

รายงานผลการตรวจไข้เลือดออกโดยวิธี IMMUNO DOT BLOT ในโรงพยาบาลโพธาราม

นิภา สุกลรัตนเมธี

รพ. โพธาราม

ABSTRACT :

Sukolratanamaythee N. Report of Dengue Haemorrhagic Fever by Immuno Dot Blot Technique in Photharam Hospital. (Region 7 Medical Journal 1995 ; 4 : 347-355.)

Department of Clinical Pathology, Photharam Hospital, Ratchaburi, Thailand.

Serum of febrile patients with clinical diagnosis of dengue fever or dengue haemorrhagic fever in Photharam hospital during July 1994 to December 1994 for 54 cases were examined by immuno dot blot technique. The other dot blots were compared by Virus research Institute, Department of Medical Science with the same specimens. The antibody titers were compared with titer determined by haemagglutination inhibition test and IgG capture ELISA. The result of the study showed that there were 2 false positive in 54 cases when complete with HI titer and IgG capture ELISA methods. The immuno dot blot is easy, quickly (about 3 hours), don't want too much skill or expensive tools. The result was corresponded with HI titer and IgG capture ELISA. We can set dot blot technique in the hospital to confirm diagnosis, planning treatment and control epidemic of dengue fever.

บทคัดย่อ :

นิภา สุกรัตน์เมธี. รายงานผลการตรวจไข้เลือดออกโดยวิธี Immuno Dot Blot ในโรงพยาบาลโพธาราม.
(วารสารแพทย์เขต 7 2538 ; 4 : 347-355.)

กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก, รพ. โพธาราม, ราชบุรี.

จากการตรวจตัวอย่างทางน้ำเหลืองของผู้ป่วยไข้ไม่ทราบสาเหตุ (PUO) และผู้ป่วยที่มีอาการของ ไข้เลือดออก ของโรงพยาบาลโพธาราม เพื่อวินิจฉัยหาสาเหตุของการป่วยจากเชื้อไวรัสเดงกีว ในเดือน กรกฎาคม 2537 ถึง ธันวาคม 2537 จำนวน 54 ราย โดยวิธี immuno dot blot เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ ของการทดสอบนี้ ได้ร่วมกับสถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยตรวจตัวอย่างน้ำเหลืองเดียวกันด้วยวิธี dot blot (ซ้ำ) พร้อมกับวิธีมาตรฐาน HI และ IgG capture ELISA ผลที่สรุปได้คือผลบวกเทียม 2 ใน 54 ราย และให้ผล สอดคล้องกับผลที่ได้จากการตรวจด้วยวิธีมาตรฐานดังกล่าว ซึ่งจากการศึกษาข้างต้น การตรวจด้วยวิธี dot blot นี้ สะดวก รวดเร็ว ใช้เวลาในการตรวจประมาณ 3 ชั่วโมง ไม่ยุ่งยาก หรือต้องการผู้ชำนาญมากนัก ไม่ต้องการ เครื่องมือราคาแพง สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล การตรวจวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกด้วยวิธี dot blot จะมีประโยชน์อย่างมากในการตรวจยืนยัน เพิ่มความมั่นใจและวางแผนการรักษาแก่แพทย์และการวางแผน ควบคุมการระบาด

บทนำ

ไข้เลือดออกในประเทศไทย เกิดจากเชื้อไวรัสเดงกีว ซึ่งมี 4 serotype คือ type 1, 2, 3 และ 4 โดยมียุงลาย (*Aedes aegypti*) เป็นพาหะนำโรค ส่วนใหญ่จะเป็นในเด็ก โรคนี้พบระบาดครั้งแรกในประเทศไทยฟิลิปปินส์เมื่อ พ.ศ. 2497 ต่อมาระบาดในประเทศไทยเมื่อ พ.ศ. 2501 ปัจจุบันโรคไข้เลือดออกยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย มีการระบาดของโรคนี้อยู่เสมอและเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในเด็กโรคหนึ่ง

