

นิพนธ์ปริทรรศน์

โรคอุจจาระร่วงจากไวรัส

สุพัตรา พิราคม*

บทนำ

โรคอุจจาระร่วงจากการติดเชื้อพบได้บ่อยในทารก เด็กเล็ก ปัจจุบันพบได้มากขึ้นในทุกวัย ภายหลังติดเชื้อ อาจไม่แสดงอาการหรือมีอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ไม่สบายท้อง อาการไม่รุนแรง หรือรุนแรงถึงเสียชีวิต เด็กเล็กในประเทศกำลังพัฒนามีอัตราการป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วงได้บ่อยเฉลี่ยคนละ 2-3 ครั้ง/ปี^{1,2} เด็กในวัยต่ำกว่า 5 ปี ทั่วโลกเสียชีวิตจากโรคอุจจาระร่วงประมาณ 3.5-5 ล้านคน/ปี³⁻⁵ ส่วนใหญ่เป็นเด็กในประเทศกำลังพัฒนาถึง 2.4-2.8 ล้านคน/ปี^{6,7} ซึ่งคิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 25-30 ของสาเหตุทั้งหมดของการเสียชีวิต^{2,8} นอกจากแบคทีเรีย โปรโตซัว และรา มีไวรัสหลายชนิดเป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคอุจจาระร่วงหรือกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบจึงจัดไวรัสกลุ่มนี้เป็น gastroenteritis viruses จากการศึกษากว่าโลกพบว่าเกิดจาก rotavirus (RV) ร้อยละ 30-40⁹⁻¹² norovirus (NV) ร้อยละ 1.6-78.5¹³⁻¹⁷ sapovirus (SV) ร้อยละ 3.3-48.0^{14,17-19} astrovirus (AstV) ร้อยละ 0.3-14^{18,20,21} และ enteric adenovirus (EAdV) ร้อยละ 1-20²²⁻²⁷

คุณสมบัติของไวรัส

Rotavirus จัดอยู่ใน family *Reoviridae*, genus *Rotavirus* อนุภาคมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 70 นาโนเมตร มีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายคู่จำนวน 11 คู่ ที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันแต่ละคู่มีรหัสสำหรับการสร้างโปรตีนต่างๆ RNA ล้อมรอบด้วยโปรตีน core และแคปซิด 2 ชั้นตามลำดับ ลักษณะที่เห็นในภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนคล้ายล้อของเกวียนจึงเป็นที่มาของชื่อ rotavirus (rota เป็นภาษาละติน แปลว่า ล้อ)²⁸ RV

ที่พบในคนและสัตว์แบ่งออกได้เป็น 7 groups, A-G โดยอาศัยความแตกต่างกันของรูปแบบการเคลื่อนที่ของ RNA แต่ละคู่จำนวน 11 คู่ (RNA electropherotype) ใน gel โดยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) และความแตกต่างของแอนติเจนในโปรตีน VP6 ของแคปซิดชั้นใน²⁸ RV ที่ก่อโรคในคนและพบระบาดทั่วโลกเป็น group A ทั้งสิ้น ที่เกิดจาก group B, C จะเป็นส่วนน้อยและไม่ระบาดทั่วโลก RV ใน group A แบ่งเป็น 2 subgroups, I และ II โดยอาศัยความแตกต่างกันของแอนติเจนในโปรตีน VP6 และรูปแบบ RNA electropherotype ที่ต่างกันคือ RNA คู่ที่ 10,11 ของ RV subgroup I เคลื่อนที่ใน PAGE ได้ช้ากว่าลักษณะเป็น short pattern ส่วนของ RV subgroup II เคลื่อนที่ได้เร็วกว่าลักษณะเป็น long pattern²⁹ นอกจากนี้ RV ใน group A ยังแบ่งออกเป็น serotypes โดยอาศัยความแตกต่างกันของแอนติเจนในโปรตีน VP7 และ VP4 ของแคปซิดชั้นนอกสุดโดยการทดสอบด้วยวิธี neutralization (NT) ถ้าจัดตาม VP7 จะแบ่งได้เป็น 14 serotypes เรียกเป็น G serotype เนื่องจาก VP7 เป็นไกลโคโปรตีน (G) ถ้าจัดตาม VP4 แบ่งได้เป็น 14 serotypes เรียกเป็น P serotype เนื่องจาก VP4 เป็นโปรตีนที่ไวต่อการถูกทำลายด้วยเอนไซม์ protease (P)^{29,30} ปัจจุบันมีการแบ่ง RV group A ออกเป็น genotype โดยอาศัยความแตกต่างกันของลำดับนิวคลีโอไทด์หรือลำดับกรดอะมิโนของยีนที่กำหนดสร้างโปรตีน VP7 และ VP4 ถ้าจัดตามยีน VP7 เรียกว่า G genotype แบ่งได้ 15 G genotypes ถ้าจัดตามยีน VP4 เรียกว่า P genotype แบ่งได้เป็น 27 P genotypes²⁹⁻³¹

