

สายพันธุ์ของไวรัสเดงกีในเขตสุขภาพที่ 2 ระหว่าง ปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2559

ชวลิต เกียรติวิษณุกุล วชิรินทร์ ศรีสกุล และจิราพร ศรีสกุล

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง พิษณุโลก 65000

บทคัดย่อ โรคติดเชื้อไวรัสเดงกีเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย ที่จำเป็นต้องเฝ้าระวังและควบคุม โดยมี ยุงลาย (*Aedes spp.*) เป็นพาหะนำเชื้อมาสู่คน เชื้อไวรัสเดงกีทุกซีโรทัยป์ ได้แก่ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 สามารถก่อโรคและเป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีความสำคัญต่อการระบาดในทุกพื้นที่ของประเทศ การศึกษานี้ใช้เทคนิค Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) เพื่อวิเคราะห์ซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีที่แพร่กระจายในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 2 ประกอบด้วย 5 จังหวัด คือ พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ และตาก โดยการเก็บตัวอย่าง พลาสมาของผู้ป่วยในระยะเฉียบพลัน ที่ได้รับการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าติดเชื้อไวรัสเดงกี ตั้งแต่เดือนมกราคม 2555 ถึง เดือนธันวาคม 2559 จากการศึกษาทั้งหมด 1,284 ตัวอย่าง พบผลบวกต่อสารพันธุกรรมของไวรัสเดงกี 696 ตัวอย่าง (ร้อยละ 54.2) โดยพบเป็น DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 จำนวน 148, 177, 276 และ 95 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 11.5, 13.8, 21.5 และ 7.4 ตามลำดับ นอกจากนี้ตรวจพบทุกซีโรทัยป์ได้ตลอดปี และในอัตราที่สูง ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคมของทุกปีที่ศึกษา โดยกลุ่มช่วงอายุ 15 – 24 ปี มีอัตราผลบวกสูงกว่ากลุ่มอายุอื่น ผลการศึกษานี้แสดงว่าเขตสุขภาพที่ 2 มีการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสเดงกีทุกซีโรทัยป์ ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดความรุนแรงของอาการทางคลินิกเพิ่มขึ้นจากการติดเชื้อซ้ำ การเฝ้าระวังสายพันธุ์ทางห้องปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอเป็นสิ่งสมควรพิจารณา เพื่อจะได้ข้อมูลนำไปสู่การวางแผนป้องกันและการเตรียมความพร้อมหากเกิดการระบาดในพื้นที่

บทนำ

โรคไข้เลือดออกเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสเดงกีซึ่งมียุงลาย (*Aedes spp.*) เป็นพาหะนำโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) เชื้อไวรัสเดงกีจัดอยู่ใน genus *Flavivirus* ของ Family *Flaviviridae* เป็นอนุภาครูปทรงกลม ส่วนเปลือกหุ้มประกอบไปด้วยเยื่อไขมันและโปรตีน โดยมีสารพันธุกรรมเป็น Ribonucleic Acid (RNA) สายเดี่ยวขนาดประมาณ 11 kilobase (kb) ซึ่งจะสร้างโปรตีน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโปรตีนโครงสร้าง (structural protein) มี 3 ชนิด คือ Capsid (C), Pre-Membrane (PrM), และ Envelope (E) ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่ได้รวมเป็นโครงสร้าง (nonstructural protein: NS) มี 7 ชนิด ได้แก่ NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B และ NS5 โปรตีนในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์สาย RNA และจำเป็นต่อการรวมตัวเป็นอนุภาคภายในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีแบ่งออกเป็น 4 ซีโรทัยป์ (serotypes) คือ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4⁽¹⁻³⁾

อาการทางคลินิกที่สำคัญของผู้ติดเชื้อไวรัสเดงกี คือ ไข้สูง ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน มีภาวะเลือดออก (Dengue Hemorrhagic Fever: DHF) และในรายที่มีอาการรุนแรงอาจเกิดภาวะช็อก (Dengue Shock Syndrome: DSS)⁽²⁾ ซึ่งภาวะทั้งสองอาจเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ จำเป็นต้องได้รับการวินิจฉัยอย่างถูกต้องและรวดเร็ว จากรายงานการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปัจจัยสำคัญที่ทำให้ไวรัสเดงกีก่อโรครุนแรงแตกต่างกัน⁽⁴⁻⁶⁾ ประกอบด้วย อายุ เพศ เชื้อชาติ การติดเชื้อซ้ำและสายพันธุ์ของไวรัส (viral strain) และยังมีรายงานว่าพื้นที่ที่มีไวรัสเดงกีหลายสายพันธุ์จะทำให้มีโอกาสดูติดเชื้อซ้ำสูง โดยการติดเชื้อซ้ำด้วย DEN-2 หรือ DEN-3 มีอัตราเสี่ยงที่จะเกิด DHF สูง นอกจากนี้ยังพบว่าการติดเชื้อซ้ำและต่างสายพันธุ์ คือ การติดเชื้อ DEN-2 หลังจากการติดเชื้อ DEN-1 มีอัตราเสี่ยงที่จะเกิด DHF มากที่สุด เมื่อเทียบกับการติดเชื้อ DEN-2 หลังจากการติดเชื้อ DEN-3 และ DEN-4⁽⁷⁾

การระบาดของเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่ปี พ.ศ. 2501 และเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศจนถึงปัจจุบัน⁽⁸⁾ โดยปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการแพร่กระจายของโรคแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ คือ ภูมิทัศน์ทางของประชาชน ชนิดของเชื้อไวรัสเดงกี ความหนาแน่นของประชากรและการเคลื่อนย้าย สภาพภูมิอากาศ ชนิดของยุงพาหะ นอกจากนี้ความรู้ ความเข้าใจ และความตระหนักของประชาชนในการกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ลูกน้ำยุงลายอย่างต่อเนื่อง เป็นสิ่งจำเป็นต่อการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคไข้เลือดออกได้⁽⁹⁾

การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี ELISA นั้นใช้สำหรับเพื่อการตรวจวินิจฉัยและการตรวจยืนยันการติดเชื้อ แต่เพื่อเป็นการเฝ้าระวังโรค การเปลี่ยนแปลงชนิดซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญมากประการหนึ่งต่อการเกิดและการระบาดของโรค รวมทั้งเพื่อใช้ประกอบการประเมินสถานการณ์สำหรับวางแผนการป้องกันและควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพ จึงได้ทำการตรวจวิเคราะห์แยกชนิดสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี RT-PCR จากผู้ป่วยในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 2 ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 ถึง 2559

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างศึกษา

ตัวอย่างพลาสมา (EDTA Plasma) ที่แยกจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยสงสัย ที่ได้รับการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าติดเชื้อไวรัสเดงกี ซึ่งมีผลการตรวจโปรตีนชนิด NS-1 เป็นบวก หรือมีปริมาณเม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดน้อยกว่า 5,000 และ 100,000 ตามลำดับ รวมถึงตัวอย่างที่มีอาการทางคลินิกสงสัยไข้เลือดออกที่เข้าเกณฑ์การสอบสวนโรคไข้เลือดออก⁽⁵⁾ โดยเก็บตัวอย่างเลือดภายใน 5 วัน นับจากวันเริ่มป่วย ตัวอย่างดังกล่าวจัดเก็บจากสถานพยาบาลในเขต

สุขภาพที่ 2 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2555 ถึงเดือนธันวาคม 2559 จำนวนทั้งหมด 1,284 ตัวอย่าง จาก 5 จังหวัดได้แก่ พิษณุโลก สุโขทัย ตาก อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์ แห่งละ 272, 148, 265, 414 และ 185 ตัวอย่าง ตามลำดับ

การตรวจซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีด้วยเทคนิค Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

การสกัด RNA จากพลาสมา

สกัด RNA ด้วยชุดน้ำยา PureLink Viral RNA/DNA Kit (In vitrogen, USA) ตามขั้นตอนของเอกสารกำกับน้ำยา กล่าวโดยย่อ คือ เติม proteinase K (37 µl) และ lysis buffer (250 µl) ลงไปในพลาสมา (100 µl) แล้วนำไปอุ่นใน heating block ที่อุณหภูมิ 56°C นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา เติม 96 – 100% ethanol (300 µl) ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที จากนั้นนำไปใส่ใน column ปั่นที่ 6,800 × g นาน 1 นาที จึงล้างด้วย wash buffer (500 µl) 2 ครั้ง หลังจากเติม RNase-free water (40 µl) นำไปปั่นที่ 11,000 × g นาน 1 นาที เก็บสารละลาย RNA ที่ 4°C และนำไปตรวจหาซีโรทัยป์ หรือเก็บที่ -70°C เพื่อวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ซีโรทัยป์

