

ด่วนที่สุด

ที่ สธ 0419/ 4477



คณ. สธ. ตปค
เลขที่ 040
ลง 1400

เลขที่	25-1849
วันที่	14 50
เวลา	14 50

กระทรวงสาธารณสุข

ถนนติวานนท์ จังหวัดนนทบุรี 11000

สธ. 0419/ 4477

25 กันยายน 2549

26 ก.ย. 2549

เรื่อง ผู้ป่วยยืนยันไข้หวัดนกสายพันธุ์สามของปี 2549 จากจังหวัดหนองบัวลำภู

สธ. 2/ 502
184444

เรียน หัวหน้าคณะปฏิบัติการปกครองในระบอบประชาธิปไตย อันมีพระมหากษัตริย์ทรงเป็นประมุข

184444

- สิ่งที่ส่งมาด้วย 1. สำเนาหนังสือกรมควบคุมโรค ที่ สธ 0419.1/4183 ลงวันที่ 25 กันยายน 2549
2. ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วย (ภาคผนวกที่ 1)
3. สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ (ภาคผนวกที่ 2)

ความเป็นมา

1. ไข้หวัดนกเป็นโรคติดเชื้ออุบัติใหม่ที่มีความรุนแรงและมีความสำคัญที่องค์การอนามัยโลกและองค์การสหประชาชาติเรียกร้องให้สมาชิกทุกประเทศทำการเฝ้าระวังและควบคุมป้องกันโรคอย่างจริงจัง รวมถึงการรายงานแจ้งเหตุ เพื่อมิให้เกิดการแพร่ขยายตัวกลายเป็นการระบาดใหญ่ทั่วโลก ที่จะทำให้มีประชาชนล้มป่วยและเสียชีวิตจำนวนหลายล้านคนเหมือนอดีตที่ผ่านมา
2. กระทรวงสาธารณสุขได้ทำการเฝ้าระวังโรคไข้หวัดนกที่ติดต่อมาสู่คน และดำเนินการมาตรการควบคุมอย่างต่อเนื่อง นับตั้งแต่ปี 2547 มีรายงานผู้ป่วยรวมทั้งสิ้น 24 ราย เสียชีวิต 16 ราย โดยแยกเป็นปี 2547 มีผู้ป่วย 17 ราย (เสียชีวิต 12 ราย) ปี 2548 มีผู้ป่วย 5 ราย (เสียชีวิต 2 ราย) และปี 2549 มีผู้ป่วยเกิดขึ้น 2 ราย (เสียชีวิตทั้ง 2 รายที่จังหวัดพิจิตร และ อุทัยธานี)
3. เมื่อวันที่ 22 กันยายน 2549 ที่ผ่านมา คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านยุทธศาสตร์การควบคุมโรคของกระทรวงสาธารณสุขซึ่งประกอบด้วยผู้ทรงคุณวุฒิจากกระทรวงสาธารณสุข มหาวิทยาลัย และผู้แทนองค์การอนามัยโลกประจำประเทศไทย ได้ดำเนินการทบทวนผลการสอบสวนโรคผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นไข้หวัดนกจากจังหวัดหนองบัวลำภูที่เริ่มป่วยตั้งแต่วันที่ 14 กรกฎาคม 2549 และเสียชีวิตในวันที่ 10 สิงหาคม 2549 ที่ผ่านมา คณะกรรมการเห็นว่าหลักฐานทางการแพทย์ที่ได้ศึกษาอย่างละเอียดหลังเสียชีวิตชี้ชัดว่าผู้ป่วยรายนี้ป่วยด้วยไข้หวัดนก

4. ผู้ป่วยรายล่าสุดนี้เป็นชาย อายุ 59 ปี อาชีพทำนา อยู่กับภรรยาสองคนที่หมู่ 4 บ้านโคกม่วงชุม ต. โนนเมือง อ. โนนสัง จ. หนองบัวลำภู มีประวัติสัมผัสกับไก่ในบ้านที่เลี้ยงไว้และทยอยตายเรื่อยมา ต่อมาเมื่อมีอาการปอดบวม ได้รับการรักษาแบบไข้หวัดนกอย่างถึงที่สุดที่โรงพยาบาลหนองบัวลำภู แต่ผู้ป่วยมีภาวะแทรกซ้อนและเสียชีวิตลง เนื่องจากอาการป่วยมีระยะเวลานานผิดปกติจากผู้ป่วยรายอื่นๆ และการตรวจก่อนเสียชีวิตไม่เพียงพอที่จะยืนยันว่าติดเชื้อไข้หวัดนก กระทรวงสาธารณสุขและคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาลได้ทำการชันสูตรศพและศึกษาทางห้องปฏิบัติการอย่างละเอียดจนสามารถแยกเชื้อและพิสูจน์สุดท้ายได้ว่าผู้ป่วยเป็นโรคไข้หวัดนกจริง รายละเอียดสิ่งที่ส่งมาด้วย 1