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การเรียกชื่อ RV group A จะบ่งบอกท้ายป์ของ G และ P ทั้ง serotype และ / หรือ genotype ร่วมกัน เช่น G1P1A[8] หมายถึงเชื้อนี้เป็น G serotype 1 และ genotype 1 ตรงกันแต่จัดเป็น P serotype 1A, P genotype [8]

Norovirus จัดอยู่ใน family *Caliciviridae*, genus *Norovirus* มีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยว สายบวก หุ้มด้วยแคปซิด อนุภาคขนาดเล็กประมาณ 27-32 นาโนเมตร มีรูปร่างจำเพาะ ผิวและขอบไม่เรียบ พบรอยลักษณะคล้ายถ้วยบุ่มลึกลงไปผิว เชื่อที่ตรวจพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2511 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันและมีอาการอาเจียนร่วมด้วย ระบาดในครูและนักเรียนในโรงเรียนประถมศึกษาแห่งหนึ่งที่เมือง Norwalk รัฐ Ohio สหรัฐอเมริกา ต่อมาในปี พ.ศ. 2515 ได้พิสูจน์ว่าเป็นไวรัสลักษณะข้างต้นจึงเรียกชื่อว่า Norwalk virus³² ในเวลาต่อมาได้พบอนุภาคที่มีรูปร่างและก่อโรคคล้ายคลึงกันในพื้นที่ต่างๆ แต่มีคุณสมบัติของแอนติเจนแตกต่างกันไปบ้าง จึงเรียกลักษณะนี้ว่า Norwalk-like viruses ปัจจุบันเรียกลักษณะนี้ว่า Noroviruses ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 serotypes ตามความแตกต่างของแอนติเจน ปัจจุบัน NVs แบ่งเป็น 5 genogroups, GI-GV โดยอาศัยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่กำหนดสร้างแคปซิดพบว่า NVs ใน GI, GII และ GIV ก่อโรคในคนส่วน NVs ใน GIII พบในวัวและใน GV พบในหนู (mice) นอกจากนี้ NVs ในแต่ละ genogroup ยังถูกแบ่งย่อยเป็นหลาย genotypes³³

Sapovirus จัดอยู่ใน family *Caliciviridae*, genus *Sapovirus* สารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยว สายบวก หุ้มด้วยแคปซิด อนุภาคมีขนาดใกล้เคียงกับของ NV จะพบรอยด่างกลมหรือรูปไข่คล้ายถ้วยบุ่มลึกลงไปผิวของอนุภาคมองเห็นลักษณะคล้ายดาวเรียกว่า Star of David เชื่อที่ตรวจพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2520 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงระบาดในกลุ่มเด็กเล็กที่สถานเลี้ยงเด็กกำพร้า เมือง Sapporo ประเทศญี่ปุ่นเรียกชื่อว่า Sapporovirus³⁴ ต่อมาพบไวรัสที่มีรูปร่างและคุณสมบัติของแอนติเจนคล้ายคลึงกันก่อโรคในแหล่งต่างๆ จึงเรียกลักษณะนี้ว่า Sapporo-like viruses ปัจจุบันเรียกว่า Sapoviruses ไวรัสกลุ่มนี้แบ่งเป็น 5 genogroups [G]

โดยอาศัยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่กำหนดสร้างแคปซิด SVs ใน GI, GII, GIV และ GV ก่อโรคในคนส่วน SVs ใน GIII ก่อโรคในสุกรและ SVs ในแต่ละ genogroup ยังถูกแบ่งย่อยเป็นหลาย genotypes³⁵

