโทคริตลดลง มีปัสสาวะออกเพิ่มขึ้นและมีค่าความดันเลือดคงที่ ซึ่งใช้เวลาประมาณ 48-72 ชั่วโมง ในระยะฟื้นตัวนี้ ผู้ป่วยไข้แดงกึ่ง และผู้ป่วย ไข้เลือดออกเดงกีจะมีอาการที่ดีขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งสามารถประเมินได้ จาก การที่ผู้ป่วย มีความสบายตัวมากขึ้น มีความอยากอาหาร มีผื่นแดงคันบริเวณผิวหนัง แต่มีปริมาณ เม็ดเลือดขาวและปริมาณเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วย ที่เป็นผู้ใหญ่บางราย อาจมีอาการอ่อนเพลียต่อไปอีก เป็นระยะเวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์หลังจากที่เข้าสู่ระยะฟื้นตัว



รูปที่ 2 การดำเนินโรคของ DHF รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงลักษณะอาการทางคลินิก และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น

2.1.2.4 การจำแนกความรุนแรงของไข้เลือดออกเดงกี

ตามแนวทางขององค์การอนามัยโลกฉบับปรับปรุง พ.ศ. 2554

1. อาการไม่รุนแรง คือ ไข้เดงกีที่ไม่มีอาการหรืออาการแสดงที่เป็นสัญญาณอันตราย (dengue without warning signs)
2. มีอาการหรืออาการแสดงที่เป็นสัญญาณอันตราย (dengue with warning signs) คือ ผู้ป่วย DF และผู้ป่วย DHF ที่ไม่มีภาวะเดงกีช็อก (หมายถึงภาวะ DHF grade I & II ตามแนวทางของ องค์การอนามัยโลก WHO 1997 และ WHO 2011 SEARO) และมีอาการหรืออาการแสดง ที่เป็นสัญญาณอันตราย (warning signs) ที่จะนำไปสู่อาการรุนแรง จึงควรรับไว้เพื่อสังเกตอาการอย่างใกล้ชิดในโรงพยาบาล ได้แก่
 - อาการปวดท้องหรือตรวจร่างกายพบ abdominal tenderness
 - มีอาการอาเจียนมากกว่า 3 ครั้งต่อวัน (persistent vomiting)
 - หอบเหนื่อย มีภาวะน้ำคั่งในปอดหรือในท้อง (clinical fluid accumulation)
 - มีภาวะเลือดออกในบริเวณเยื่อเมือกต่าง ๆ เช่น เลือดกำเดา เลือดออกไรฟัน
 - มีอาการอ่อนเพลีย ไม่มีแรง หรือกระสับกระส่าย

- ปัสสาวะลดลง
 - ชีวมลง
 - ตรวจร่างกายพบตับโตคล้ำได้มากกว่า 2 เซนติเมตร
 - เลือดชั้นขึ้น (ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้น)ร่วมกับมีปริมาณเกล็ดเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว
3. เดงกีรุนแรง (severe dengue) คือ ผู้ป่วยที่มีการรั่วซึมของพลาสมาอย่างรุนแรง (severe plasma leakage) จนทำให้เกิดอาการช็อค หรือมีภาวะ clinical fluid accumulation ร่วมกับ respiratory distress (หมายถึงภาวะ DHF grade III & IV ตามแนวทางขององค์การอนามัยโลก WHO 1997 และ WHO 2011 SEARO), ผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกรุนแรง (severe bleeding) และผู้ป่วยที่มีภาวะแทรกซ้อนของอวัยวะต่าง ๆ ที่รุนแรง (severe organ involvement) เช่น ภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน (acute hepatitis) ภาวะตับวายเฉียบพลัน (acute liver failure) ภาวะไตวายเฉียบพลัน (acute kidney injury) ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ (myocarditis) และภาวะสมองอักเสบ (encephalitis) เป็นต้น ซึ่งส่วนหนึ่งของผู้ป่วยเดงกีที่มีอาการ แผลกออกไปมักมีการติดเชื้ออื่นร่วมด้วย (co-infection) หรือ มีโรคประจำตัวอื่นร่วมด้วย

ตารางที่ 2 ตารางแสดงการเปรียบเทียบแนวทางการวินิจฉัยและจำแนกความรุนแรงของการติดเชื้อเดงกีโดยองค์การอนามัยโลกฉบับปี WHO 1997 (WHO 2011 SEARO) และ WHO 2009

การวินิจฉัยและจำแนกความรุนแรงตามแนวทางขององค์การอนามัยโลก WHO 1997 (WHO 2011 SEARO)	การวินิจฉัยและจำแนกความรุนแรงตามแนวทางขององค์การอนามัยโลก WHO 2009
DF	Dengue ± Warning signs
DHF grade I & II	
DSS	Severe dengue: shock, respiratory distress
DHF/DSS with fluid overload	
DF/DHF/DSS with blood transfusion	Severe dengue: severe bleeding
DF/DHF/DSS with liver ± renal failure	Severe dengue: organ(s) involvement
DF/DHF/DSS with encephalopathy	
DF/DHF/DSS with cardiac involvement	
DF/DHF/DSS with other organs involvement	

Expanded dengue syndrome (ESD) - DHF/DSS with co-morbidity - DHF/DSS with co-infections	Severe dengue
-----------------------------------------------------------------------------------------------	---------------

2.2. ความรู้เกี่ยวกับตัวชี้วัดทางชีวภาพในภาวะติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง

2.2.1 บทนำ

จากการศึกษาในด้านระบาดวิทยาถึงสาเหตุการเกิด DHF/DSS พบ 2 สมมติฐาน ได้แก่

- Immune hypothesis ใช้ในการอธิบายถึงการเกิด Antibody dependent enhancement (ADE) ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีซ้ำ (secondary infections) ด้วยสายพันธุ์ที่ต่างจากการติดเชื้อครั้งแรก และในทารกแรกเกิดที่ได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่แล้วมีการติดเชื้อไวรัสเดงกี โดย ADE คือ การที่ antibody สามารถส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของไวรัสได้ โดยอาศัยหลักการ 2 วิธี ดังนี้
 - subneutralizing concentrations enhance dengue virus infection: เนื่องจาก antigenic epitopes ของ antibody เป็น heterogenous distribution เมื่อเกิด secondary infections ทำให้ antibody ที่ผู้ป่วยมีจากการติดเชื้อครั้งแรก สามารถจับไวรัสที่ต่างสายพันธุ์ได้ เกิดเป็น virus-antibody complex แต่ไม่สามารถ neutralized เชื้อไวรัสได้ จากนั้นไวรัสอาศัยส่วนของ Fc antibody จับกับ Fc receptor บนผิวของ macrophage ทำให้สามารถเข้าไปในเซลล์ macrophage ได้
 - dengue virus replicate in mononuclear phagocytic cells: จากการศึกษพบว่าไวรัสสามารถหลีกเลี่ยงจากการถูกทำลายได้ โดยการส่งผ่านสัญญาณเพื่อลดการสร้าง lysosomal ในเซลล์ ทำให้ไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนและใช้ macrophage เป็น host ที่ทำให้แพร่กระจายไปทั่วร่างกายมากขึ้น
- Viral hypothesis ไวรัสเดงกีต่างสายพันธุ์สัมพันธ์กับการเกิดความรุนแรงของโรคที่ต่างกัน มีความสามารถในการ replication ต่างกัน¹⁵

จากสมมติฐานที่กล่าวข้างต้น จะพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการ replication ของไวรัสกับการเกิด DHF/DSS ดังนั้น เพื่อที่จะวัดผลจากการ replication เราจึงใช้ viral load มาเป็นตัวชี้วัดในการศึกษาเพื่อบ่งบอกภาวะการติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง

2.2.2 ตัวชี้วัดทางชีวภาพในภาวะติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง (biomarkers in severe dengue)⁹

การตรวจหาไวรัสสามารถแบ่งประเภทได้ดังนี้

- Virus Isolation: เป็นวิธีดั้งเดิม ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงตัวอย่างจากผู้ป่วยใน cell line ต่าง ๆ ทำให้มีความจำเพาะต่อเชื้อมากแต่อาจใช้เวลานาน และ ทำได้ยาก
- NS1 Antigen Capture: เป็นการตรวจวัดโปรตีน NS1 ซึ่งขับออกมาจากเซลล์ที่ติดเชื้อ สามารถพบได้ก่อนที่แอนติบอดีของร่างกายจะตอบสนองต่อการติดเชื้อทำให้สามารถตรวจวัดได้ไว และมีความแม่นยำสูง จึงมีการนำมาใช้ในการตรวจโรคเบื้องต้นอย่างแพร่หลาย
- PCR อย่างเช่น Reverse Transcription PCR (RT-PCR) เป็นวิธีการทำ PCR เพื่อหา genome จาก RNA ของไวรัส ซึ่งสามารถทำได้ง่าย และรวดเร็ว แต่สามารถเริ่มพบได้ในช่วงแรกของการเกิดไข้เท่านั้น

การตรวจ viral load ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการตรวจหาเพื่อให้สามารถบอกปริมาณของไวรัส (viral load) ในแต่ละ serotype ที่พัฒนามาจากวิธี RT-PCR และเป็นวิธีหลักในงานวิจัยเรียกว่า real-time RT-PCR ซึ่งเป็นวิธีที่เหนือกว่าวิธีตรวจแบบ RT-PCR ธรรมดาเนื่องจาก สามารถบอกปริมาณ และได้ผลที่ไวกว่า ภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว

การตรวจซีโรโลยี (Serology) เป็นการตรวจหาแอนติบอดีที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไวรัส มีหลายวิธี เช่น

- hemagglutination inhibition assays
- IgM และ IgG antibody-capture ELISAs แต่จะไม่สามารถแยกสายพันธุ์ของเชื้อได้

เนื่องจากการตรวจหาภูมิของร่างกายจึงทำให้สามารถตรวจหาเชื้อได้ช้ากว่า เพราะต้องใช้เวลา 2 ครั้งห่างกันอย่างน้อย 7-10 วัน ดังนั้นกว่าจะรู้ผลผู้ป่วยมักพ้นภาวะวิกฤตไปแล้ว แต่การวัดแยก IgM และ IgG สามารถช่วยในการวินิจฉัยว่าเป็นการติดเชื้อปฐมภูมิ หรือทุติยภูมิได้ ซึ่งแม่นยำ

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยของ Wei-Kung Wang และคณะในปี ค.ศ. 2003 ศึกษาพยาธิสภาพ ในการเกิดโรคโดยศึกษาจาก ปริมาณ dengue viral load จากพลาสมาของผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี ขณะมีภาวะไข้เริ่มลด(defervescence) จำนวน 20 คนจากโรงพยาบาลในประเทศไต้หวัน ในระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงกลางเดือนธันวาคม ปี ค.ศ. 1998 โดยเก็บตัวอย่างในช่วงไข้ลดต่ำกว่า 38 องศาเซลเซียส โดยนับวันที่ไข้ลงวันแรกเป็นวันที่ 1 โดยเก็บระหว่างวันที่ 2 และ 8 โดยใช้ quantitative RT-PCR ในการศึกษา