นำ RNA ที่สกัดได้ (5 µl) มาทำการเพิ่มจำนวนรอบที่ 1 โดยใช้ Universal outer primers: DUR และ DUL (ตารางที่ 1)⁽¹⁰⁾ โดยในหนึ่งปฏิกิริยาประกอบด้วยสารละลาย 5x OneStep RT-PCR buffer ปริมาตร 5 µl สารละลาย 10 mM dNTP ปริมาตร 1 µl สารละลาย 10 µM DUR primer 0.5 µl สารละลาย 10 µM DUL primer ปริมาตร 0.5 µl สารละลาย RNase inhibitor ปริมาตร 1 µl (25 – 40 Units) สารละลาย QIAGEN OneStep RT-PCR Enzyme mix ปริมาตร 1 µl จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Px2 Thermal CyCler, Thermoelectron Corporation, USA) ที่ตั้งอุณหภูมิ 50°C นาน 30 นาที จำนวน 1 รอบ เพื่อเปลี่ยน RNA เป็น cDNA และขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 45°C นาน 1 นาที ขั้นตอน extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 1 นาที ทำซ้ำจำนวน 40 รอบ โดยในรอบแรกเพิ่มเวลาขั้นตอน denaturation เป็น 5 นาที และรอบสุดท้ายเพิ่มเวลาขั้นตอน extension เป็น 5 นาที จากนั้นนำผลผลิต PCR รอบที่ 1 (1 µl) มาเพิ่มจำนวนรอบที่ 2 ด้วย primers ที่จำเพาะต่อซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกี (ตารางที่ 1)⁽¹⁰⁾ โดยที่ในหนึ่งปฏิกิริยาประกอบด้วยสารละลาย 10 × PCR buffer ปริมาตร 2.5 µl สารละลาย 5 µM Mixed inner primers 2.0 µl สารละลาย 10 mM dNTP ปริมาตร 0.5 µl สารละลาย 25 MgCl₂ ปริมาตร 1 µl (25 – 40 Units) สารละลาย QIAGEN Hot Star Taq DNA polymerase ปริมาตร 0.125 µl และ DEPC-DW ปริมาตร 17.88 µl แล้วนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Px2 Thermal CyCler, Thermoelectron corporation, USA) ที่ตั้งอุณหภูมิ 95°C นาน 15 นาที จำนวน 1 รอบ เพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 62°C นาน 1 นาที ขั้นตอน extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 1 นาที ทำซ้ำจำนวน 40 รอบ โดยในรอบแรกเพิ่มเวลาขั้นตอน denaturation เป็น 5 นาที และรอบสุดท้ายเพิ่มเวลาขั้นตอน extension เป็น 5 นาที แล้วนำผลผลิต PCR รอบที่ 2 วิเคราะห์ชนิดของซีโรทัยป์ด้วยวิธี Gel Electrophoresis โดยใช้ 2% Agarose ที่ผสมด้วย 0.5 µg/ml Ethidium bromide แล้วตรวจดูผลภายใต้ UV transilluminator, Spectroline, Spectronic corporation USA) ซึ่งขนาดผลผลิต PCR ของ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 เท่ากับ 504, 346, 196 และ 143 base pairs (bp) ตามลำดับ (ภาพที่ 1) ทั้งนี้ตัวอย่างควบคุมชนิดลบ (negative control) คือตัวอย่างที่มีผลตรวจยืนยันการติดเชื้อไวรัสเดงกีเป็นลบ ส่วนตัวอย่างควบคุมชนิดบวก (positive control) คือ DEN-1 (Hawaii strain), DEN-2 (Tr 1751 strain), DEN-3 (H 87 strain) และ DEN-4 (H 241 strain) ที่ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ตารางที่ 1 ลำดับเบสของชุด primer ที่ใช้ตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของไวรัสเดงกีที่จำเพาะเจาะจงต่อชนิดซีโรทัยป์ด้วยเทคนิค RT-PCR

Outer primers		
Primer	Sequence (5' to 3')	Position
E region		
DUR	GCT GTG TCA CCC AGA ATG GCC AT	2169-2192
DUL	TGG CTG GTG CAC AGA CAA TGG TT	1552-1574
Mixed inner primers		
Type specific primers (E region)		
D1L	GGG GCT TCA ACA TCC CAA GAG	1574-1694
D1R	GCT TAG TTT CAA AGC TTT TTC AC	2055-2077
D2L	ATC CAG ATG TCA TCA GGA AAC	1744-1764
D2R	CCG GCT CTA CTC CTA TGA TG	2070-2089
D3L	CAA TGT GCT TGA ATA CCT TTG T	1829-1848
D3R	GGA CAG GCT CCT CCT TCT TG	2005-2024
D4L	GGA CAA CAG TGG TGA AAG TCA	1892-1911
D4R	CGT TAC ACT GTT GGT ATT CTC A	2012-2034

