



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

## คำแนะนำ

### การตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับโรคไข้เลือดออก

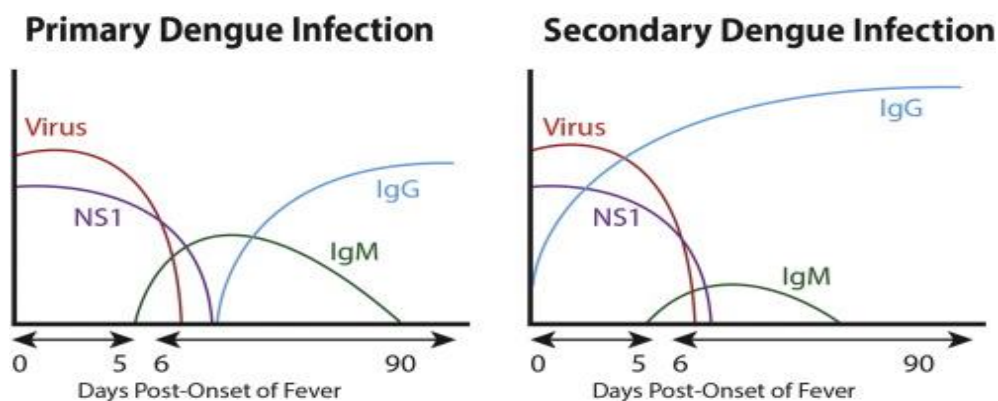
การตรวจการติดเชื้อไวรัสเดงกีก่อโรคไข้เลือดออก ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ดำเนินการตรวจได้ดังนี้

1. การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC) โดยพิจารณาค่า WBC count, Platelet count, Hematocrit และ Tourniquet test
2. การตรวจหาแอนติเจน NS1 ด้วยชุดตรวจ Rapid test หรือวิธี ELISA
3. การตรวจสารพันธุกรรมเชื้อไวรัสเดงกี ด้วยเทคนิค RT-PCR หรือ Real time RT-PCR
4. การตรวจหาแอนติบอดี ชนิด IgM และ IgG ด้วยชุดตรวจ Rapid test วิธี ELISA หรือวิธี PRNT
5. การแยกเชื้อไวรัสเดงกี (Viral isolation) ด้วยการใช้ตัวยุงหรือเซลล์เพาะเลี้ยง

การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC) โดยพิจารณาค่า WBC count, Platelet count, Hematocrit และ Tourniquet test

ผู้ป่วยที่น่าจะติดเชื้อไวรัสเดงกี (Probable case) หมายถึง ผู้ป่วยที่มีอาการไข้เฉียบพลัน ร่วมกับอาการแสดง อย่างน้อย 2 ข้อ ดังต่อไปนี้ ปวดศีรษะ ปวดบ่าตา ปวดกล้ามเนื้อ ปวดข้อหรือปวดกระดูก ผื่นแดงบริเวณผิวหนัง ภาวะเลือดออกผิดปกติ มีจุดเลือดออกบริเวณผิวหนัง มีเลือดกำเดาไหล หรือการทดสอบ Tourniquet test ให้ผลบวก (พบจุดเลือดออกมากกว่า 10 จุดต่อ 1 ตารางนิ้ว) ปริมาณเม็ดเลือดขาวต่ำ (น้อยกว่า 5,000 เซลล์/ลบ.มม.) โดยมีเม็ดเลือดขาวชนิด atypical lymphocytes เพิ่มขึ้น ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นร้อยละ 20 ปริมาณเกล็ดเลือดต่ำ (น้อยกว่า 100,000 ตัว/ลบ.มม.)

