

**IDENTIFICATION OF DENGUE SEROTYPES ALONG THE
THAI-LAOS BORDER USING THE NASBA TECHNIQUE**

SANGCHAI YINGSAKMONGKON

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2004**

ISBN 974-04-4570-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การตรวจวินิจฉัยแยกซีโรไทป์ของเชื้อไวรัสไข้เลือดออกในเขตพื้นที่ชายแดนไทยลาวด้วยวิธี NASBA
(IDENTIFICATION OF DENGUE SEROTYPES ALONG THE THAI-LAOS BORDER
USING THE NASBA TECHNIQUE)

แสงชัย ชัยศักดิ์มงคล 4437559 TMTM/M

วท.ม. (อายุรศาสตร์เขตร้อน) สาขาวิชา ภูมิคุ้มกันวิทยา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : วิชาวิ อุษาวัดนากุล, Dr.Med.Sc., Mammen P. Mammen, JR,
พ.บ., สมบัติ ตรีประเสริฐสุข, ว.ว.(อายุรศาสตร์), เกรียงศักดิ์ ลิ้มปัทมกุล, ว.ว.(กุมารเวชศาสตร์), ชารี
รัตน์ กะลิมพะเทติ, Ph.D. (Microbiology)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เพื่อตรวจวินิจฉัยหาซีโรไทป์ของเชื้อไข้เลือดออกและหาความไวและความจำเพาะ
ของวิธี NASBA กลุ่มตัวอย่างเป็นคนป่วยที่สงสัยว่าเป็นโรคไข้เลือดออกจำนวน 402 คน และเด็กนักเรียน
จำนวน 171 คน อายุอยู่ในช่วง 2-15 ปี ซึ่งอาศัยอยู่ในจังหวัดหนองคาย นครพนม และมุกดาหาร ทำ
การเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมิถุนายนถึงกันยายน พ.ศ.2545 ตัวอย่างที่ได้นำมาทำการทดสอบด้วยกัน 4
วิธี คือ ชุดตรวจ Combo Q Check, วิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), วิธี
polymerase chain reaction (PCR) และ วิธี nucleic acid sequence-based amplification
(NASBA) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีเชิงพรรณนา, วิธี Cochran's Q, วิธี McNemar และ วิธี
Kappa.

ในการศึกษานี้พบเชื้อไวรัสไข้เลือดออกทั้ง 4 ซีโรไทป์ในจังหวัดหนองคาย และนครพนม ยก
เว้นในจังหวัดมุกดาหารที่พบเฉพาะซีโรไทป์ 2 โดยวิธี PCR และ NASBA พบว่ามีความสัมพันธ์กัน
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างวิธี PCR และ NASBA (วิธี Cochran's Q = 7.22, P = 0.065, N =
78) ระหว่างที่จำนวนผู้ป่วยที่ให้ผลบวกกับวิธี ELISA มากกว่า ผู้ป่วยที่ให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ Combo
Q Check อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P= 0.02 วิธี NASBA เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี PCR จำแนกแต่ละซี
โรไทป์ (1-4) พบว่า มีความไวเท่ากับ 100, 100, 88.89 และ 100% ตามลำดับ ส่วนความจำเพาะของ
NASBA เท่ากับ 100, 99.32, 100 และ 100% ตามลำดับการหาซีโรไทป์ ความไว และ ความจำเพาะ
ของ NASBA คล้ายคลึงกับ PCR ($\kappa=0.97$) ดังนั้นวิธี NASBA จึงเหมาะสมที่จะใช้ในพื้นที่มากกว่า
PCR เพราะรวดเร็วกว่าและใช้เพียง heating box และ waterbath เท่านั้น

IDENTIFICATION OF DENGUE SEROTYPES ALONG THE THAI-LAOS BORDER USING THE NASBA TECHNIQUE

SANGCHAI YINGSAKMONGKON 4437559 TMTM/M

M.Sc. (TROPICAL MEDICINE) MAJOR IN IMMUNOLOGY

THESIS ADVISOR: WIPAWEE USAWATTANAGUL, Dr.Med.Sc., MAMMEN P. MAMMEN, JR, M.D., SOMBAT TREEPRASERTSUK, F.R.C.P.(Thailand), KRIENGSAK LIMKITTIKUL, F.R.C.P.(Pediatrics), THAREERAT KALAMBAHETI, Ph.D. (MICROBIOLOGY),

ABSTRACT

In this study, the detection of dengue serotypes was determined by NASBA technique. The samples were 402 probable DF/DHF patients and 171 students, aged 2-15 years and living in Nhong Kai, Nakhorn Phanom, and Mukdahan provinces. Data were collected from June to September 2002. The samples were tested by Combo Q Check test kit, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), polymerase chain reaction (PCR) and nucleic acid sequence-based amplification (NASBA). Statistical analyses used were descriptive statistics, Cochran's Q test, McNemar test, and Kappa. Four serotypes of dengue virus were found in 2 provincial hospitals, except in Mukdahan Provincial Hospital, where only dengue virus serotype 2 was found. Mainly, dengue virus infections were due to dengue 2, by PCR and NASBA. There was excellent correlation in determination of dengue serotypes between PCR and NASBA (Cochran's Q test, $P = 0.065$, $N = 78$), while the positive cases determined by ELISA were more than those determined by Combo Q Check test (McNemar test, $P = 0.02$, $N = 78$).

When compared to the PCR method, the sensitivities of NASBA by dengue 1-4 were 100, 100, 88.89, and 100%, respectively, while the specificities of NASBA by dengue 1-4 were 100, 99.32, 100, and 100%, respectively. For serotyping, NASBA showed similar specificity and sensitivity to PCR ($\kappa = 0.97$), was also rapid and used only a heating block and water bath. Therefore, the NASBA technique was more suitable in the field than PCR.

KEY WORDS : DENGUE VIRUS, ELISA, NASBA, PCR

105 P. ISBN 974-04-4570-5