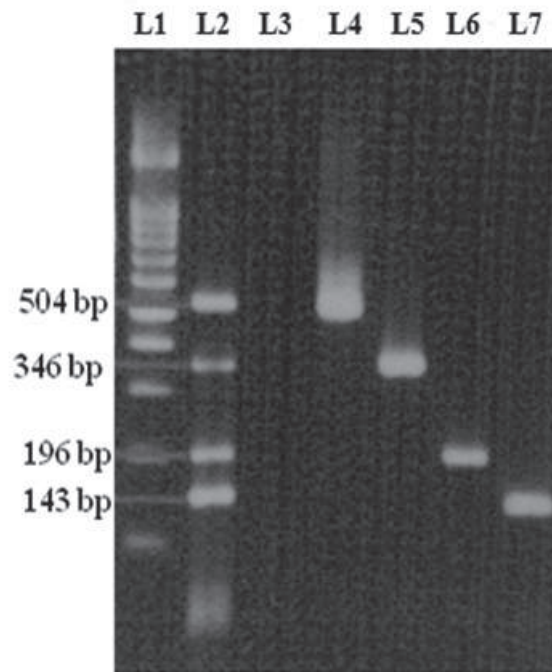
ผล

ข้อมูลทั่วไปของตัวอย่าง

ตัวอย่างผู้ป่วยสงสัยไข้เลือดออกในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 2 ทั้งหมด 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ และตาก ระหว่างเดือนมกราคม 2555 ถึงเดือนธันวาคม 2559 จำนวนทั้งหมด 1,284 ตัวอย่าง เป็นเพศชาย 680 ตัวอย่าง และเพศหญิง 604 ตัวอย่าง ซึ่งมีอายุตั้งแต่ 1 เดือนถึง 83 ปี เมื่อแยกตามจำนวนปีที่ศึกษาพบว่าผู้ป่วยสงสัยไข้เลือดออกในปี 2555, 2556, 2557, 2558 และ 2559 จำนวน 149, 488, 121, 337 และ 189 ราย ตามลำดับ

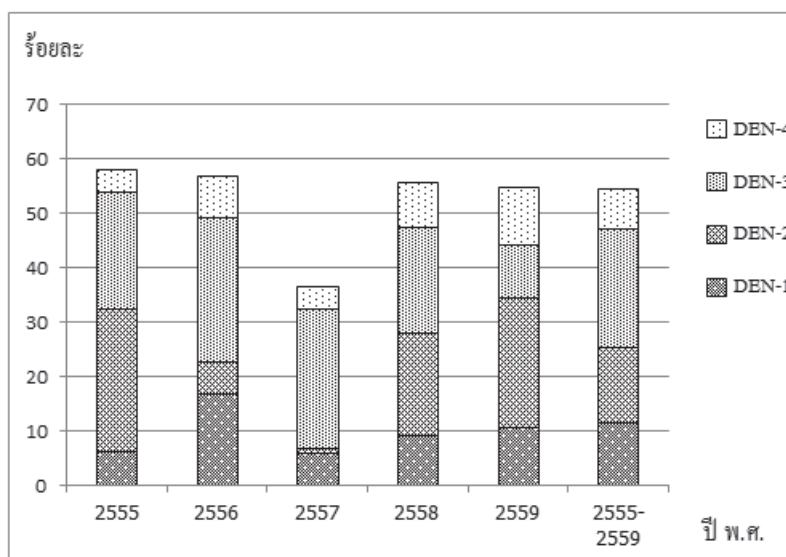
ซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกี

วิเคราะห์ซีโรทัยป์ของตัวอย่างผู้ป่วยตามขนาดของผลผลิต PCR รอบที่ 2 ซึ่งจัดเป็น DEN-1, DEN-2, DEN-3 หรือ DEN-4 เมื่อมีขนาดผลผลิตเท่ากับ 504, 346, 196 หรือ 143 bp ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