ข้อพิจารณา

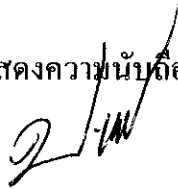
1. เมื่อพบผู้ป่วยและดำเนินการสอบสวนจนแน่ชัดว่าเป็นผู้ป่วยไข้หวัดนก กระทรวงสาธารณสุขจะรายงานให้รัฐมนตรีกระทรวงสาธารณสุขและนายกรัฐมนตรีทราบ และรายงานต่อไปยังองค์การอนามัยโลกตามข้อตกลงว่าด้วยกฎอนามัยระหว่างประเทศปี 2005 (International Health Regulation 2005) ที่ประเทศสมาชิกได้ให้การรับรอง

2. ปัจจุบันไข้หวัดนกได้กลายเป็นโรคประจำถิ่นของประเทศไทย ยากที่จะทำให้เกิดการปลอดโรคได้ในเวลาอันสั้น แต่สามารถควบคุมมิให้การแพร่ระบาดขยายตัวทั่วประเทศได้เหมือนในปีแรก จึงเห็นควรให้จัดเป็นปัญหาที่มีความสำคัญ และให้มีการประกาศแจ้งเตือนประชาชนทุกครั้งที่พบเชื้อในสัตว์ปีกหรือมีคนป่วย ในกรณีที่มีผู้ป่วยกระทรวงสาธารณสุขก็จะได้ดำเนินการให้ข่าวต่อสื่อมวลชน เพื่อให้ประชาชนและสาธารณะได้รับทราบข้อมูลที่ถูกต้อง ซึ่งจะทำให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถดำเนินการได้อย่างเต็มที่ตามหลักวิชาการควบคุมโรค

ข้อเสนอ

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา หากเห็นชอบกระทรวงสาธารณสุขจะได้ดำเนินการต่อไป

ขอแสดงความนับถือ



(นายปราชญ์ บุณยวงศ์วิโรจน์)

ปลัดกระทรวงสาธารณสุข

ผู้อำนวยการของรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

กรมควบคุมโรค

สำนักโรคระบาดวิทยา

โทร. 0-2590-1776

โทรสาร 0-2590-1784



ด่วนที่สุด

บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กรมควบคุมโรค สำนักกระบาดวิทยา โทร. 0-2590-1776
 ที่ สธ 0419.1/4183 วันที่ ๒๕ กันยายน ๒๕๔๙
 เรื่อง ผู้ป่วยยืนยันไข้หวัดนกสายพันธุ์สามของปี ๒๕๔๙ จากจังหวัดหนองบัวลำภู

เรียน ปลัดกระทรวงสาธารณสุข

ความเป็นมา

กรมควบคุมโรค โดยสำนักกระบาดวิทยา ได้รายงานผลการสอบสวนโรคเบื้องต้น ผู้ป่วยสงสัยไข้หวัดนกชื่อ นายประเทือง คำจันทร์ดี อายุ ๕๙ ปี อาชีพทำนา อยู่กับภรรยาสองคนที่ หมู่ ๔ บ้านโคกม่วงชุม ต. โนนเมือง อ. โนนสัง จ. หนองบัวลำภู มีข้อมูลสำคัญคือ