ผู้รายงานได้ทำการตรวจเลือดจากผู้ป่วย โดยวิธี dot blot ซึ่งเป็นโครงการศึกษาประสิทธิภาพของ Immuno dot blot ในการวินิจฉัยผู้ป่วยไข้เลือดออกของส่วนกลาง ซึ่งโดยปกติแล้วโรงพยาบาลโพธารามได้ส่งกระดาษกรองชุบเลือดจำนวน 2 ครั้งไปตรวจที่สถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ด้วยวิธี haemagglutination inhibition test (HI) ซึ่งเมื่อได้ผลกลับมาก็ได้เป็นข้อมูลรายงานผลทางระบาดเท่านั้น ไม่มีผลในด้านการรักษาผู้ป่วยนั้น ๆ เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการส่งไปและส่งกลับทางไปรษณีย์นานมาก ต่อมาโรงพยาบาลโพธารามได้ร่วมโครงการการศึกษาประสิทธิภาพของ Immuno dot blot ในการวินิจฉัยผู้ป่วยไข้เลือดออก จะรวบรวมซีรัมทำ dot blot และออกผลให้แพทย์และพยาบาลประจำตึกกุมารได้ทราบผลทันที

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาในเดือน กรกฎาคม 2537 ถึงธันวาคม 2537 มีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยทางคลินิกว่าเป็นไข้เลือดออก และไข้ไม่ทราบสาเหตุ อายุตั้งแต่ 5-14 ปี เป็นคนไข้ในทั้งหมดจำนวน 54 ราย ผู้ป่วยทุกรายได้รับการซักประวัติโดยมีแบบฟอร์มกรอกข้อมูลการตรวจร่างกาย การตรวจทางห้องปฏิบัติการที่สำคัญ คือการตรวจหาจำนวนเกล็ดเลือด และระดับ hematocrit และเก็บซีรัมเพื่อตรวจหา antibody ต่อเชื้อไวรัสเดงกีว โดยเจาะ 2 ครั้ง ห่างกันอย่างน้อย 3 วันขึ้นไป ครั้งแรก เมื่อแรกรับเข้าในหอ

ผู้ป่วยใน และครั้งที่สองก่อนจำหน่ายออกจากโรงพยาบาลโพธาราม โดยเจาะเลือดจากผู้ป่วยดังกล่าวแต่ละครั้งประมาณ 3-5 มิลลิลิตร ใช้สารกันเลือดแข็ง EDTA

นำตัวอย่างเลือดที่ได้รับไปปั่นแยกพลาสมาในอุณหภูมิห้องปกติทันทีหรือภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากเจาะเลือด แยกเก็บพลาสมาเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำมาตรวจหาการติดเชื้อไข้เลือดออกด้วยวิธี dot blot โดยหน่วยชั้นสูตรของโรงพยาบาลโพธารามเอง ส่วนที่สองเก็บในตู้เย็นช่องแช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำส่งสถาบันวิจัยไวรัสเก็บแช่แข็งในอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เพื่อทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่อไป

การตรวจสอบคุณภาพของการชั้นสูตรด้วยวิธี dot blot ของโรงพยาบาลโพธาราม ทำโดยการตรวจยืนยันและเปรียบเทียบกับวิธี dot blot, HI titer และ IgG capture ELISA โดยสถาบันวิจัยไวรัส จะสรุปผลการตรวจยืนยันให้โรงพยาบาลทราบในภายหลังดังตารางที่ 1, 2, 3

วิธีตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการศึกษา

1. Immuno dot blot

หลักการของการตรวจวิธีนี้ คือ การใช้ antigen จากเชื้อไวรัสที่เพาะเลี้ยง หยด blot ลงบนแผ่นกระดาษ Nitrocellulose (ใช้ antigen จากเชื้อเดงกีวไวรัสทั้ง 4 serotypes ในปริมาณที่เหมาะสมที่จะทำปฏิกิริยากับ antibody ในซีรัมของผู้ป่วย) นำซีรัมของผู้ป่วยมาทำปฏิกิริยากับเชื้อไวรัสบนแผ่นกระดาษที่เตรียมไว้ นำมาล้างซีรัมส่วนเกินออกแล้วนำมาทำปฏิกิริยากับ peroxidase labeled-antihuman IgG และ substrate ตามลำดับ ถ้าปฏิกิริยาเป็นผลบวก blot บนแผ่นกระดาษจะปรากฏเป็นสีน้ำตาล โดยมีความเข้มเทียบเท่ากับตัวเปรียบเทียบมาตรฐานซึ่งมีค่า HI titer 1 : 1280 การตรวจด้วยวิธี dot blot นี้ ได้รับการตรวจสอบเปรียบเทียบกับวิธี HI (ในสถานการณ์ต่าง ๆ) และพบว่ามีประสิทธิภาพเทียบเคียงกันได้

Immuno Dot Blot ในการตรวจผู้ป่วยไข้เลือดออก

เป็นเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ สามารถตรวจหา IgG ต่อเชื้อไวรัสเลือดออกซึ่งมีความไวเทียบเท่ากับวิธี HI แต่วิธีการตรวจง่ายกว่า ให้ผลภายใน 3-4 ชั่วโมง การอ่านผลทำได้ง่าย และแม่นยำพอสมควร ช่วยในการสนับสนุนการวินิจฉัยโรคไวรัสเลือดออกได้ระดับหนึ่ง และให้ข้อมูลทางระบาดวิทยาเพื่อการเฝ้าระวังโรคในหมู่บ้านตำบลที่เป็นแหล่งของโรคไวรัสเลือดออกเพื่อให้เวชกรรมสังคมได้ประสานกับคปสอ. ในการกำจัดแหล่งยุงลาย เพื่อลดแหล่งโรค

น้ำยาที่ใช้

1. Dot blot nitrocellulose membrane มีอายุยาว (Dengue Cocktail-dotted membrane)

2. Washing Buffer (PBS) Phosphate buffer pH 7.3 ประกอบด้วย

NaCl 17.5 g

Na₂HPO₄ 4.54 g

NaH₂PO₄·H₂O 1.1 g

in distilled water 200 ml

3. diluent เตรียมใหม่ ๆ เท่าที่ต้องใช้ในครั้งหนึ่ง ๆ
5% (W/V) skimmed milk in PBS

4. substrate

DAB (Diaminobenzidine) 24 mg ละลายใน PBS 10 ml ก่อนแล้วจึงเติมให้ครบเป็น 50 ml และแบ่งเป็น aliquot ละ 3 ml เก็บในช่องแข็ง -20 องศาเซลเซียส ให้ระมัดระวังในการใช้ เพราะเป็นสารก่อมะเร็ง

5. 5-7% H₂O₂

6. Conjugate (Rabbit anti-human IgG Peroxidase conjugated from Dakopatt Cat No. P. 214)

7. Standard positive control titer 1 : 1280 เก็บในช่องแข็ง -20 องศาเซลเซียส

อุปกรณ์เครื่องมือที่มีอยู่แล้วหรือหาเพิ่มเติม มีดังนี้

1. Autopipette variable volume 2 อัน

-ขนาด 1-20 microlitre

-ขนาด 100-1,000 microlitre

2. Suction Pump ไม่ต้องซื้อ ห้องปฏิบัติการจะเบิกจากพัสดุเป็นเครื่องดูดเสมหะคนไข้เก่ามาดัดแปลงใช้

3. เครื่องชั่งไฟฟ้าจานเดียว

4. ขวดฉีดน้ำ 2 ใบ

5. forcep หัวแบนแบบไม่มีเขี้ยว

6. กรรไกรตัด membrane

7. plate หลุม 3-4 อัน

8. แบบฟอร์มการออกผล

9. สก็อตเทป

วิธีการทำ

1. specimen 3 ul ผสม diluent 300 ul จะเป็น 1 : 100 dilution positive control 10 ul ผสม diluent 1,000 ul จะเป็นค่า cut off ที่ HI titer 1 : 1280