การศึกษากลไกการเกิดโรคของไข้เลือดออกเดงกี (DHF) ได้เปิดเผยถึง ความสำคัญของการจำลองไวรัส ปริมาณสูงในระยะเริ่มต้น อย่างไรก็ตาม ความเป็นไปได้ที่ไวรัส จะเข้ามามีส่วนร่วมระหว่างการเปลี่ยนจาก ระยะไข้ไปเป็นระยะไข้ลด โดยตรวจสอบระดับของปริมาณ ไวรัสเดงกีในพลาสมา ระหว่างช่วงที่มีไข้และ ระยะไข้ลดในผู้ป่วย พบ RNA ของไวรัสเดงกีในพลาสมา ในระดับสูงในผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกมากกว่า ผู้ป่วยโรค DF ในระหว่างระยะไข้ลด แม้ว่าระดับอาร์เอ็นเอของ ไวรัสเดงกีในพลาสมาจะตรวจไม่พบใน ผู้ป่วย DF ส่วนใหญ่ แต่ก็ยังสูงในผู้ป่วย DHF ทุกราย ด้วยการใช้ modified immunoprecipitation assay แสดงให้เห็นเป็นครั้งแรกว่าไวรัสไข้เดงกีที่อยู่ในพลาสมา ยังคงมีอยู่ในระหว่างระยะไข้ลดอยู่ในคอม immune complex สำหรับผู้ป่วย DHF ส่วนใหญ่ ซึ่งการค้นพบนี้อาจบอกได้ว่า การจำลองพันธุกรรม ของไวรัสหรือความล่าช้าในการขจัดไวรัส viremia มีผลต่อการก่อโรคของ DHF ยิ่งไปกว่านั้น RNA ของ ไวรัสเดงกีในพลาสมาในระดับสูงระหว่าง ระยะไข้ลดอาจทำหน้าที่เป็นตัวบ่งชี้โรคสำหรับ DHF¹⁶

จากงานวิจัยของ Mirawati Sudiro และคณะ ในปี ค.ศ. 2001 โดยศึกษา การวิเคราะห์ระดับ Viral RNA ในพลาสมา ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเดงกีอย่างเฉียบพลัน โดยใช้ Quantitative Competitor Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction โดยศึกษาในเด็กไทย อายุ 6-14 ปี ที่เกิดภาวะ acute undifferentiated febrile illnesses ดูความสัมพันธ์ของระดับ DV RNA ในพลาสมาต่อการเกิด ความรุนแรงของโรค พบว่า ผู้ป่วยเด็กจำนวน 16 คนที่เป็น DHF มีค่าเฉลี่ย ของระดับ DV RNA ต่ำกว่า ผู้ป่วยเด็ก 18 คนที่เป็น DF และพบว่า ระดับ DV RNA ของ DV type 1 สูงกว่าที่ type 2 และ 3 แต่ไม่มี นัยสำคัญทางสถิติ¹⁷

จากการศึกษา review ของ Daisy Vanitha John และคณะในปี ค.ศ. 2015 เกี่ยวกับตัวชี้วัด เพื่อใช้ในการทำนายการเกิดการติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง โดยศึกษาตัวชี้วัด 4 กลุ่มในผู้ป่วยที่ไม่พบอาการ แสดง ในการเกิด DHF/DSS ได้แก่ Immune activation markers, Endothelial activation markers, Biochemical markers และ Genetics markers พบว่า ข้อมูล ระดับของ lymphocyte, platelet counts, IL-10, AST, ALT และ gene expression สามารถช่วยในการทำนายการเกิดการติดเชื้อไวรัส เดงกีรุนแรงได้¹⁸

จากการศึกษาของ Philippe Metz และคณะในปี ค.ศ. 2015 ทำการศึกษา ความสามารถของ ไวรัสเดงกีในการยับยั้งการเกิด autophagy ซึ่งเป็นกระบวนการ ของเซลล์ทำให้เกิด autophagosomes ทำลายองค์ประกอบที่เสื่อมสภาพภายในเซลล์ เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ โดยใช้ imaged-based flow cytometry ในการดูปริมาณ autophagic reflux ในเซลล์ ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีในสภาวะปกติ และสภาวะ ขาดสารอาหาร หรือมี mTOR inhibitor Torin1 พบว่า ในช่วงแรกหลังจากการติดเชื้อ เกิดการยับยั้ง

กระบวนการ autophagy ทั้งแบบทั่วไปและแบบจำเพาะ อีกทั้งยับยั้งการเกิด autophagosome และการถูกทำลายด้วย lysosomes โดยการลดระดับของ p62 receptors ทำให้เซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีไม่สามารถทำลายเชื้อได้ นำไปสู่การเกิด viral replication อย่างต่อเนื่อง¹⁹

จากการศึกษาของ Bharti Pathak และคณะในปี ค.ศ. 2021 ศึกษาตัวแปรทางคลินิก และผลตรวจจากห้องปฏิบัติการ เพื่อหาความสัมพันธ์เกี่ยวกับ การติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรงในเด็ก ทำการวิเคราะห์ปริมาณของ NS1, IgM, IgG และ viral load พบว่า viral load มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ ระดับเกล็ดเลือดและฮีมาโทคริต ทั้ง viral load และ NS1 ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่รุนแรง²⁰

จากการศึกษาของ Khaing Zaw Latt และคณะในปี ค.ศ. 2020 แบบ Retrospective study ในการศึกษาว่าผู้ป่วยที่เป็นโรค Diabetes mellitus เป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดโรคไข้เดงกีที่รุนแรง โดยศึกษาในผู้ป่วย 240 คนที่เป็นไข้เดงกี จากโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่เป็นเบาหวาน (โดยเป็น type 2 diabetes mellitus ทั้งหมด) และกลุ่มที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะ DHF หรืออาการไข้เลือดออกเดงกีที่รุนแรง สามารถพบได้มากกว่าในผู้ป่วยกลุ่มที่เป็นโรคเบาหวานในการศึกษานี้²¹