- ผู้ป่วยเริ่มมีอาการเมื่อวันที่ ๑๔ กรกฎาคม ๒๕๔๙ โดยมีไข้ ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว ไปรักษาที่ สถานีอนามัย ห้วยมะหรี อาการไม่ดีขึ้น วันที่ ๒๑ กรกฎาคม ๒๕๔๙ ไปรักษาแบบผู้ป่วยนอกที่โรงพยาบาลโนนสัง และวันที่ ๒๓ กรกฎาคม ๒๕๔๙ รักษาเป็นผู้ป่วยใน สงสัยโรคเลปโตสไปโรซิส
- ผู้ป่วยอาการไม่ดีขึ้น มีไข้สูง หอบ จึงส่งต่อเข้ามารับการรักษาเป็นผู้ป่วยในที่โรงพยาบาลหนองบัวลำภูเมื่อวันที่ ๒๖ กรกฎาคม ๒๕๔๙ แพทย์สงสัยติดเชื้อแบคทีเรีย ผู้ป่วยอาการไม่ดีขึ้น วันที่ ๒๘ กรกฎาคม ๒๕๔๙ ญาติพึ่งให้ประวัติไก่อที่บ้านตาย แพทย์จึงให้ยาต้านไวรัสและรักษาแบบไข้หวัดนกคู่ขนานกันไป
- แพทย์ได้ทำการส่งตัวอย่างตรวจ รวม ๙ ครั้ง โดยมีเพียงครั้งแรกที่เก็บก่อนให้ยา ผลการตรวจทั้งหมดไม่พบสารพันธุกรรมต่อเชื้อ Influenza A ทุกชนิด สุดท้ายผู้ป่วยเสียชีวิตในวันที่ ๑๐ สิงหาคม ๒๕๔๙ เวลาประมาณเที่ยงคืน
- ทางกรมควบคุมโรคร่วมกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และคณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาลได้การศึกษาเพื่อหาสาเหตุต่อ โดยทำการชันสูตรศพและร่วมกันตรวจหาสารพันธุกรรมและแยกเชื้อไวรัสจากอวัยวะภายใน อูจจาระ และสารคัดหลั่งต่างๆ รวมถึงตรวจหาระดับภูมิต้านทาน

ขณะนี้การตรวจที่สำคัญได้ผลเรียบร้อยแล้ว กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้นำผลการสอบสวนเสนอต่อคณะกรรมการ Strategic Advisory Committee โดยมีศาสตราจารย์เกียรติคุณนายแพทย์ประเสริฐ ทองเจริญ เป็นประธาน เมื่อวันที่ ๒๒ กันยายน ๒๕๔๙

ความกึ่งหน้า คณะกรรมการมีความเห็นเป็นเอกฉันท์ว่า ผู้ป่วยรายนี้จัดเป็นผู้ป่วยยืนยัน (Confirm case) ตามนิยามเฝ้าระวังผู้ป่วยไข้หวัดนกของกระทรวงสาธารณสุขที่ใช้ในปัจจุบัน และขององค์การอนามัยโลก เพราะมีองค์ประกอบครบทั้งสามข้อดังนี้คือ

1. อาการทางคลินิก ผู้ป่วยมีอาการไข้ และระบบทางเดินหายใจ ภาพรังสีทรวงอกที่ทำต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 26 กรกฎาคม 2549 ถึงขณะเสียชีวิต รวม 11 ครั้ง พบว่ามีเงาปอดอักเสบรุนแรงทั้งสองข้าง การชันสูตรศพยืนยันว่าปอดมีพยาธิสภาพจากการอักเสบเช่นกัน โดยลักษณะสุดท้ายที่พบเป็นลักษณะ Broncho pneumonia

2. ผู้ป่วยมีประวัติสัมผัสกับสัตว์ปีกที่ป่วยและตายผิดปกติอย่างชัดเจน โดยบ้านที่ผู้ป่วยอาศัยอยู่จะแยกออกมาจากบ้านอื่นๆ ผู้ป่วยเลี้ยงไก่ดี ไว้ประมาณ 40-50 ตัวเป็นไก่ตัวโตประมาณ 30 ตัว เลี้ยงแบบปล่อย ในช่วงหนึ่งเดือนก่อนป่วย ไก่ที่เลี้ยงไว้เริ่มทยอยตายวันละ 2 ถึง 3 ตัวเรื่อยมา ผู้ป่วยจะนำยาพวกสมุนไพรพื้นบ้านหยอดไก่ที่มีอาการหงอย และเมื่อไก่ตายลงก็จะนำไปฝังเองหากจากบ้านประมาณ 100 เมตร

3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบสารพันธุกรรมต่อเชื้อ H5N1 และสามารถแยกเชื้อไวรัสได้ แม้ว่าการตรวจสารคัดหลั่งที่ได้จากท่อทางเดินหายใจ (Tracheal aspiration 5 ตัวอย่าง และ Nasopharyngeal swab กับ Throat swab 4 ตัวอย่าง) ก่อนจะเสียชีวิตไม่พบสารพันธุกรรม แต่การตรวจหลังชันสูตรศพ ได้ผลดังนี้