ผู้ป่วยยืนยันว่าติดเชื้อไวรัสเดงกี (Definite case) หมายถึง ผู้ป่วยที่ได้ผลบวกจากการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกี โดยการเลือกวิธีตรวจทางห้องปฏิบัติการ ควรพิจารณาระยะเวลาจากวันที่เก็บตัวอย่างและวันที่เริ่มมีไข้ ซึ่งเป็นระยะที่มีเชื้อไวรัสในกระแสเลือด (viremia) และสามารถตรวจพบ NS1, IgM และ IgG ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ตามภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงการตรวจพบไวรัส NS1, IgM และ IgG ในเลือดของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกีชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิ ในช่วงเวลาต่างๆ หลังเริ่มมีไข้

ออกเอกสาร ณ วันที่ 6 มิถุนายน 2566

## การตรวจหาแอนติเจน NS1 ด้วยชุดตรวจ Rapid test หรือวิธี ELISA

Dengue NS1 Antigen เป็นโปรตีนที่จำเพาะของเชื้อไวรัสเดงกี คือ โปรตีนที่ไม่เป็นส่วนประกอบของตัวไวรัส (non-structural protein) เมื่อไวรัสเข้าสู่เซลล์จะมีการสร้างโปรตีนชนิดนี้ขึ้นภายในเซลล์ และถูกปล่อยออกมาจากตัวเซลล์ที่ติดเชื้อเป็นจำนวนมาก โดยสามารถตรวจพบในเลือดของผู้ป่วยไม่เกิน 7 วัน หลังเริ่มเป็นไข้ ระดับ Dengue NS1 ในเลือดสัมพันธ์กับปริมาณไวรัสในกระแสเลือด (viremia)

สิ่งส่งตรวจที่เหมาะสม คือ whole blood หรือ plasma ขึ้นกับชุดตรวจที่เลือกใช้ สามารถใช้สารกันเลือดแข็งได้หลายชนิดคือ heparin, EDTA และ sodium citrate

## การตรวจสารพันธุกรรมเชื้อไวรัสเดงกี ด้วยเทคนิค RT-PCR หรือ Real time RT-PCR

การตรวจสารพันธุกรรมไวรัสเดงกีเป็นวิธีที่นิยมใช้เพื่อยืนยันการติดเชื้อ เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูง ตรวจพบผลบวกได้ในช่วง viremia ประมาณ 0-5 วันแรกหลังเริ่มมีไข้ การตรวจสารพันธุกรรมใช้เทคนิค RT-PCR หรือ Real time RT-PCR ทำได้หลายรูปแบบ เช่น การตรวจแบบ Pan-Dengue ซึ่งไม่จำแนกซีโรทัยป์ หรือแบบจำเพาะต่อไวรัสเดงกี 4 ซีโรทัยป์เพื่อให้ทราบชนิดซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกี ซึ่งเป็นประโยชน์ทางระบาดวิทยา

สิ่งส่งตรวจที่เหมาะสม คือ ซีรัม หรือพลาสมาจากสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA หรือ Citrate ไม่ใช้สารกันเลือดแข็งชนิด Heparin เนื่องจากเป็นสิ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tag polymerase สามารถทำให้เกิดผลลบปลอมได้ เจาะเลือดในระยะมีไข้ หรือห่างจากวันที่เริ่มเป็นไข้ไม่เกิน 5 วัน เนื่องจากเมื่อผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสแล้วจะทำให้เชื้อไวรัสในกระแสเลือดของผู้ป่วยลดลงจนไม่สามารถตรวจพบได้