จากการศึกษาทบทวนวรรณกรรมของ Toledo J และคณะ ศึกษาผลของโรคร่วมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะไข้เลือดออกรุนแรง ซึ่งโรคร่วมที่อาจมีส่วนเกี่ยวข้องมากที่สุดได้แก่ โรคเกี่ยวกับ ระบบหัวใจ และหลอดเลือด โรคเส้นเลือดในสมอง เบาหวาน โรคทางเดินหายใจ โรคไต เนื่องจากอาจทำให้เกิด อาการทางคลินิกต่างที่เกี่ยวข้องโดยเฉพาะระบบเลือดแย่งลง ตลอดไปจนถึงการมีอายุมากก็อาจส่งผล ให้เกิดอาการรุนแรงด้วยเช่นกันเนื่องด้วยความเสื่อมโทรมของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย แต่เนื่องจาก ความหลากหลายของการศึกษาทำให้ไม่สามารถประมาณการผลโดยตรงได้อย่างชัดเจน และควรเพิ่ม การศึกษาแบบ prospective cohort และเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น²² นอกจากโรคร่วมต่างๆแล้วการตั้งครรภ์ก็อาจ ส่งผลให้เกิดอาการรุนแรงและนำไปสู่การเสียชีวิตของมารดา หรือการคลอดก่อนกำหนด เช่นเดียวกับการติดเชื้ออื่น ๆ โดยสาเหตุอาจยังไม่แน่ชัด แต่อาจเกิดจาก การรับภาระของมารดาที่มากกว่าคนปกติ²³

บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

- กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria): โดยเข้าเกณฑ์อย่างน้อย 1 ข้อ ดังต่อไปนี้
 - อายุตั้งแต่ 6 ปี ขึ้นไป
 - ยินยอมเข้าร่วมการวิจัยอาสาสมัครต้องได้รับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อเดงกี ประกอบด้วย
 - 1) ใช้ชุดตรวจ SD Bioline DUO ตรวจโดยต้องให้ผลบวก NS1Ag หรือ IgM
 - 2) ได้รับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อเดงกี โดยการตรวจด้วย RT-PCR แล้วให้ผล positive
- กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกรอกจากการศึกษา (Exclusion criteria): คือผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคติดเชื้อจากสาเหตุอื่น ๆ
- ปริมาณกลุ่มตัวอย่าง อ้างอิงจาก ตารางที่ 1 ของ Bujang MA, Adnan TH11 และจากข้อมูลของ CDC มี prevalent ของการเกิด ใช้เลือดออกรุนแรงเป็น 5 ที่ Null hypothesis เท่ากับ 0.90 ในการทำ specific diagnosis research ต้องใช้ตัวอย่างอย่างน้อย 243 คน
- สถานที่ทำวิจัย: ศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ ด้านโรคไตในภาวะวิกฤต

3.2 วิธีดำเนินการวิจัยและเก็บข้อมูล

- 1) ติดต่อประสานงานเพื่อขอเข้าใช้อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยจาก รศ.ดร.นพ.ณัฐชัย ศรีสวัสดิ์ ศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านโรคไตในภาวะวิกฤต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- 2) ยื่นโครงการปริญญาโทแก่คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์เพื่อ ขออนุญาต ดำเนินการทำการวิจัย เก็บข้อมูลของอาสาสมัคร
- 3) เก็บข้อมูลที่ได้จากอาสาสมัครจาก โรงพยาบาลบ้านโป่ง และโรงพยาบาลโพธาราม ได้แก่ เพศ อายุ ภาวะร่วม และ ผลการวินิจฉัยว่าเกิดภาวะไข้เลือดออกรุนแรงหรือไม่ที่วินิจฉัยโดยแพทย์
- 4) คณะวิจัยเก็บตัวอย่างเลือด และทำการวิเคราะห์ปริมาณไวรัส โดยมีรายละเอียด ดังนี้
 - สกัดตัวอย่างซีรัมโดยใช้ชุดสกัด QIAamp Viral RNA mini kit Cat No.52906
 - นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ viral load โดยทำการแยก RNA ของไวรัส และ ทำ real time RT-PCR โดยใช้ชุดตรวจ 4X TaqMan™ Fast Virus 1-Step Master Mix มี หลักการทำคือ ใช้ TaqMan probe ซึ่งเป็น oligonucleotide สายเดี่ยวที่มีการติด สารเรืองแสง (fluorophore) ที่ปลาย 5' และตัวดับั้ง (quencher)

ที่ปลาย 3' ที่โดยปกติจะบดบังสารเรืองแสงไว้ ในการทำ PCR TaqMan probe จะจับกับ cDNA ในขั้นตอนเดียวกับที่ primer อื่นๆมาจับสาย cDNA และเมื่อ DNA polymerase ทำการสร้าง DNA สายใหม่ก็จะย่อย TaqMan probe ส่งผลให้สารเรืองแสง สามารถทำงานได้ปกติ และสามารถนำไปวัดค่าเพื่อเทียบกับกราฟ standard ทำให้สามารถหาปริมาณเชื้อได้ มีขั้นตอนการทำคือ

- a) ผสม reagent และ sample ใน reaction plate
- b) ปรับสภาวะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เกิดการ Reverse transcription
- c) ปรับสภาวะที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที เพื่อ denature
- d) ทำ PCR โดยปรับสภาวะที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วินาที และ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วินาที ทั้งหมด 40 cycles
- e) วิเคราะห์ผลโดยใช้ real-time PCR system software

5) เก็บข้อมูลผลการวิเคราะห์ได้แก่ จำนวน copy ของ RNA และ Serotype ของไวรัส

6) วิเคราะห์ผลข้อมูล(ปริมาณไวรัส)ที่ได้ โดยเปรียบเทียบค่า \log_{10} ปริมาณไวรัส ระหว่างกลุ่มที่มีอาการทางคลินิกรุนแรงและไม่รุนแรง และมีผลลัพธ์รองคือ หาว่าปัจจัยอื่นทั้งจากไวรัส ได้แก่ ชนิด serotype และจาก host factor ได้แก่ เพศ อายุ โรคร่วม และการที่เคยติดไวรัสเด็งกีมาก่อน ส่งผลต่ออาการทางคลินิกที่แตกต่างกันหรือไม่ อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