2. specimen (1 : 100 dilution) 100 ul ผสม diluent 900 ul จะเป็น 1 : 1000 dilution

3. เอา forcep คีบ membrane ที่ตัดและวางหงาย ด้านที่มี dot ขึ้นใน plates หลุม ควรมี positive control 1 หลุม ต่อ หนึ่ง plate

4. ดูด specimen 500 ul (1 : 1000 dilution) หยดบน membrane ที่เตรียมไว้ใน plate แล้วเอา plate อีกอันปิดไว้กันระเหย incubate ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง (membrane ต้องจมน้ำอยู่กันหลุม)

5. ใช้ suction pump ดูด diluent ออกก่อน แล้วจึง wash โดยบีบ PBS ใส่ 1 มิลลิลิตร ควรมีเทคนิคในการล้างโดยเคาะข้าง ๆ เบา ๆ ทุกครั้งก่อนเอา plate ปิด ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที (ทำการล้างตามข้อ 5 ทั้งหมด 3 ครั้ง)

6. ช่วงระหว่างการล้างข้อ 5 ก็จะเตรียม Working conjugate dilution โดย conjugate 1.5 ul ผสม diluent 3 มิลลิลิตร จะเป็น 1 : 2000 working dilution

7. เติม working dilution 250 ul ในทุกหลุมแล้วเอา plate ปิดไว้ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง

8. ใช้ suction pump ดูดล้าง conjugate ออกก่อนแล้วจึงล้างโดยบีบ PBS ใส่ 1 มิลลิลิตร และเคาะข้าง ๆ plate เอา plate ปิด ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที (ทำการล้างซ้ำ ทั้งหมด 3 ครั้ง)

9. ช่วงระหว่างการล้างข้อ 8 ก็เตรียม substrate โดย DAB (stock) 3 มิลลิลิตร ผสม 5-7% H_2O_2 6 ul จะเป็น substrate

10. เติม substrate 250 ul ในทุกหลุมแล้วเอา plate ปิดไว้ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

11. ใช้ suction pump ดูด substrate ออกก่อน แล้วฉีดล้างด้วยน้ำกลั่นทันที ดูดน้ำกลั่นทิ้งจนแห้ง

12. ใช้ Forcep คีบ membrane ขึ้นจากกัน plate มาวางบนแบบฟอร์มการแสดงผลเปรียบเทียบระหว่างแผ่น membrane ของ paired serum ปิดด้วยสก็อตเทป และ Positive control ดูสีความเข้มของ dot

การแปลผลการติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี Immuno Dot Blot Assay ซึ่งพัฒนาขึ้น โดย Dr. Jane Cardosa

หลัก : สี positive control (PC) สีน้ำตาลเข้มระดับหนึ่ง cut off titer = 1 : 1280 จะทำทุก ๆ ครั้งและทุก ๆ plate ไว้เปรียบเทียบสี

unknown sample จะมีการอ่านผลดังนี้ :-

1. สีเข้มกว่า PC แม้มีเพียง sample เดียวก็บอกได้ว่าเป็น "Secondary infection" เมื่อเทียบกับวิธี HI จะมี titer มากกว่า 1 : 1280

2. ถ้ามี paired serum ของคนไข้คนเดียวกัน

- สีของ unknown ที่เจาะครั้งแรก ไม่ปรากฏสี (negative) หรือสีอ่อน (weak) กว่า PC แปลว่า titer < 1 : 1280

- สีของ unknown ที่เจาะครั้งที่สอง สีเข้มขึ้นกว่าการเจาะครั้งแรก แต่สีอ่อนกว่า PC อยู่ titer < 1 : 1280

การแปลผล จะเป็น "Recent Dengue Infection"

3. ถ้ามี paired serum ของคนไข้คนเดียวกันซึ่งห่างกัน 7 วัน

- สีของ unknown ที่เจาะครั้งแรกและครั้งที่สองไม่ปรากฏสีหรือสีน้ำตาลขึ้นแต่อ่อนกว่า PC และสีทั้งสองครั้งเท่ากัน ไม่แตกต่างกัน