3.1 ย้อมตัวอย่างชิ้นเนื้อปอดและหลอดลมด้วย โดยการย้อมด้วย monoclonal antibody โดยวิธี immunofluorescence พบหลักฐานว่ามีการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ ซึ่งเมื่อนำมาตรวจต่อก็ยืนยันว่าสารพันธุกรรมดังกล่าวเป็นของสายพันธุ์ H5N1

3.2 พบสารพันธุกรรม H5N1 จากอุจจาระในลำไส้

3.3 แยกเชื้อไวรัส Influenza A ได้จากอุจจาระและเนื้อปอด และเมื่อนำมายืนยันก็พบว่าเป็นสายพันธุ์ H5N1 เช่นกัน

3.4 นำไวรัสที่แยกได้มาถอดรหัสพันธุกรรมดูการเรียงตัว เชื่อได้ว่าเป็นไวรัสในตัวคนไข้จริง ไม่น่าจะเกิดจากการปนเปื้อนเชื้อจากไวรัสตัวเก่าที่เคยแยกได้ในห้องปฏิบัติการ และเชื้อไวรัสนี้ยังไวต่อยา Oseltamivir ที่ใช้อยู่ (รายละเอียดการตรวจทางห้องปฏิบัติการอยู่ในภาคผนวก 1 และ 2 ที่แนบมา)

แม้ว่าสาเหตุเบื้องต้นของการป่วยเกิดจากการติดเชื้อไข้หวัดนก แต่การชันสูตรศพสุดท้ายพบว่าผู้ป่วยเสียชีวิตจากภาวะแทรกซ้อนติดเชื้อแบคทีเรีย *Acinetobacter baumannii* ชนิดคือต่อยาปฏิชีวนะหลายขนาน ซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อยในคนไข้ภาวะวิกฤตที่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจเป็นเวลานาน

ข้อพิจารณา

1. ควรจะเร่งแจ้งผลสรุปการสอบสวนผู้ป่วยรายนี้ต่อผู้เกี่ยวข้อง (โรงพยาบาล สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ผู้ว่าราชการจังหวัด กรมปศุสัตว์ องค์การอนามัยโลก) และสื่อมวลชนโดยเร็ว เนื่องจากผู้ป่วยเสียชีวิตตั้งแต่วันที่ 10 สิงหาคม 2549 และเวลาล่วงเลยมา 6 สัปดาห์ ซึ่งสามารถชี้แจงข้อเท็จจริงว่าผู้ป่วยรายนี้เป็นกรณีที่เกิดปกติ จึงต้องใช้เวลาพิสูจน์อย่างละเอียดตามหลักวิทยาศาสตร์ การเปิดเผยต่อสาธารณะจะทำให้กระทรวงสาธารณสุขได้รับความเชื่อถือในเรื่องความโปร่งใสของข้อมูลและมาตรฐานวิชาชีพ

2. สนับสนุนให้มีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในผู้ป่วยรายนี้อย่างเร่งด่วนเพื่อให้เกิดความรู้ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นรายที่มีความพิเศษ (unusual case) ในหลายๆด้าน อันได้แก่

- อาการแสดงทางคลินิกที่กินเวลานานนับตั้งแต่เริ่มป่วยจนเสียชีวิต
- การตรวจไม่พบเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนหรือส่วนกลางแต่พบในปอด ซึ่งอาจเป็นผลจากยาหรืออาจเป็นเหตุผลอื่นเช่นธรรมชาติของตัวเชื้อ
- การตรวจไม่พบภูมิคุ้มกัน ซึ่งควรจะเกิดขึ้นหลังติดเชื้อสองหรือสามสัปดาห์ ซึ่งในต่างประเทศก็มีรายงานเช่นเดียวกันแต่ไม่มาก
- การพบสารพันธุกรรมและการเรียงตัวของรหัสพันธุกรรมที่อาจแสดงถึงว่าเป็นเชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงน้อยหรือมีอาจมีประชากรไวรัสที่มีความรุนแรงน้อยและความรุนแรงมากปนอยู่ด้วยกัน