3.3 สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อทำ Mann-Whitneytest เปรียบเทียบค่า \log_{10} ของปริมาณไวรัส (viral loads) อายุ และทำ Fisher's exact test เปรียบเทียบ ชนิด serotype เพศ และอาการร่วม ระหว่างกลุ่มที่มีอาการรุนแรงและกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรง

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ข้อมูลผู้ป่วย

จากการเก็บข้อมูลของผู้ป่วยที่ได้รับวินิจฉัยว่าเป็นโรคไข้เลือดออกจำนวน 273 คน พบว่ามีผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง (severe dengue) จำนวน 26 คน (9.45%) และมีอาการทั่วไป 248 คน (90.55%) จัดเป็นเพศชาย 128 คน (46.7%) และเพศหญิง 145 คน (52.9) ผู้ป่วยส่วนใหญ่อายุอยู่ในช่วง 11 ถึง 20 ปี ผู้ป่วยจำนวน 165 คน (60.2%) ตรวจไม่พบปริมาณ RNA และ Serotype และจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มี $\text{Log}_{10}\text{RNA Copies}$ น้อยกว่าเท่ากับ 1.00 ภาวะร่วมที่พบได้แก่ เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดผิดปกติ โรคไต SLE ธาลัสซีเมีย หอบหืด ตั้งครรภ์ และ โรครู้วัวที่ผนังก้นหัวใจห้องล่าง ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ข้อมูลประชากรกลุ่มตัวอย่าง ค่าเฉลี่ยแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ใน กลุ่มอาการของโรคเดงกีแบบเดียวกัน

		DF (%)	DHF (%)	รวม (%)
เพศ	ชาย	114 (46.0)	13 (50.0)	127 (46.4)
	หญิง	134 (54.0)	13 (50.0)	147 (53.6)
อายุ (ปี)	≤ 10	33 (13.3)	13 (23.1)	39 (14.2)
	11-20	110 (44.4)	11 (42.3)	121 (44.2)
	21-30	60 (24.2)	6 (23.1)	66 (24.1)
	31-40	28 (11.3)	2 (7.7)	30 (10.9)
	41-50	9 (3.6)	0 (0.0)	9 (3.3)
	51-60	7 (2.8)	1 (3.8)	8 (2.9)
	> 60	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (0.4)
$\text{Log}_{10}\text{RNA}$ Copies	≤ 1.00	155 (62.5)	10 (38.5)	165 (60.2)
	1.01 – 2.00	19 (7.7)	4 (15.4)	23 (8.4)
	2.01 – 3.00	16 (6.5)	5 (19.2)	21 (7.9)
	3.01 – 4.00	19 (7.7)	3 (11.5)	22 (8.0)
	4.01 – 5.00	19 (7.7)	1 (3.8)	20 (8.0)
	5.01 – 6.00	15 (6.0)	1 (3.8)	16 (5.8)
	> 6.00	5 (2.0)	2 (7.7)	7 (2.6)
Serotype	1	36 (14.5)	7 (26.9)	43 (15.7)
	2	50 (20.2)	8 (30.8)	58 (21.2)

	3	24 (9.7)	5 (19.2)	29 (10.6)
	4	12 (4.8)	2 (7.7)	14 (5.1)
ภาวะร่วม	DM	2 (0.8)	2 (7.7)	4 (1.5)
	HT	7 (2.8)	2 (7.7)	9 (3.3)
	DLP	4 (1.6)	0 (0.0)	4 (1.5)
	Kidney disease	1 (0.4)	1 (3.8)	2 (0.7)
	SLE	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (0.4)
	Asthma	6 (2.4)	0 (0.0)	6 (2.2)
	Pregnancy	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (0.4)
	Thalassemia	3 (1.2)	0 (0.0)	3 (1.1)
	Ventricular septal defect	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (0.4)

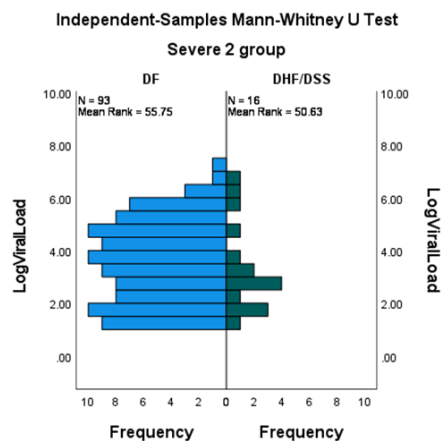
4.2 ผลของ viral load ต่อการเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ Log₁₀ RNA Copies ของไวรัส ด้วยวิธี Mann-witney U Test พบว่ากลุ่มที่มีอาการทางคลินิกรุนแรง (median 1.83; Q1 0.00 – Q3 3.15) มีปริมาณไวรัสมากกว่ากลุ่มที่มีอาการไม่รุนแรง (median 0.00; Q1 0.00 = Q3 2.69) อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณไวรัสของทั้งกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรงและมีอาการรุนแรง

ปัจจัย	กลุ่ม (N)	Mean Rank	U	Z	p-value	การคำนวณทางสถิติ
Log ₁₀ RNA Copies	DF (248)	134.66	2519.000	-2.074	0.038	Mann-witney U Test
	DHF (26)	164.62				

เนื่องจากปริมาณผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบระดับ viral load มีจำนวนมาก เพื่อทำการวิเคราะห์หาจุดตัดปริมาณของไวรัสที่จะสื่อถึงการเกิดภาวะไข้เลือดออกรุนแรงจึงทำการวิเคราะห์อีกครั้งโดยตัดกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่พบ viral load ออกพบว่าการแจกแจงความถี่ของปริมาณ viral load ทั้ง 2 กลุ่ม ไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value= 0.549) ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 กราฟความถี่ของปริมาณไวรัสของทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อตัดกลุ่มที่ไม่พบปริมาณViral Load