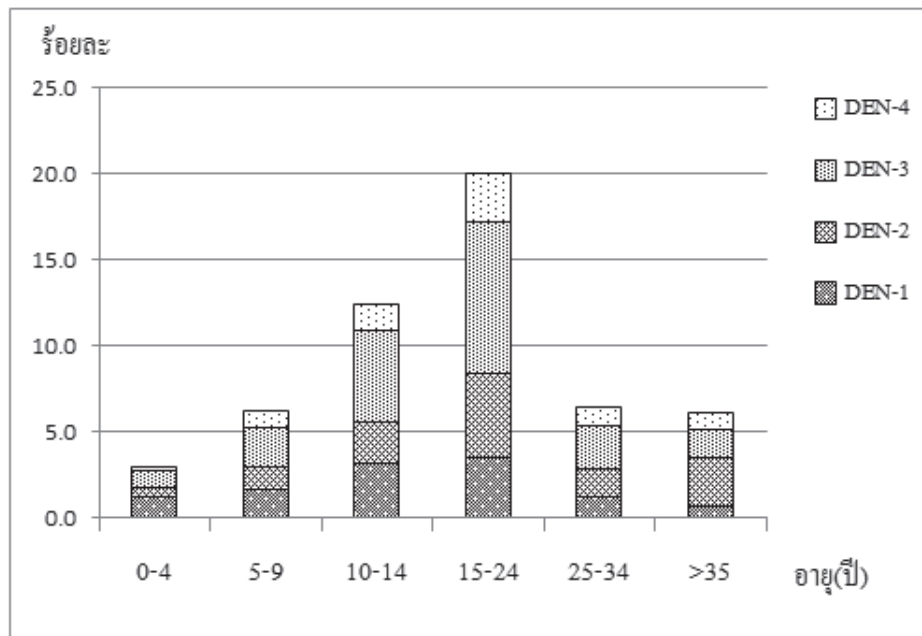
ภาพที่ 1 การตรวจสอบผลการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Gel Electrophoresis: นำผลผลิตรอบที่ 2 มาแยกขนาดด้วย 2% Agarose ที่ผสมด้วย 0.5 µg/ml Ethidium bromide แล้วตรวจดูผลภายใต้ UV transilluminator; L1:100 bp DNA L2: Dengue marker ผลผลิตรอบที่ 2 ที่ให้ผลบวกต่อ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 มาผสมรวมกัน L3: Negative control L4: DEN-1 (Hawaii strain) L5: DEN-2 (Tr 1751 strain) L6: DEN-3 (H 87 strain) L7: DEN-4 (H 241 strain)

จากการตรวจวิเคราะห์สายพันธุ์ด้วยเทคนิค RT-PCR ของตัวอย่าง 1,284 ราย พบว่าให้ผลบวก 696 ราย คิดเป็นร้อยละ 54.2 เมื่อวิเคราะห์สายพันธุ์จากตัวอย่างที่ให้ผลบวก แสดงให้เห็นว่าอัตราการแพร่กระจายของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์แตกต่างกันไปในแต่ละปีที่ดำเนินการศึกษา (ภาพที่ 2) ซึ่งสายพันธุ์ที่พบมาก คือ DEN-2 และ DEN-3

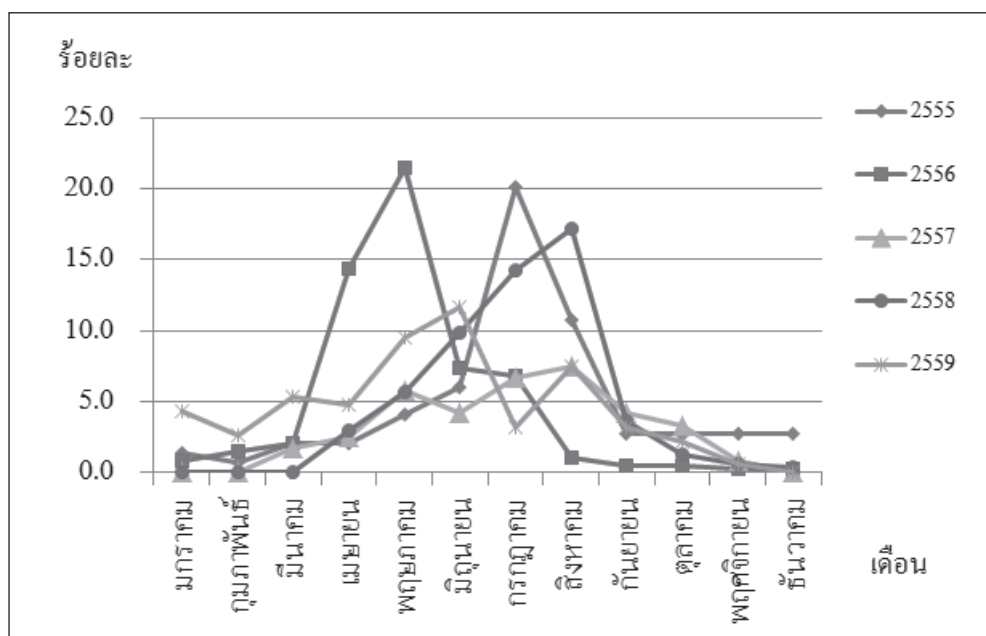


ภาพที่ 2 ซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีในเขตสุขภาพที่ 2 จำแนกตามปีที่ศึกษา