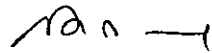
การศึกษาเหล่านี้จะช่วยพัฒนาแนวทางการวินิจฉัย การเก็บตัวอย่าง การตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งควรได้รับการเผยแพร่ในวงการแพทย์และสาธารณสุขเพื่อประโยชน์การพัฒนาวิชาการของประเทศและประชาคมโลกต่อไป

3. สมควรชมเชยเพื่อสร้างกำลังใจให้คณะแพทย์จากโรงพยาบาลหนองบัวลำภู ที่ให้การดูแลรักษาผู้ป่วยอย่างถึงที่สุด และทำการส่งตัวอย่างต่อเนื่อง และรายงานโรคอย่างเร่งด่วน อันเป็นมาตรฐานที่ดีของวงการแพทย์ ทีมเฝ้าระวังสอบสวนโรค (SRRT) ของสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดและสำนักงานป้องกันควบคุมโรคเขต ที่ออกควบคุมโรคทันที จนถึงปัจจุบันไม่พบผู้ป่วยรายใหม่ในชุมชน และบุคลากรทุกคนที่เกี่ยวข้องก็เป็นปกติ และทีมงานด้านห้องปฏิบัติการอันประกอบด้วยนักวิทยาศาสตร์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และคณะแพทย์ศิริราชพยาบาลที่ได้ร่วมกันศึกษาจนประสบผลสำเร็จในการตรวจยืนยัน

ข้อเสนอ

จึงเรียนมาเพื่อ โปรด

1. ทราบ
2. อนุมัติในกรณีที่เห็นควรเรียนแจ้งคณะปฏิรูปการปกครองในระบอบประชาธิปไตย อันมีพระมหากษัตริย์ทรงเป็นประมุข
3. ลงนามหนังสือเรียนคณะปฏิรูปการปกครองในระบอบประชาธิปไตย อันมีพระมหากษัตริย์ทรงเป็นประมุข ด้วย จะเป็นพระคุณ



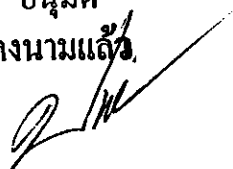
(นายกิตติ กิตติอำพน)

รองอธิบดีปฏิบัติราชการแทน

อธิบดีกรมควบคุมโรค

อนุมัติ

ลงนามแล้ว



(นายปราชญ์ นุชแขวงสุวรรณ)

ปลัดกระทรวงสาธารณสุข

25 ก.ย. 2549

ภาคผนวก 1

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วย นายประเทือง คำจันดี ที่คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

สิ่งที่ส่งมาด้วย 2

เมื่อวันที่ 12 สิงหาคม 2549 ได้ทำการตรวจ autopsy ที่ ร.พ. หนองบัวลำภู ตรวจหาพยาธิสภาพ และ
เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ผลการตรวจ autopsy

- Confluent bronchopneumonia with focal organizing pneumonia and interstitial fibrosis
- Pulmonary congestion, edema, and hemorrhage
- Tracheal erosion
- Splenic congestion
- Centrilobular congestion of liver
- Fibrotic nodules, tracheal nodes consistent with healed tuberculosis
- Congested viscera
- Unremarkable marrow

สิ่งที่ส่งตรวจ

- Nasopharyngeal swab และ suction เก็บตัวอย่างวันที่ 8 สิงหาคม 2549 ส่งถึงห้องปฏิบัติการคณะ
แพทยศาสตร์ศิริราชฯ วันที่ 12 สิงหาคม 2549
- Serum เก็บตัวอย่างวันที่ 28 กรกฎาคม, 8 และ 11 สิงหาคม 2549 ห้องปฏิบัติการคณะแพทยศาสตร์ศิริราชฯ
ได้รับซีรัมของวันที่ 8 สิงหาคม ในวันที่ 12 สิงหาคม 2549
- ชิ้นเนื้อจากอวัยวะต่างๆที่เก็บจาก autopsy เก็บแช่แข็งทันทีที่ถึงห้องปฏิบัติการคณะแพทยศาสตร์ศิริราชฯ
เมื่อวันที่ 12 สิงหาคม 2549
- ตัวอย่างอุจจาระเก็บจากลำไส้ในขณะทำ autopsy