4.3 ผลของปัจจัยอื่นต่อการเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก

พบว่าปัจจัยต่างๆได้แก่อายุของผู้ป่วย Serotype เพศ และอาการร่วมของกลุ่มที่มีอาการทางคลินิกรุนแรง และไม่รุนแรง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน โอกาสเกิดภาวะรุนแรงทางคลินิกมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (p-value = 0.046, Fisher's exact test)

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของอายุของทั้งกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรง และมีอาการรุนแรง

ปัจจัย	กลุ่ม (N)	Mean Rank	U	Z	p-value	การคำนวณทางสถิติ
Age	DF (248)	140.45	2493.000	-1.903	0.057	Mann-witney U Test
	DHF (26)	109.38				

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของปัจจัยต่างๆได้แก่ Serotype เพศ และภาวะร่วมของทั้งกลุ่มที่ไม่มีอาการรุนแรง และมีอาการรุนแรง

ปัจจัย	p-value	การคำนวณทางสถิติ
Serotype	1	0.150
	2	0.212
	3	0.170
	4	0.630
Gender	0.537	Fisher's exact test

ภาวะร่วม	DM	0.046
	HT	0.206
	DLP	1.000
	Kidney disease	0.181
	SLE	1.000
	Asthma	1.000
	Pregnancy	1.000
	Thalassemia	1.000
	VSD	1.000



บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การตรวจพบปริมาณไวรัสเดงกีในเลือด (dengue viral load) ปริมาณสูง และผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการทางคลินิกที่รุนแรง (DHF/DSS) แต่ไม่สามารถระบุปริมาณไวรัสที่จะบ่งบอกว่าผู้ป่วยจะเกิดอาการรุนแรงทางคลินิกได้

5.2 อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ กับการติดเชื้อไวรัสเดงกีรุนแรง หรือ DHF/DSS ผู้วิจัยเลือกศึกษาจากปริมาณไวรัส เนื่องจากการศึกษาของ Wei-Kung Wang และคณะ พบว่า viremia มีผลต่อการก่อโรคของ DHF ยิ่งไปกว่านั้น RNA ของไวรัสใช้เลือดออกในพลาสมา มีระดับสูงในระหว่างระยะไข้เลือดอาจทำหน้าที่เป็นตัวบ่งชี้โรคสำหรับการเกิด DHF ดังนั้นปริมาณไวรัส อาจสามารถบ่งบอกได้ว่าผู้ป่วยติดเชื้อเดงกีที่มีอาการทางคลินิกที่รุนแรง

จากผลการวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ RNA ของไวรัสระหว่างกลุ่มที่มีอาการรุนแรง และไม่รุนแรง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สังเกตได้จากปริมาณ RNA ในช่วง ควอไทด์ที่ 1 ถึง 3 ของกลุ่มที่มีอาการไม่รุนแรง ที่น้อยกว่า กลุ่มที่มีอาการรุนแรง ซึ่งอาจสื่อได้ว่า การพบปริมาณไวรัสที่มากกว่า จะทำให้มีแนวโน้มการเกิดอาการรุนแรงที่มากกว่าด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang W และคณะ แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากในแต่ละช่วง logRNA ของทั้งสองกลุ่ม มีลักษณะไม่แตกต่างกันมากนัก จึงไม่สามารถระบุจุดตัดช่วงปริมาณไวรัสที่จะบ่งชี้ว่าจะเกิดอาการรุนแรงได้

ผลของปัจจัยอื่น ๆ ต่อการเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก พบว่า สายพันธุ์ของไวรัสเดงกี อายุ เพศ และโรคร่วมของผู้ป่วย ทั้งที่มีอาการคลินิกรุนแรงและไม่รุนแรง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในผู้ที่มีโรคเบาหวานร่วม พบว่าเกิดอาการรุนแรงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Khaing Zaw Latt และคณะที่พบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะ DHF หรืออาการ ไข้เลือดออกเดงกีที่รุนแรง สามารถพบได้มากกว่าในผู้ป่วยกลุ่มที่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งอาจเกิดจาก ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ทำให้เกิดความผิดปกติของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ผู้ป่วยจึงไม่สามารถ ควบคุมการแพร่กระจายของไวรัสได้ จึงส่งผลให้มีอาการที่รุนแรง

ข้อจำกัดของงานวิจัยนี้เนื่องด้วยสถานการณ์โรคระบาดในปัจจุบัน ทำให้ไม่สามารถเข้าไปเก็บข้อมูลได้ ผู้วิจัยจึงไม่ทราบถึงช่วงเวลาที่เกี่ยวข้องอย่างเลือด จึงทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าเลือดที่เก็บมาเป็นเลือดผู้ป่วยระยะใดของโรค และค่าปฏิบัติการอื่นๆ ของเลือด อีกทั้งผู้ป่วยบางราย มีภาวะร่วมมากกว่า 1 โรค หรือมีการติดเชื้อมากกว่า 1 สายพันธุ์ ซึ่งผู้วิจัยไม่ได้ทำการวิเคราะห์ว่าปัจจัยดังกล่าวส่งผลกับอาการ

ที่รุนแรงหรือไม่ รวมถึงจำนวนผู้ที่มีภาวะร่วมไม่มากนัก ทำให้ไม่สามารถ ยืนยันความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มได้ และอาจมีปัจจัยอื่นๆที่ผู้วิจัยไม่ได้ศึกษาและไม่ทราบข้อมูล เช่น ยาประจำตัวที่อาจเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเลือดออกได้ง่าย อย่างยาในกลุ่ม antiplatelet anticoagulant และ NSAIDs เป็นต้น