## การตรวจหาแอนติบอดี ชนิด IgM และ IgG ด้วยชุดตรวจ Rapid test วิธี ELISA หรือ PRNT

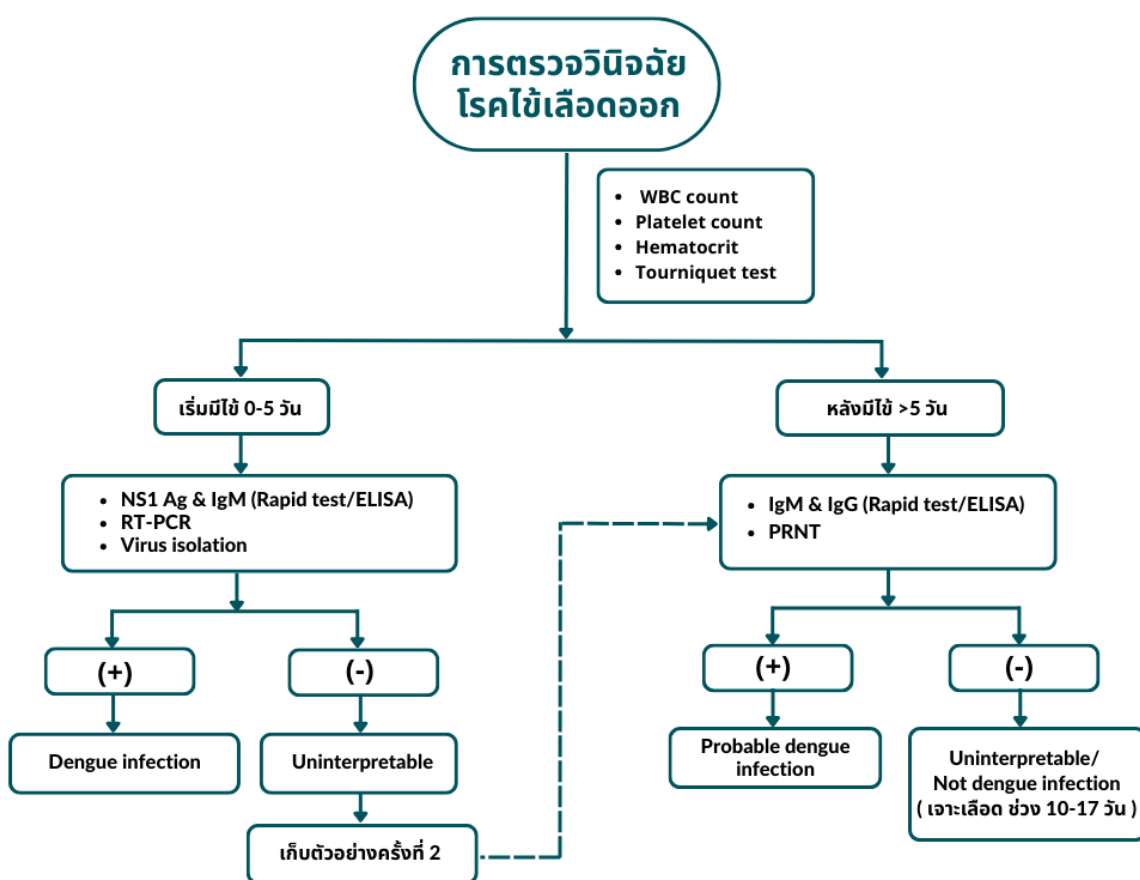
ร่างกายจะเริ่มสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสเดงกีหลังจากติดเชื้อไปแล้ว 5-7 วัน การติดเชื้อชนิดปฐมภูมิ (Primary infection) ตรวจพบ IgM ได้ในระดับสูงก่อนพบ IgG ในขณะที่การติดเชื้อชนิดทุติยภูมิ (Secondary infection) ตรวจพบ IgG ในระดับสูงมากก่อน หลังจากนั้นจึงพบ IgM ในระดับต่ำหรืออาจตรวจไม่พบ การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสเดงกีชนิด IgM และ IgG นิยมตรวจด้วยชุดตรวจ Rapid test และวิธี ELISA การจำแนกการติดเชื้อชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิใช้การตรวจโดยวิธี ELISA โดยพิจารณาอัตราส่วนของ IgM ต่อ IgG สำหรับวิธี PRNT เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสเดงกีซึ่งใช้เวลาตรวจนานประมาณ 7 วัน และจำเป็นต้องใช้ผู้ตรวจที่มีความชำนาญสูงจึงไม่เป็นที่นิยม

สิ่งส่งตรวจสำหรับตรวจแอนติบอดีคือ ซีรัม หรือพลาสมา ซึ่งเจาะเลือดหลังผู้ป่วยเริ่มมีอาการไข้แล้วมากกว่า 3-5 วันเป็นต้นไป หากเจาะเลือดในช่วง 10-17 วันหลังเริ่มมีไข้แล้วได้ผล IgM และ IgG เป็นลบจึงสรุปได้ว่าผู้ป่วยไม่ติดเชื้อไวรัสเดงกี