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่าง nasopharyngeal swab และ suction ไม่สามารถแยกเชื้อไวรัสได้ในเซลล์ MDCK เนื่องจาก
specimen มี toxicity กับเซลล์ และตรวจไม่พบ RNA ของไวรัสไข้หวัดใหญ่ และไวรัสไข้หวัดนก H5N1
ด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ primers ต่อไปนี้
M (Flu A specific) (designed by Siriraj scientist-Kantima)
H5 (Poddar)
H5 (WHO)
N1 (designed by Siriraj scientist-Kantima)
N1 (WHO)
โดยที่ internal control สำหรับ RNA ซึ่งได้แก่ GAPDH mRNA ได้ผลบวก ซึ่งแสดงว่าเก็บตัวอย่างได้
ปริมาณเซลล์เพียงพอ

- ตัวอย่างอุจจาระตรวจพบ RNA ของยีน H5 ด้วยวิธี conventional RT-PCR โดยใช้ primers ทั้งของ Poddar และ WHO และสามารถแยกเชื้อได้ในเซลล์ MDCK และยืนยันว่าเป็นไวรัส H5N1 ด้วย RT-PCR และ sequencing
- ตัวอย่าง serum ของวันที่ 8 สิงหาคม 2549 ตรวจไม่พบยีน H5 และ N1 ด้วยวิธี RT-PCR
- ตัวอย่าง serum วันที่ 28 กรกฎาคม, 8 และ 11 สิงหาคม 2549 ตรวจหา neutralizing antibody ได้ผลลบทดสอบกับไวรัส A/Thailand/I(KAN-1)/2004(H5N1) และกับ autologous virus
- ชิ้นเนื้อปอดทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียพบ *Acinetobacter baumannii* เป็น pure colonics และเป็นเชื้อ multidrug-resistant
- ตัวอย่างชิ้นเนื้อจากหลอดลมและปอดตรวจพบผลดังต่อไปนี้

Immunofluorescence test ตรวจพบ influenza A antigen

RT-PCR ให้ผลบวกต่อ RNA genome เหล่านี้

H5 ด้วย primer ของ Poddar และ WHO

N1 ด้วย primer ของ WHO และ Kantima

M ด้วย primer ของ Kantima

สามารถเพาะแยกเชื้อได้จากเนื้อเยื่อปอดยืนยันเป็นไวรัส H5N1 ด้วย RT-PCR และ sequencing

- ไวรัสที่แยกได้จากปอดและอุจจาระมีลักษณะดังต่อไปนี้

ไวรัสจากอุจจาระไวต่อ oseltamivir แต่ไวรัสจากปอดมีระดับความไวต่อยานี้ลดลงเล็กน้อย ไวรัสจากปอดมี receptor binding preference เป็นแบบของ avian type (2,3-linked sialic-specific) รหัสพันธุกรรมของยีน HA, NP, PB1 และ PB2 มีลักษณะอยู่ใน clade I เหมือนกับไวรัสของประเทศอื่นๆ และไม่ซ้ำกับไวรัสอื่นที่มีอยู่เดิมในห้องปฏิบัติการ จึงไม่ใช่ไวรัสที่เกิดจากการปนเปื้อนจากไวรัสอื่น

- รหัสพันธุกรรมของไวรัสที่แยกจากชิ้นเนื้อต่างๆด้วยวิธี RT-PCR มีลักษณะพิเศษที่น่าสนใจดังนี้

ยีน HA ของไวรัสมีสองลักษณะได้แก่ แบบที่มี cleavage site เป็น multiple basic amino acid เช่นเดียวกับไวรัส H5N1 อื่นๆ ซึ่งเป็นสิ่งที่แสดงถึงความรุนแรงในการก่อโรคที่สูง และผสมกับไวรัสที่มี cleavage site เป็นแบบ monobasic amino acid ซึ่งเป็นแบบของไวรัสที่มีความรุนแรงในการก่อโรคต่ำ โดยรหัสพันธุกรรมที่แยกได้จากอวัยวะต่างๆมีลักษณะของไวรัสทั้งสองแบบผสมปนกันอยู่ โดยในปอดและหลอดลมมีไวรัสที่เป็น monobasic cleavage เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่อวัยวะอื่นๆได้แก่ หัวใจ ม้าม ไต ลำไส้ มีไวรัสเป็นแบบ multiple basic acid ที่ cleavage site เป็นส่วนใหญ่ และในตับมีเฉพาะไวรัสชนิด multiple basic acid ที่ cleavage site