การแปลผล จะเป็น "Not Dengue Infection"

4. สีไม่เข้มกว่า PC ไม่ปรากฏสีหรือสีไม่เข้มกว่า PC

- มีเพียง sample เดียว จะอ่านผลว่า

"Inconclusive" หรือ "uninterpretable" สรุปไม่ได้

- มี 2 sample ในคนไข้คนเดียวกัน แต่เจาะห่างกันเพียง 2 วัน หรือไม่เกิน 7 วัน จะอ่านผลว่า "Inconclusive" เนื่องจากยังไม่มี Seroconversion

หมายเหตุ

1. บน dot blot nitrocellulose membrane มี "Negative Control" อยู่ข้าง ๆ เสมอ ถ้าปรากฏมีสีจาง ๆ เกิดขึ้น แสดงว่า มี antibody จากยุงกัดอยู่ในเลือดด้วย จะต้องหักลบสีในใจด้วย

2. การล้างที่ไม่สะอาดพอในขั้นตอนการ wash จะทำให้ background สกปรก มีผลให้ dot สีเข้มขึ้น จะต้องหักลบสีในใจด้วยจึงจะเป็นสีที่จะมาแปลผล

2. การตรวจวิธีอื่นที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบโดยสถาบันวิจัยไวรัส

2.1 HI Test ใช้ตรวจยืนยันผลของวิธี dot blot

2.2 ELISA Test ใช้วิธี IgM captured ELISA ซึ่งรายงานโดย Innis และคณะ

ผลการศึกษา

จากตารางที่ 1 แปลว่า dot blot โรงพยาบาลโพธารามอ่าน dot ที่ขึ้นสีจาง ๆ เป็น weak ซึ่งสถาบันวิจัยไวรัสอ่านเป็น negative จำนวน 12 ราย คิดเป็น

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการแปลผลด้วยวิธี Dot Blot ของโรงพยาบาลโพธาราม และ สถาบันวิจัยไวรัส

		สถาบันวิจัยไวรัส			totals
		neg	weak	pos	
Photharam Dot blot	neg	8	0	0	8
	weak	12	15	0	27
	pos	0	2	17	19
total		20	17	17	54

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการแปลผลด้วยวิธี dot blot โรงพยาบาลโพธารามกับ HI Titer จากสถาบันวิจัยไวรัส

		HI Titer จากสถาบันวิจัยไวรัส											
		< 20	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	> 10240	total
neg		6	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	8
	weak	6	9	6	1	4	0	1	0	0	0	0	27
	pos	0	0	0	0	1	1	0	1	3	10	3	19
total		12	9	8	1	5	1	1	1	3	10	3	54

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการแปลผลด้วยวิธี Dot blot โรงพยาบาลโพธารามและ NIH IgG capture ELISA

		NIH IgG capture ELISA		Total
		neg	pos	
Photharam dot blot	neg	8	0	8
	weak	27	0	27
	pos	1	18	19
total		36	18	54

IgG unit > 80 จะถือว่า positive

ตารางที่ 4 การเตรียมน้ำยาต่าง ๆ อย่างประหยัดในการใช้ทำ dot blot

การเตรียม Diluent			การเตรียม conjugate		การเตรียม substrate	
จำนวน	skimmed-milk	PBS	conjugate	SM-PBS	DAB	5-7% H ₂ O ₂
1 test	0.25 g	5 ml	0.25 ul	0.5 ml	.5 ml	1 ul
1- 5	0.50	10	0.5	1	1	2
6-10	0.75	15	1.0	2	2	4
11-13	1.00	20	1.5	3	3	5
14-20	1.50	30	2.0	4	5	10
21-25	2.00	40	3.0	6	6	12
26-30	2.50	50	3.5	7	7	14
31-35	3.00	60	4.0	8	8	16
36-40	3.50	70	5.0	10	10	20

เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดในจุดนี้ เท่ากับ 22.22% และ dot blot โรงพยาบาลโพธารามอ่าน dot สีเข้มเท่า positive control เป็น positive ผลาดจำนวน 2 รายขณะที่ผลของสถาบันวิจัยไวรัสให้ผลเป็น weak คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดจุดนี้เท่ากับ 3.7% (คิดจาก 54 ราย)

ตารางที่ 2 NIH ได้นำเอา sample ทั้ง 54 ราย มาทำการตรวจสอบยืนยันด้วยวิธี HI titer จะกระจายตาม titer ต่าง ๆ จะพบว่า โรงพยาบาลโพธารามอ่าน positive ผิดไป 2 รายคือรายที่ titer 1: 160 และ 1: 320 ก่อให้เกิดผลบวกเทียม (false positive) 3.7% ส่วนรายที่ titer 1: 1280 ขึ้นไป จะไม่มีปัญหา

ตารางที่ 3 NIH ได้นำเอา sample ทั้ง 54 ราย นั้นมาทำการตรวจด้วยวิธี ELISA จะพบว่า ELISA จะให้ผลเป็น positive 18 ราย และ negative 36 ราย จะไม่มีผล weak ดังนั้น dot blot โรงพยาบาลโพธารามอ่าน positive ผิดไป 1 รายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผิดพลาด 1.85%

การประเมินประโยชน์ของวิธีการตรวจโดยวิธี Immuno dot blot ตามความคิดเห็นของผู้รายงาน

1. ชัดความสามารถของการปฏิบัติการ dot blot ในโรงพยาบาลทั่วไป และโรงพยาบาลชุมชนทำได้ ถ้ามีบุคลากรและอุปกรณ์เครื่องมืออยู่ และผู้บังคับบัญชาสนับสนุน

2. การฝึกอบรมและการแนะนำจุดที่จะเกิดความผิดพลาดได้ทุกขั้นตอน จะช่วยให้การปฏิบัติการเกิดข้อผิดพลาดได้น้อย

3. น้ำยาที่ใช้ในการตรวจควรมีที่ส่วนกลาง สถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์ที่สามารถขอซื้อได้ในราคาพอสมควร หากมีการเปิด dot blot เป็นงาน routine ต้องทำบ่อย ๆ ไม่อาจรวบรวมทำครั้งละเป็นสิบราย มีเพียงรายหรือสองรายก็เปิดทำ จะสิ้นเปลืองน้ำยา เช่น การเตรียม diluent, Conjugate และ substrate ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งส่วนที่เหลือทั้งไปโรงพยาบาลจะทำตารางการประหยัดน้ำยาต่าง ๆ ไว้ตามตารางที่ 4

4. หากมีบุคลากรจำกัดคืองาน Immunology มีเจ้าหน้าที่เพียงคนเดียว อาจแบ่งเวลา

การเปิดทำ dot blot ได้เพียงสัปดาห์ละ 1-2 ครั้ง ในช่วงไข้เลือดออกระบาด ดังนั้นจึงขัดกับจุดประสงค์ที่จะให้รู้ผลภายใน 24 ชั่วโมง สมควรต้องพัฒนาวิธีการให้ง่าย ขึ้นกว่านี้เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าว

วิจารณ์และสรุป

ปัจจุบัน haemagglutination inhibition test (HI), IgM, IgG capture ELISA ยังคงเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการสำหรับไข้เลือดออก วิธีเหล่านี้มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ขั้นตอนในการเตรียมน้ำยา และการตรวจสอบที่ยุ่งยากซับซ้อนสิ้นเปลืองเวลา ต้องการผู้ที่มีความชำนาญ และเครื่องมือราคาแพง ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยไข้เลือดออกโดยทางห้องปฏิบัติการยังคงจำกัดอยู่เฉพาะในห้องปฏิบัติการใหญ่ ๆ เท่านั้น โดยทั่วไป โรงพยาบาลและสถานอนามัยในสังกัดกระทรวงสาธารณสุข จะส่งเลือดผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นไข้เลือดออกไปยังห้องปฏิบัติการศูนย์ของกรมวิทยาศาสตร์บริการ ที่กระจายอยู่ทั่วประเทศเพื่อทำการตรวจเลือดและรายงานผลกลับยังโรงพยาบาลและสถานอนามัย ซึ่งขั้นตอนที่โรงพยาบาลและสถานอนามัยจะทราบผลใช้เวลาานาน แพทย์และสาธารณสุขจังหวัด ไม่สามารถนำผลนี้มาใช้ในการดูแลและรักษาผู้ป่วย และควบคุมการระบาดของโรค

