238398

ภัทธกร บุบผัน : การใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสเพื่อตรวจหาเชื้อมาลาเรียจากตัวอย่างปัสสาวะและน้ำลายของผู้ป่วยในประเทศไทย. (POLYMERASE CHAIN REACTION-BASED DETECTION OF MALARIA FROM HUMAN URINE AND SALIVA IN THAILAND) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ. ดร.จตุรงค์ พุทธพรทิพย์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ.นพ.ดร.สมชาย จงวุฒิเวศย์, ผศ.นพ.ประเสริฐ สิทธิเจริญชัย, 81 หน้า.

มาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขระดับโลก ส่งผลให้มีผู้ติดเชื้อปีละประมาณ 300-500 ล้านคนทั่วโลก และเสียชีวิตมากกว่า 1 ล้านคนในการวินิจฉัยมาลาเรียที่จำเพาะอาศัยการตรวจพบเชื้อปรสิตในระยะที่อาศัยอยู่ในเม็ดเลือดซึ่งอาศัยการเจาะเลือดจากผู้ป่วย อย่างไรก็ตามการตรวจพบเชื้อปรสิตโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสให้ผลความไวสูงกว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อมาลาเรียร่วมกันหลายชนิด เมื่อไม่นานมานี้มีการรายงานว่าดีเอ็นเอของพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่ม สามารถตรวจพบได้จากปัสสาวะและน้ำลายของผู้ป่วยในบริเวณที่มีการระบาดสูง ถึงแม้ว่ามีความไวต่ำกว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นเพื่อการตรวจสอบว่าดีเอ็นเอของพลาสโมเดียม ไวแวกซ์ สามารถตรวจพบได้ในน้ำลายและปัสสาวะได้เช่นกัน รวมทั้งเพื่อเป็นการยืนยันว่าดีเอ็นเอของเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่มสามารถตรวจพบได้ในพื้นที่ที่มีการระบาดต่ำ ในการศึกษานี้จึงทำการเก็บตัวอย่างเลือด น้ำลายและปัสสาวะจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียจำนวน 100 ตัวอย่าง และผู้ที่มีอาการไข้แต่ตรวจไม่พบเชื้อเชื้อมาลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างจากผู้เข้ารับการรักษาจากมาลาเรียคลินิก ในจังหวัดตากซึ่งอยู่ทางตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสเพื่อเพิ่มจำนวนในส่วนของยีนไรโบโซมหน่วยย่อยขนาดเล็กของเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่มและพลาสโมเดียม ไวแวกซ์ ทั้งนี้พื้นที่ที่ศึกษามีการกระจายของเชื้อมาลาเรียทั้งสองชนิดในอัตราที่ใกล้เคียงกัน ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกล้องจุลทัศน์พบว่าปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสของตัวอย่างน้ำลายมีความไวในการตรวจเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่ม ร้อยละ 74.1 และตรวจพบพลาสโมเดียม ไวแวกซ์ ร้อยละ 84 ในขณะที่ตัวอย่างปัสสาวะมีความไวร้อยละ 44.4 และ 34 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลการวินิจฉัยเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่มและพลาสโมเดียม ไวแวกซ์ จากตัวอย่างน้ำลายและปัสสาวะโดย เปรียบเทียบกับผลปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสจากตัวอย่างเลือดพบว่ามีความจำเพาะร้อยละ 100 ในกรณีการติดเชื้อร่วมกันของทั้ง 2 ชนิดของผู้ป่วยนั้นพบว่าการตรวจโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสโดยใช้ตัวอย่างเลือดพบภาวะการติดเชื้อร่วมกัน 26 รายและจากตัวอย่างน้ำลายพบ 8 ราย แม้ว่าอัตราการตรวจพบดีเอ็นเอของพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่มและพลาสโมเดียม ไวแวกซ์ จากตัวอย่างน้ำลายจะเพิ่มขึ้นตามอัตราความหนาแน่นของเชื้อในเลือด แต่กลับไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในกรณีของการติดเชื้อจากการตรวจปัสสาวะ อย่างไรก็ตามตัวอย่างน้ำลายและปัสสาวะจึงน่าจะเป็นแหล่งของสารพันธุกรรมที่สามารถใช้ตรวจหาเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิปารั่มและพลาสโมเดียม ไวแวกซ์ โดยไม่ต้องเจาะเลือดผู้ป่วย ทั้งนี้การพัฒนาวิธีการตรวจที่มีความไวสูงอาจทำให้สามารถใช้ตัวอย่างดังกล่าวในการวินิจฉัยโรคมาลาเรียได้

238398

## 5174805630: MAJOR MEDICAL PARASITOLOGY
KEYWORDS: NESTED PCR / SALIVA / URINE / MALARIA

PATTAKORN BUPPAN: POLYMERASE CHAIN REACTION-BASED DETECTION OF MALARIA FROM HUMAN URINE AND SALIVA IN THAILAND. THESIS ADVISOR: ASST PROF. CHATURONG PUTAPORNTIP, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: PROF. SOMCHAI JONGWUTIWES, M.D, Ph.D., ASST PROF. PRASERT SITTHICHAREONCHAI., 81 pp.

Malaria remains an important public health problem worldwide that affects approximately 300 to 500 million people, leading to over 1 million deaths each year. Definite diagnosis of malaria relies on microscopy detection of blood stages of parasites in peripheral blood which requires blood sample collection. However, the nested PCR method has shown to be more sensitive and superior to microscopy in detecting parasites in circulation, especially when co-infections of *Plasmodium* species occurred. Recent studies have revealed that *P. falciparum* DNA can be identified in urine and saliva of patients in malaria hyperendemic areas, albeit at a lower sensitivity than microscopy. To address whether *P. vivax* DNA could also be detected in saliva and urine specimens and to reaffirm the presence of *P. falciparum* DNA in these samples of infected individuals in a hypoendemic area, we collected blood, saliva and urine samples from 100 microscopy-positive and 20 microscopy-negative febrile patients who attended a malaria clinic in Tak Province, northwestern Thailand for nested PCR analysis targeting the small subunit ribosomal RNA gene of human malaria. Both *P. falciparum* and *P. vivax* have been known to circulate at a comparable rate in the study area. Comparing with microscopy results, nested PCR of saliva samples had a sensitivity of 74.1% for *P. falciparum* detection and 84% for *P. vivax* detection while 44.4% and 34.0% of the corresponding values were observed for urine samples. Both nested PCR results of saliva and urine samples had a specificity of 100% for identification of *P. falciparum* and *P. vivax* when compared with nested PCR results from blood. Co-infections of both species were found in 26 and 8 patients by nested PCR of blood and saliva samples, respectively. Although the positive rates of nested PCR of saliva samples for *P. falciparum* increased with parasite density, no such tendency occurred in results from nested PCR of saliva samples for *P. vivax* as well as those of urine samples. Saliva and urine samples could be alternative noninvasive sources of DNA for molecular detection of both *P. falciparum* and *P. vivax*. Further improvement of the detection method will offer an opportunity to use these samples for a practical malaria diagnostic purpose.