ภาคผนวก 2

สรุปผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วย นายประเทือง คำจันดี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สิ่งที่ส่งมาด้วย 3

ผลการตรวจ

1. ตัวอย่างส่งตรวจที่ สวก. อุดร 9 ครั้งแต่วันที่ 28 (ผู้ป่วยได้รับยาหลังจากเก็บตัวอย่างครั้งแรก), 29 ก.ค., 1, 4, 5, 7, 8, 9, และ 11 สิงหาคม 2549 เป็นตัวอย่างของเหลวจากระบบทางเดินหายใจ เช่น NPS, NS, TS, suction จาก ET tube

ผลตรวจไม่พบสารพันธุกรรมของ Flu-A, H1, H3 และ H5N1 โดยวิธี RT-PCR

2. ตัวอย่างตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2549 (7 ครั้ง) ถูกส่งมาให้ สวส.

- ตรวจไม่พบสารพันธุกรรม Flu-A, H1, H3, H5 โดย manual PCR และ Real-time PCR โดย primer ทั้งของ CDC และ WHO (วิธี real-time PCR ของ CDC ได้แยก probe ที่จำเพาะต่อ H5N1 Clade 1 และ 2) และที่ ฝ่าย ปกว. ออกแบบขึ้นเองก็ยังไม่ให้ผลเป็นลบ

- ทดลองแยกเชื้อในไข่ฟักและในเซลล์เลี้ยง แยกไม่ได้เชื้อไวรัส

- สวก. อุดรธานี ได้ส่งตัวอย่างซีรัม ครั้งแรกวันที่ 29 ก.ค. และ วันที่ 10 ส.ค. 2549 มาให้ สวส.

เพื่อหา rising NT antibody titer ต่อ H5N1 ผลการทดสอบ ไม่มี NT antibody titer กับซีรัมทั้ง 2 ตัวอย่าง

3. เมื่อผู้ป่วยเสียชีวิตวันที่ 11 สิงหาคม 2549 ได้มีความร่วมมือชันสูตรศพและเก็บตัวอย่างของผู้ป่วยส่งไปตรวจที่ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล เป็น

- ชิ้นเนื้อเยื่อจากอวัยวะภายในต่างๆ เช่น ปอด ตับ ลำไส้ หลอดลม และของเหลวจากหลอดลม

อุจจาระจากลำไส้ส่วนล่าง ผลการตรวจจากศิริราชพบว่า

- ไม่พบสารพันธุกรรม H5N1 จากชิ้นเนื้อของหลอดลม และของเหลวจากหลอดลม

- พบสารพันธุกรรมของไวรัส H5N1 จากชิ้นเนื้อของปอด และแยกเชื้อไวรัส H5N1 ได้จากอุจจาระ โดยเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยง

- ไม่พบ antibody ต่อ H5N1 ในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วย

4. ศิริราชได้ส่งตัวอย่างมาให้ สวส. ตรวจวิเคราะห์ คือ

ครั้งแรก เป็นเนื้อปอด และหลอดลม

ผลตรวจที่ สวส. พบว่า เนื้อเยื่อปอดชิ้นที่หนึ่งและหลอดลมให้ผลลบ H5N1 โดย RT-PCR และ real-time PCR

ครั้งที่สอง เป็น specimens 2 ชนิด คือ

- เนื้อปอดจากชิ้นส่วนใกล้เคียงกันกับครั้งแรกแต่แช่ในน้ำเลี้ยงเซลล์ (เนื้อเยื่อปอดชิ้นที่สอง)

- น้ำยาเลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงที่แยกเชื้อไวรัสได้จากอุจจาระ

ผลตรวจที่ สวส. พบว่า

- เนื้อเยื่อปอดชิ้นที่สอง ให้ผลบวก H5N1 (low +) (โดย RT-PCR และ real-time PCR)
- ตัวอย่างน้ำเลี้ยงเซลล์ที่แช่เนื้อปอดชิ้นที่สอง ให้ผลบวก H5N1 (strong +) (โดย RT PCR

และ real-time PCR)

- ตัวอย่างน้ำเลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงที่แยกเชื้อไวรัสได้จากอุจจาระ ให้ผลบวก H5N1 (strong +)

โดย RT-PCR และ real-time PCR

ผลการทดสอบอื่นๆ

- ยังแยกเชื้อไม่ได้จากตัวอย่างชิ้นเนื้อทั้งสองครั้ง
- ไม่พบ NT antibody titer ต่อไวรัส H5N1 ในตัวอย่างซีรัมที่เก็บต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 28 ก.ค. ถึง 11