ทางโรงพยาบาลไพศารทได้เข้าร่วมโครงการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกด้วยวิธี dot blot จากการศึกษาการตรวจตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่สงสัยว่าติดเชื้อไข้เลือดออกด้วยวิธี dot blot ณ ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล ให้ผลดีเทียบเท่าเมื่อทำการทดสอบตัวอย่างเดียวกัน ณ สถาบันวิจัยไวรัส ปัญหาที่พบซึ่งส่งผลให้การแปลผลผิดพลาด (ผลบวกเทียม 2 ใน 54 ราย) มักเกิดจากการมี background ค่อนข้างสูง วิธีการแก้ไข อาจทำได้โดยเพิ่มความระมัดระวังในขั้นตอนการล้าง นอกจากการตรวจด้วยวิธี dot blot นี้ให้ผลสอดคล้องกับผล

ที่ได้จากการตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน HI และ IgG capture ELISA ซึ่งตรวจสอบจากสถาบันวิจัยไวรัส

จากการศึกษาข้างต้นและการที่วิธี dot blot นี้ สะดวก รวดเร็ว ใช้เวลาในการตรวจประมาณ 3 ชั่วโมง ไม่ยุ่งยาก หรือต้องการผู้ชำนาญมากนัก ไม่ต้องการเครื่องมือราคาแพง สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล การตรวจวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกด้วยวิธี dot blot จะมีประโยชน์อย่างมากในการตรวจยืนยัน เพิ่มความมั่นใจและการวางแผนการรักษาแก่แพทย์ อันจะช่วยให้คุณภาพในการดูแลรักษาผู้ป่วยดีขึ้น ลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยไข้เลือดออก และการวางแผนควบคุมการระบาดของโรค

กิตติกรรมประกาศ

ผู้รายงานขอขอบพระคุณ นายแพทย์คัง กิตติวัฒน์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลไพศารท ที่อนุญาตให้ทำการศึกษาและเผยแพร่รายงานนี้

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, หน่วยอนุชีววิทยาการแพทย์ สถานการส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ที่กรุณาให้ข้อมูลในการเปรียบเทียบ และนำเทคโนโลยีใหม่ ๆ มาเผยแพร่แก่โรงพยาบาล

เอกสารอ้างอิง

1. Cardoso, et al. A dot enzyme immunoassay for dengue 3 virus : Comparison with the haemagglutination inhibition test. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1988 ; 19 : 591-4.
2. Cardoso, MJ&TIO, PH. Dot enzyme immunoassay : An alternative diagnostic aid for dengue fever and dengue haemorrhagic fever. Bull WHO 1991 ; 69(6) : 741-5.
3. World Health Organization. Dengue Haemorrhagic fever : diagnosis, treatment and control. Geneva,

1986 : 28.

4. ประเสริฐ ทองเจริญ. ใช้เลือดออก. กรุงเทพฯ : อักษร-สมัย, 2520.
5. สุจิตรา นิมมานนิตย์. Dengue : Dengue haemorrhagic fever. ปัญหาโรคเด็กที่พบบ่อย. กรุงเทพฯ : คณะ-แพทยโรงพยาบาลเด็ก, 2529 : 110-23.
6. สุวรรณ ไวกนอมสัตว์, จันทพงษ์ วะสี. ใช้เลือด-ออกแดงก๊ว. ใน : จันทพงษ์ วะสี, บรรณาธิการ. วัณโรควิทยาการแพทย์. กรุงเทพฯ : อักษรสมัย, 2530 : 181-92.