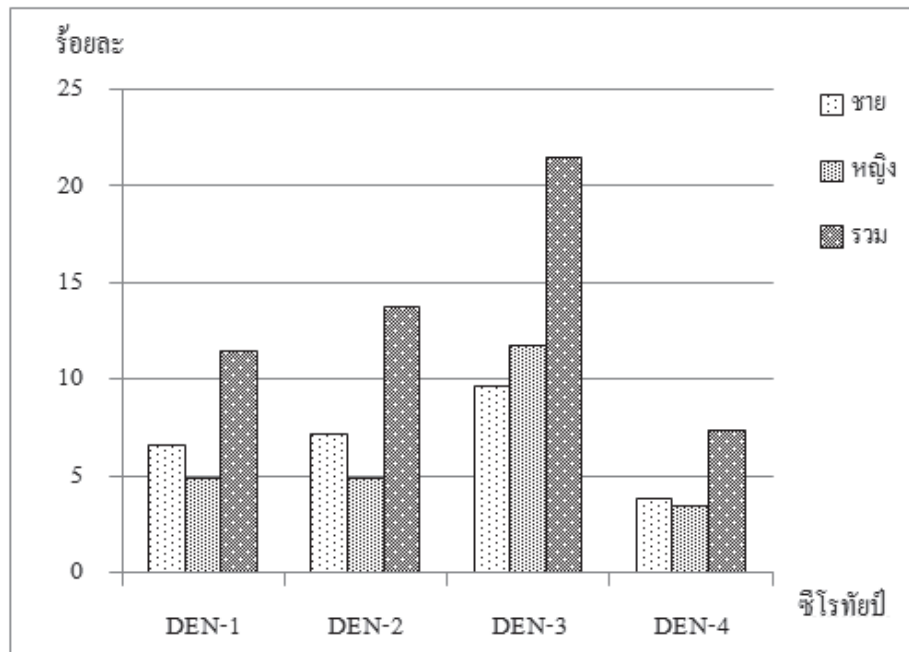
นอกจากนี้ พบการกระจายของทุกสายพันธุ์ในแต่ละช่วงอายุ โดยอัตราติดเชื้อสูงสุดของแต่ละซีโรทัยป์ พบในกลุ่มอายุระหว่าง 15 - 24 ปี (ภาพที่ 3) และยังพบผู้ติดเชื้อในอัตราที่สูงระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนสิงหาคมของปี (ภาพที่ 4) อย่างไรก็ตาม เพศสภาพของตัวอย่างไม่ได้แสดงให้เห็นว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือพยาธิสภาพของโรค (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 3 การกระจายของสายพันธุ์ไวรัสเดงกีในเขตสุขภาพที่ 2 จำแนกตามช่วงอายุ ระหว่างปี พ.ศ. 2555 - 2559



ภาพที่ 4 ซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีที่ตรวจพบในเขตสุขภาพที่ 2 ในแต่ละเดือน ของแต่ละปีที่ศึกษา



ภาพที่ 5 ซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีทั้ง 4 ชนิดที่ตรวจพบในเขตสุขภาพที่ 2 ช่วงปี พ.ศ. 2555-2559 จำแนกตามเพศสภาพ

วิจารณ์

การวิเคราะห์สายพันธุ์เชื้อไวรัสเดงกีในเขตสุขภาพที่ 2 ของการศึกษานี้เป็นการตรวจด้วยเทคนิค RT-PCR จากพลาสมาของผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อในระยะเวลา 5 วัน นับจากเริ่มป่วยพบว่า สามารถตรวจแยกสายพันธุ์ได้เพียงร้อยละ 54.2 ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างและปริมาณของเชื้อไวรัสในตัวอย่างทดสอบ ดังเช่น รายงานการศึกษาพบว่าตัวอย่างที่เก็บภายใน 1 - 2 วันก่อนและหลังมีอาการไข้ ให้ผลบวกในอัตราที่สูง⁽¹¹⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าปริมาณเชื้อไวรัสในกระแสเลือดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อด้วย⁽¹²⁻¹⁴⁾

การศึกษานี้ตรวจพบไวรัสเดงกีตลอดทั้งปี และยังพบสายพันธุ์ไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์ ในทุกจังหวัดของเขตสุขภาพที่ 2 อีกด้วย แสดงว่าเขตสุขภาพที่ 2 เป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงในการติดเชื้อซ้ำ⁽¹⁵⁻¹⁶⁾ และจากการตรวจพบสายพันธุ์ที่ 2 และ 3 ในสัดส่วนที่สูงของการศึกษานี้ มีความสอดคล้องกับรายงานการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ที่ระบาดในประเทศไทยและอาการทางคลินิกที่เพิ่มขึ้น⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ แสดงให้เห็นว่าโอกาสเกิดการติดเชื้อซ้ำต่างสายพันธุ์อาจเกิดขึ้นได้และอาจส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการรุนแรงกว่าปกติ