ข้อเสนอแนะ ในการศึกษาในอนาคตอาจศึกษาในผู้ป่วยไข้เลือดออกที่เกิดรุนแรงจำนวนมากกว่านี้ และควบคุมลักษณะผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม (กลุ่มที่มีอาการรุนแรง และไม่รุนแรง) ให้มีลักษณะที่คล้ายกันมากขึ้น เช่น มีโรคประจำร่วมเดียวกัน เพื่อลดปัจจัยรบกวนที่อาจจะส่งผลต่อปริมาณไวรัส หรืออาการแสดงทางคลินิก จากการศึกษาที่ผู้วิจัยพบว่า อายุและเพศ เกือบจะมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นถ้าตัดปัจจัยอื่น ๆ ออก และวิเคราะห์เพิ่มเติมอาจพบความสัมพันธ์ระหว่าง อายุและเพศกับการเกิดอาการรุนแรงทางคลินิก นอกจากปริมาณไวรัสแล้วตัวชี้วัดทางชีวภาพอื่นๆอาจบ่งบอกถึงอาการรุนแรงได้



รายการอ้างอิง

1. World Health Organization. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. World Health Organization; 1997.
2. สุภาวดี พวงสมบัติ, อีราวดี กอพยัคฆินทร์, วราภรณ์ เอมะรุจิ, ศรัณรัชต์ ชาญประโคน, บรรณาธิการ. คู่มือวิชาการโรคติดเชื้อเด็งกีและโรคไข้เลือดออกเด็งกีด้านการแพทย์และสาธารณสุข. นนทบุรี: สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2558
3. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Endy TP, Raengsakulrach B, Rothman AL, Ennis FA, Nisalak A. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. The Journal of Infectious Diseases. 2000 Jan 1;181(1):2-9.
4. Pongsiri P, Themboonlers A, Poovorawan Y. Changing pattern of dengue virus serotypes in Thailand between 2004 and 2010. Journal of Health, Population, and Nutrition. 2012 Sep;30(3):366.
5. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Vector-Borne Diseases (DVBD). Clinical presentation. For healthcare providers. Dengue. 2019. Available from : <https://www.cdc.gov/dengue/healthcare-providers/clinical-presentation.html#:~:text=Clinical%20findings%20include%20nausea%2C%20vomiting,%2C%20restlessness%2C%20and%20liver%20enlargement>.
6. Halstead S. Recent advances in understanding dengue. F1000Res. 2019;8:F1000 Faculty Rev-279.
7. Rathore APS, Farouk FS, St. John AL. Risk factors and biomarkers of severe dengue. Current Opinion in Virology. 2020;43:1-8.
8. Wang WK, Chao DY, Kao CL, Wu HC, Liu YC, Li CM, et al. High levels of plasma dengue viral load during defervescence in patients with dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. Virology. 2003;305(2):330-8.
9. Muller DA, Depelsenaire ACI, Young PR. Clinical and laboratory diagnosis of dengue virus infection. The Journal of Infectious Diseases. 2017;215(suppl_2):S89-S95.

10. Eili H, Essi H, Nathalie Y. Early diagnosis of dengue in travelers: Comparison of a novel real-time RT-PCR, NS1 antigen detection and serology. *Journal of Clinical Virology*. 2010. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653209005423?casa_token=i99S9HP8SyIAAAAA
11. Bujang MA, Adnan TH. Requirements for Minimum Sample Size for Sensitivity and Specificity Analysis. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(10):YE01-YE06.doi:10.7860/JCDR/2016/18129.8744:sglelbfTsgYStsn181G9c5mMWI9h_ui6TNj_NPzcxJpTyeOTJU6j0LbRru0RG5cfmTzhLN9Og
12. Nasomsong W, Luvira V, Phiboonbanakit D. Case report: dengue and COVID-19 coinfection in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2021 Feb;104(2):487.
13. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. การคัดกรองสถานการณืโรคไข้เลือดออก พ.ศ. 2565. นนทบุรี : กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2564.
14. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีในผู้ใหญ่ พ.ศ. 2563. นนทบุรี : กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2563.
15. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Salas R, Villalobos I, de Chacon, Ramos C, Rico-Hesse R. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *Journal of virology*. 1999 Jun 1;73(6):4738-47.
16. Wang WK, Chao DY, Kao CL, et al. High levels of plasma dengue viral load during defervescence in patients with dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *Virology*. 2003;305(2):330-338. doi:10.1006/viro.2002.1704
17. Sudiro TM, Zivny J, Ishiko H, et al. Analysis of plasma viral RNA levels during acute dengue virus infection using quantitative competitor reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Med Virol*. 2001;63(1):29-34.
18. John DV, Lin YS, Perng GC. Biomarkers of severe dengue disease - a review. *J Biomed Sci*. 2015;22:83. Published 2015 Oct 14. doi:10.1186/s12929-015-0191-6
19. Metz P, Chiramel A, Chatel-Chaix L, Alvisi G, Bankhead P, Mora-Rodríguez R, Long G, Hamacher-Brady A, Brady NR, Bartenschlager R. Dengue virus inhibition of autophagic

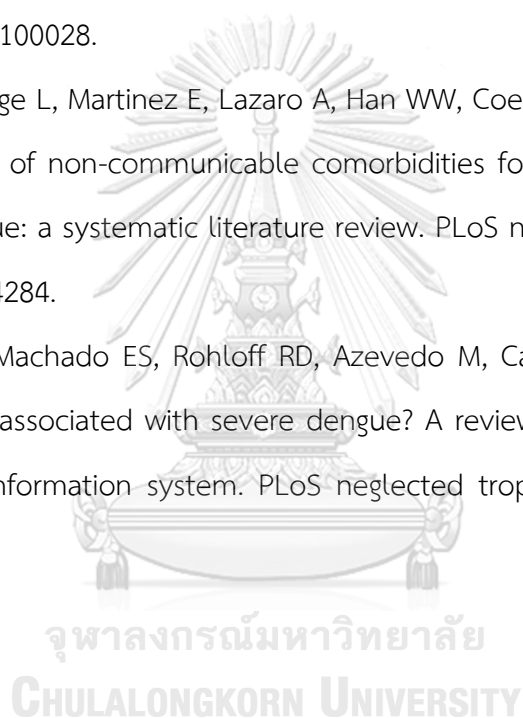
flux and dependency of viral replication on proteasomal degradation of the autophagy receptor p62. *Journal of virology*. 2015 Aug 1;89(15):8026-41.