ส.ค. 2549

วิจารณ์ผล

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ตรวจไม่พบสารพันธุกรรมของไวรัสและแยกเชื้อไม่พบจากตัวอย่างที่เก็บจากระบบทางเดินหายใจส่วนบนทุกตัวอย่างที่ได้รับโดยตรงจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี (โดยวิธี RT-PCR และ real-time PCR ทั้ง primers ของ CDC และ primers ที่ออกแบบเองสำหรับตรวจยืนยันส่วนอื่นๆ ของไวรัส) ซึ่งสอดคล้องห้องปฏิบัติการของศิริราช ที่ให้ผล RT-PCR เป็นลบในตัวอย่างชิ้นเนื้อของ trachea และของเหลวจากหลอดลมซึ่งเก็บหลังจากผู้ป่วยเสียชีวิต ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากมีปริมาณไวรัสในของเหลวต่ำมากทั้งในระยะแรกก่อนได้รับยา (ตัวอย่างวันที่ 28 ก.ค. 2548) และหลังได้รับยาด้านไวรัส เหตุผลอื่นที่สนับสนุนว่าน่าจะมีปริมาณไวรัสในของเหลวต่ำมาก คือ

- ชิ้นเนื้อจากปอด 2 ชิ้น ที่ได้รับจากศิริราชก็พบให้ RT-PCR เป็นบวกเฉพาะชิ้นที่สองที่แช่อยู่ในน้ำเลี้ยงเซลล์และมีผล RT-PCR เป็นบวกที่ค่อนข้างต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับผลบวกที่ชัดเจนในน้ำที่แช่ชิ้นเนื้อมา แสดงว่าเซลล์ของชิ้นเนื้อปอดมีการติดเชื้อเฉพาะแห่งเท่านั้น และทราบจากผล IFA ซึ่งทำโดยศิริราชพบว่า มีเซลล์ที่ให้ผลบวกลดน้อยมาก

- ผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อ H5N1 ในตัวอย่างซีรัมที่เก็บอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 28 ก.ค. ถึง 11 ส.ค. 2549 ก็ให้ผลเป็นลบ ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยมีไวรัสในเลือดต่ำมากหรือไม่มีเลย ทั้งๆที่ผู้ป่วยเริ่มมีอาการป่วยมาตั้งแต่วันที่ 14 ก.ค. 2549

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ยังแยกเชื้อไวรัสไม่ได้จากชิ้นเนื้อปอดทั้งสองชิ้น อย่างไรก็ตามก็ได้รับเชื้อที่แยกได้โดยศิริราชจากตัวอย่าง stool และพบว่าให้ผลบวก โดยวิธี RT-PCR และ real-time PCR และสามารถนำไปเพิ่มจำนวนเชื้อต่อในเซลล์เลี้ยงได้ จากการวิเคราะห์ลำดับ DNA ของไวรัส ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่เป็นนัยสำคัญในชิ้นส่วน HA และ NA และกำลังตรวจสอบยืนยันส่วนอื่นอยู่ต่อไป

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เห็นว่า primers ของ CDC ที่ใช้ตรวจตัวอย่างทั่วประเทศขณะนี้ยังสามารถใช้ได้ต่อไป เนื่องจากยังไม่มีองค์ประกอบใดๆที่แสดงว่ามีไวรัสในตัวอย่างที่ได้รับมากพอที่จะตรวจพบได้ อย่างไรก็ตามควรส่งตัวอย่างทั้งหมดที่ได้รับโดยตรงจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีไปศูนย์ไวรัสใช้หาค่าใหญ่ขององค์การอนามัยโลกตรวจสอบว่ามีไวรัสเพียงพอสำหรับการตรวจโดยวิธี PCR หรือไม่ ก่อนที่จะปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจให้เหมาะสมต่อไป

จากผลของผู้ป่วยรายนี้มีอาการของโรคและผลทางห้องปฏิบัติการที่แตกต่างจากผู้ป่วยโรคไข้หวัดนก รายอื่นๆในประเทศไทย จึงควรจะมีการศึกษาอย่างละเอียดต่อไป

วัฒนา อู่วานิชย์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วันที่ 16 กันยายน 2549