ผลของการศึกษานี้ยืนยันว่าอายุของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกี มีแนวโน้มสูงขึ้นจากช่วงอายุ 5 - 14 ปี เป็นช่วงอายุมากกว่า 15 ปี เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมาทั้งในประเทศไทยและประเทศสิงคโปร์⁽¹⁹⁻²⁰⁾ และการตรวจพบเชื้อไวรัสเดงกีทางห้องปฏิบัติการที่เริ่มพบสูงขึ้นในช่วงเดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนกรกฎาคม สอดคล้องกับข้อมูลจากระบบเฝ้าระวังของสำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค⁽²¹⁾ แสดงว่าการเตรียมการควบคุมกำจัดลูกน้ำยุงลาย รวมทั้งการให้ความรู้แก่ประชาชน ควรเริ่มดำเนินการก่อนเดือนเมษายน เพื่อลดปัญหาการแพร่กระจายและการเกิดโรคไข้เลือดออกในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 2 ต่อไป

สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโรคไข้เลือดออกในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 2 มีโอกาสเกิดได้ตลอดทั้งปี จากเชื้อไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์ ดังที่ตรวจพบจากตัวอย่างผู้ป่วยในจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์ ข้อมูลการแพร่กระจายของสายพันธุ์เป็นประโยชน์ต่อการประเมินความเสี่ยง การกำหนดแนวทางเพื่อการควบคุม ป้องกันโรค รวมถึงพาหะของโรคด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ว่าที่ ร.ต.ณัฐพัชร์ รัตนเดชานาคินทร์ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก ให้การสนับสนุนการดำเนินการในโครงการ และคณะทำงานเครือข่ายเฝ้าระวังโรคไข้เลือดออก สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์ ที่ได้สนับสนุนประสานงานการเก็บตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Gubler DJ. Dengue. In: Monath TP, editor. The arboviruses: epidemiology and ecology, Vol. II. Boca Raton, FL: CRC Press; 1988. p. 223-260.
2. World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: WHO; 1997.
3. Monath TP. Flaviviruses. In: Fields BN, Knipe DM, editors. Virology, Vol. 1. 2nd ed. New York: Raven Press, 1990. p. 763-814.
4. Bureau of Epidemiology, Ministry of Public Health. Annual epidemiological surveillance report 2003. Nonthaburi, Thailand: Department of Disease Control; 2003.
5. Pancharoen C, Kulwichit W, Tantawichien T, Thisyakorn U, Thisyakorn C. Dengue infection: a global concern. J Med Assoc Thai 2002; 85 (Suppl 1): S25-33.
6. ชิชณญ์ พันธุ์เจริญ. โรคไข้เลือดออก. ใน : พรหมพิศ สุวรรณกุล, อีระพงษ์ ตันทวีเชียร, ศศิธร ลิขิตบุญกุล, บรรณาธิการ. Current practice in common infectious diseases. กรุงเทพฯ : สมาคมโรคติดต่อแห่งประเทศไทย; 2546. หน้า 215-238.
7. อุษา ทิสยากร. ไวรัสเดงกี : แรงจูงใจในการวิจัย. ใน : นลินี อัสวโกตี, สุรภี เทียนกริม, สมบัติ สีสามสุภาศรี, บรรณาธิการ. โรคติดต่อที่กำลังเป็นปัญหาสำคัญ. กรุงเทพฯ : บริษัท โฮลิสติก พับลิชชิ่ง จำกัด; 2537. หน้า 1-15.
8. กองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข. สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก; 2520-2541.
9. ศิริเพ็ญ กัลยาณรุจ, สุภาวดี พวงสมบัติ. การติดเชื้อ อาการและอาการแสดง. ใน : สุภาวดี พวงสมบัติ, อีราวีดี กอพักคณินทร์, วราภรณ์ เอมะรุจ, ศรัณรัชต์ ชาญประโคน, บรรณาธิการ. คู่มือวิชาการโรคติดต่อเดงกีและโรคไข้เลือดออกเดงกีด้านการแพทย์และสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2558. นนทบุรี : สำนักโรคติดต่ออันตรายโดยแมลง กรมควบคุมโรค; 2558. หน้า 16-23.
10. Yenchitsomanus PT, Sricharoen P, Jaruthsana I, Pattanakitsakul SN, Nitayaphan S, Mongkolsapaya J, et al. Rapid detection and identification of dengue viruses by polymerase chain reaction(PCR). Southeast Asian J Trop Med Public Health 1996; 27(2): 228-36.
11. Sa-ngasang A, Wibulwattanakit S, Chanama S, O-rapinpatipat A, A-nuegoonpipat A, Anantapreecha S, et al. Evaluation of RT-PCR as a tool for diagnosis of secondary dengue virus infection. Jpn J Infect Dis 2003; 56(5-6): 205-9.

12. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis* 2000; 181: 2-9.
13. Kalayanarooj S, Nimmannitya S. Clinical and laboratory presentations of dengue patients with different serotypes. *Dengue Bull* 2000; 24: 53-9.
14. Wang WK, Chao DY, Kao CL, Wu HC, Liu YC, Li CM, et al. High levels of plasma dengue viral load during defervescence in patients with dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *Virology* 2003; 305(2): 330-8.
15. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(3): 480-96.
16. Pancharoen C, Thisyakorn U, Thisyakorn C. Dengue infection. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2001; 18(3): 115-21.
17. Nisalak A, Endy TP, Nimmannitya S, Kalayanarooj S, Thisyakorn U, Scott RM, et al. Serotype-specific dengue virus circulation and dengue disease in Bangkok, Thailand from 1973 to 1999. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68(2): 191-202.
18. คำนวน อึ้งชูศักดิ์. สถานการณ์และแนวโน้มของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศไทย. ใน : ชัชฎ์ พันธุ์เจริญ, วันลา กุลวิจิต, อีระพงษ์ ตันทวีเชียร, อุษา ทิสยากร, บรรณาธิการ. ไข้เลือดออก. กรุงเทพฯ : หจก. เพนตากอน แอ็ดเวอร์ไทซิง; 2546. หน้า 11-14.
19. Chareonsook O, Foy HM, Teeraratkul A, Silarug N. Changing epidemiology of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Epidemiol Infect* 1999; 122(1): 161-6.
20. Ooi EE, Goh KT, Wang DNC. Effect of increasing age on the trend of dengue and dengue hemorrhagic fever in Singapore. *Int J Infect Dis* 2003; 7(3): 231-2.
21. จรณิต แก้วกังวาล, จิระพัฒน์ เกตุแก้ว, อีราวัต กอพยัคฆินทร. ระบาดวิทยา. ใน : สุภาวดี พวงสมบัติ, อีราวัต กอพยัคฆินทร, วราภรณ์ เอมะรุจ, ศรัณรัชต์ ชาญประโคน, บรรณาธิการ. คู่มือวิชาการโรคติดเชื้อเดงกีและโรคไข้เลือดออกเดงกีด้านการแพทย์และสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2558. นนทบุรี : สำนักโรคติดต่อ นำโดยแมลง กรมควบคุมโรค; 2558. หน้า 1-10.

Dengue Virus Serotypes in Health Region 2 in BE 2555-2559

Chavalit Kiatvitchukul Vatcharin Srisakul and Jiraporn Srisakul

Regional Medical Sciences Center 2 Phitsanolk, Department of Medical Sciences, Amphoe Muang, Phitsanolk 65000, Thailand

ABSTRACT Dengue infection still remains one of the major public health problems in Thailand. Dengue virus, a causative pathogen, is classified into 4 serotypes: DEN-1, DEN-2, DEN-3 and DEN-4. All serotypes, transmitted by *Aedes* mosquitoes, can cause disease in humans. This study was to investigate serotypes of dengue virus circulating in Health Region 2. A total of 1,284 plasma samples were collected from suspected cases with initial diagnosis as dengue infection during January 2012 until December 2016. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to determine serotypes of all specimens. Six hundred and ninety-six samples were found positive for DEN-1, DEN-2, DEN-3 and DEN-4 at percentages of 11.5 (148 cases), 13.8 (177 cases), 21.5 (276 cases) and 7.4 (95 cases), respectively. All 4 serotypes could be demonstrated throughout each year with higher rates ranging from May to July. Our findings also indicated that a group with a high percentage of dengue infection was in the age group from 15 to 24 years. Our study suggested that all serotypes of dengue virus could be transmitted within Health Region 2 with possibilities of severe symptoms resulting from re-infection. Laboratory surveillance for dengue virus serotypes should be considered to obtain important data for planning and preparedness of possible outbreaks that might occur in Health Region 2.

Keywords: Dengue virus serotypes, RT-PCR technique