## การแยกเชื้อไวรัสเดงกี (Viral isolation) ด้วยการใช้ตัวยุงหรือเซลล์เพาะเลี้ยง

การเพาะเชื้อไวรัสเดงกีจากผู้ป่วยทำโดยฉีดตัวอย่างเลือดเข้าตัวยุง *Toxorhynchites* (ยุงยักษ์, ยุงช้าง) หรือเติมตัวอย่างเลือดลงในเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่ง susceptible ต่อเชื้อไวรัสเดงกี เช่น เซลล์ C6/36 (เซลล์จากยุง *Aedes albopictus*) หรือเซลล์ลิง LLC-MK2 ไวรัสสามารถแทรกตัวเข้าไปเพิ่มจำนวนในเซลล์ และปล่อยออกมาจากเซลล์อยู่ในน้ำเลี้ยงเซลล์ ยุงหรือเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีนำมาตรวจจำแนกชนิดซีโรทัยป์ได้โดยใช้เทคนิค Immunofluorescence (IFA) ย้อมด้วย Monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อไวรัสเดงกี 4 ซีโรทัยป์

ตัวอย่างที่ใช้แยกเชื้อไวรัสเดงกีคือ ซีรัม พลาสมา หรือบัพไฟไคต์ เก็บในถังไนโตรเจนเหลว หรือน้ำแข็งแห้ง หรือตู้แช่แข็ง ต่ำกว่า -70 องศาเซลเซียส ภายใน 6 ชั่วโมงหลังเจาะเลือด



ภาพที่ 2 แผนผังการเลือกวิธีตรวจโรคไข้เลือดออกทางห้องปฏิบัติการโดยพิจารณาวันที่เจาะเลือดจากวันเริ่มมีไข้

## สถานที่ส่งตัวอย่างตรวจโรคไข้เลือดออก

- ศูนย์ประสานงานการตรวจวิเคราะห์และเฝ้าระวังโรคทางห้องปฏิบัติการ (ศปส.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (สวส.) อาคาร 1 ชั้น 1 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โทรศัพท์ 02-9511485, 02-5912153
- ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 15 แห่ง ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- ติดต่อสอบถามเพิ่มเติมที่ฝ่ายอาโปไวรัส โทรศัพท์ 02-5899850-8, 02 951-0000 ต่อ 99219-20, 99304

## เอกสารอ้างอิง

- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการเก็บตัวอย่างและการส่งตัวอย่าง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, 2559.
- กองโรคติดต่อมาโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการดำเนินงานเฝ้าระวังป้องกัน ควบคุมโรคติดต่อมาโดยยุงลาย สำหรับเจ้าหน้าที่สาธารณสุข พ.ศ. 2564. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์อักษรกราฟิกแอนด์ดีไซน์, 2564.
- กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเด็งกีในผู้ใหญ่ พ.ศ. 2563. นนทบุรี : กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2563.
- มนสิณีย์ จันทร์สว่าง วินัย รัตนสุวรรณและโสภณ เอี่ยมศิริถาวร. การใช้ชุดตรวจการติดเชื้อไวรัสเดงกี (DENV NS1) และการรายงานโรคไข้เลือดออกตามระบบเฝ้าระวังโรค รง. 506 ในเขตกรุงเทพมหานคร. วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข ปีที่ 14 ฉบับที่ 1 , 2563.
- ฝ่ายอาชีวเวช กลุ่มไวรัสวิทยาทางการแพทย์. SOP 13-02-308 เรื่อง การเพาะเชื้อไวรัสเดงกีโดยใช้เซลล์ C6/36. แก้ไขครั้งที่ 11, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2565.
- งานระบาดวิทยา กลุ่มงานควบคุมโรคติดต่อ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดน่าน. ระบาดวิทยาน่าน. โรคไข้เลือดออกเด็งกี หรือ ไข้เลือดออก [ออนไลน์]. [สืบค้น 5 มิ.ย. 2566]. เข้าถึงได้ที่: <https://www.nno.moph.go.th/epidnan/index.php/component/content/article.html?id=110:dengue-fever>
- WHO Regional Office for South-East Asia. Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue haemorrhagic fever. Revised and expanded edition. New Delhi: World Health Organisation South East Asia Regional Office; [Internet]. 2009 [cited 2023 June 5]; Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547871>
- Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies for dengue viruses; [Internet]. 2007 [cited 2023 June 5]; Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69687/who\\_ivb\\_07.07\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69687/who_ivb_07.07_eng.pdf?sequence=1)
- Zhang B., *et al.* Diagnosing dengue virus infection: rapid tests and the role of micro/nanotechnologies. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine Volume 11, Issue 7, 2015, Pages 1745-1761