20. Pathak B, Chakravarty A, Krishnan A. High viral load positively correlates with thrombocytopenia and elevated haematocrit in dengue infected paediatric patients. *Journal of infection and public health*. 2021 Nov 1;14(11):1701-7.

21. Latt KZ, Poovorawan K, Sriboonvorakul N, Pan-ngum W, Townamchai N, Muangnoicharoen S. Diabetes mellitus as a prognostic factor for dengue severity: Retrospective study from Hospital for Tropical Diseases, Bangkok. *Clinical Infection in Practice*. 2020 Oct 1;7:100028.

22. Toledo J, George L, Martinez E, Lazaro A, Han WW, Coelho GE, Runge Ranzinger S, Horstick O. Relevance of non-communicable comorbidities for the development of the severe forms of dengue: a systematic literature review. *PLoS neglected tropical diseases*. 2016 Jan 4;10(1):e0004284.

23. Machado CR, Machado ES, Rohloff RD, Azevedo M, Campos DP, de Oliveira RB, Brasil P. Is pregnancy associated with severe dengue? A review of data from the Rio de Janeiro surveillance information system. *PLoS neglected tropical diseases*. 2013 May 9;7(5):e2217.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



COA No. 1723/2021

IRB No. 458/62

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

1873 Rama 4 Road, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4455

Certificate of Approval

(COA No. 1723/2021)

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

Study Title : Determination of using novel biomarkers as an early marker for predicting severe dengue.

Study Code : -

Principal Investigator : Assoc.Prof. Nattachai Srisawat, M.D.

Affiliation of PI : Department of Medicine,
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Review Method : Full board

Meeting Dated : December 14, 2021

Document Reviewed :

1. Protocol version 6.0 dated 3 February 2021
2. Protocol Synopsis Version 3.0 Dated 9 September 2019
3. Information sheet for research participant Version 3.0 Dated 9 September 2019
4. Informed consent for participating volunteers Version 3.0, 9 September 2019
5. Information Sheet for legal representatives Version 2.0 Dated 9 September 2019

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)



6. Consent to participate in the program for legal representatives Version 3.0, 9 September 2019
7. Information sheet for research participant aged 7-12 years Version 3.0 Dated 9 September 2019
8. Informed consent for participating volunteers aged 7-12 years Version 3.0 Dated 9 September 2019
9. Budget Version 2.0 Dated 9 September 2019
10. Case Record Form Version 2.0 Dated 9 September 2019
11. Curriculum Vitae and GCP Training
 - Assoc.Prof. Nattachai Srisawat, M.D.
 - Prof. Terapong Tantawichien, M.D.
 - Prof. Usa Thisyakorn, M.D.
 - Prof. Rujipat Samransamruajkit, M.D, FAAP, FCCP.
 - Supachoke Trongkamolchai, M.D., Ph.D., PharmD, RN, LPN.
 - Anongrat Tiawilai, M.D.
 - Thongchai Koonchangtong
 - Atittaya Wakwatanyoo
 - Thanakorn Ngamvongvetchakul
12. Progress Report

Signature  Signature 

(Emeritus Professor Tada Sueblinvong MD) (Associate Professor Supeecha Wittayalerpanya)

Chairperson Member and Assistant Secretary, Acting Secretary

The Institutional Review Board The Institutional Review Board

Date of Approval : December 17, 2021 (Second Extension)

Approval Expire Date : December 16, 2022

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)



COA No. 1723/2021

IRB No. 458/62

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย
 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 1873 ถ.พระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4493

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

(COA No. 1723/2021)

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ : โครงการศึกษาการใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพเพื่อทำนายภาวะการติดเชื้อไวรัสเด็งกีรุนแรง

เลขที่โครงการวิจัย : -

ผู้วิจัยหลัก : รศ.นพ.ณัฐชัย ศรีสวัสดิ์

สังกัดหน่วยงาน : ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีทบทวน : คณะกรรมการเติมชุด

วันประชุม : 14 ธันวาคม 2564

เอกสารที่ได้รับการทบทวน

1. โครงการวิจัย version 6.0 dated 3 February 2021
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 3.0 Dated 9 September 2019
3. เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 3.0 Dated 9 September 2019
4. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการสำหรับอาสาสมัคร Version 3.0, 9 September 2019
5. เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้แทนโดยชอบธรรม Version 2.0 Dated 9 September 2019
6. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการสำหรับผู้แทนโดยชอบธรรม Version 3.0, 9 September 2019

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)



7. เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยอายุ 7-12 ปี Version 3.0 Dated 9 September 2019
8. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการสำหรับอาสาสมัครอายุ 7-12 ปี Version 3.0 Dated 9 September 2019
9. งบประมาณ Version 2.0 Dated 9 September 2019
10. แบบฟอร์มบันทึกข้อมูล Version 2.0 Dated 9 September 2019
11. Curriculum Vitae and GCP Training
 - Assoc.Prof. Nattachai Srisawat, M.D.
 - Prof. Terapong Tantawichien, M.D.
 - Prof. Usa Thisyakorn, M.D.
 - Prof. Rujipat Samransamruajkit, M.D, FAAP, FCCP.
 - Supachoke Trongkamolchai, M.D., Ph.D., PharmD, RN, LPN.
 - Anongrat Tiawilai, M.D.
 - Thongchai Koonchangtong
 - Atittaya Wakwatanyoo
 - Thanakorn Ngamvongvetchakul
12. Progress Report

ลงนาม

ลงนาม

(ศาสตราจารย์กิตติคุณแพทย์หญิงธาดา สืบหลินวงศ์)

(รองศาสตราจารย์สุพีชา วิทยเลิศปัญญา)

ประธาน

กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการปฏิบัติหน้าที่แทนเลขานุการ

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

วันที่รับรอง : 17 ธันวาคม 2564 (Second Extension)

วันหมดอายุ : 16 ธันวาคม 2565

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)