Astrovirus จัดอยู่ใน family *Astroviridae*, genus *Astrovirus* สารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยว สายบวก หุ้มด้วยแคปซิด อนุภาคมีขนาด 28-30 นาโนเมตร รูปร่างกลม ลักษณะคล้ายดาวที่มี 5-6 แฉก (astron เป็นภาษากรีก แปลว่า star) ตรวจพบ AstV ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2518 ในอุจจาระของเด็กทารกเมื่อมีการระบาดของโรคอุจจาระร่วงที่สกอตแลนด์³⁶ AstV ที่ก่อโรคในคนแบ่งได้เป็น 8 serotypes หรือ 8 genotypes โดยอาศัยความแตกต่างของแอนติเจนของแคปซิดหรือความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่กำหนดสร้างแคปซิด³⁷

Adenovirus (AdV) ที่พบในคนจัดอยู่ใน family *Adenoviridae*, genus *Mastadenovirus* สารพันธุกรรมเป็น DNA สายคู่หุ้มด้วยแคปซิดที่มีรูปเหลี่ยมชัดเจน (icosahedral capsid) โดยมี capsomer ประกอบเป็นหน้าสามเหลี่ยมจำนวน 20 หน้า และมี fibers ยื่นออกจากแต่ละมุมของอนุภาคจำนวน 12 เส้น AdV แบ่งออกเป็น 6 subgroups/subgenuses/species (A-F) โดยอาศัยคุณสมบัติที่ทำให้เม็ดเลือดแดงของลิงหรือของหนู (rat) ตกตะกอน (agglutination) แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังแบ่งย่อยได้เป็น 51 serotypes³⁸ ตามคุณสมบัติของแอนติเจนที่ต่างกัน สมาชิกของ AdV ส่วนมากก่อโรคในระบบทางเดินหายใจ และโรคตาอักเสบ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2505 ตรวจพบ AdV ในอุจจาระของผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง จึงเรียกว่า Enteric adenovirus (EAdV) แต่ก็พบได้ในอุจจาระคนปกติด้วย ต่อมาในปี พ.ศ. 2516 Flewett ได้พิสูจน์ว่า EAdV เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในเด็กทารก³⁹ และจัดอยู่ใน subgroup/subgenus/specie F ซึ่งประกอบด้วย 2 serotypes คือ 40 (Ad40) และ 41 (Ad41)^{38,40} EAdV เป็นไวรัสที่เพาะเลี้ยงได้ยาก (fastidious enteric viruses)^{40,41}

พยาธิกำเนิด

RV เพิ่มจำนวนได้ดีในเซลล์ผนังลำไส้เล็ก (epithe-

lial cells) ทั้งส่วน jejunum และ ileum แต่จำเพาะต่อเซลล์ที่บุส่วนปลายของ villus เท่านั้นซึ่งเซลล์ส่วนปลาย villus มีหน้าที่สร้างน้ำย่อยดูดซึมสารอาหารและ electrolytes เซลล์ที่ติดเชื้อจะถูกทำลายและหลุดออกจากชั้น lamina propria ทำให้ส่วนปลาย villus หดหายไป (villus atrophy) เป็นผลให้การย่อยและดูดซึมอาหาร ตลอดจนการดูดซึมน้ำ electrolytes (Na^+) ลดลงทำให้น้ำและ electrolytes คงอยู่ในลำไส้ ในขณะที่เดียวกันเซลล์บุผนัง villus ส่วนโคน (crypts) ซึ่งไม่ติดเชื้อจะเร่งการเจริญเติบโต แบ่งตัวและ differentiate อย่างรวดเร็ว (crypt hyperplasia) เพื่อทดแทนเซลล์ที่ถูกทำลายซึ่งปกติเซลล์ส่วน crypt นี้จะมีหน้าที่ขับ electrolytes และสารโมเลกุลใหญ่สู่ลำไส้เมื่อเกิด crypt hyperplasia ทำให้มีการปล่อย electrolytes (Cl^-) เพิ่มมากขึ้น ร่างกายจะขับสิ่งที่คงอยู่ออกมาเป็นอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำทำให้เสียสมดุลของน้ำและ electrolytes และการอักเสบยังทำลายเยื่อเมือกทำให้สารโมเลกุลใหญ่รั่วไหลออกสู่ลำไส้หรือจากลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดทำให้ผู้ป่วยมีไข้⁴² นอกจากนี้ RV สามารถสร้างสารบางชนิด (nonstructural glycoprotein NSP4) มีคุณสมบัติเป็น enterotoxin ซึ่งมีบทบาททำให้เกิดอุจจาระร่วงด้วย⁴³

สำหรับ human caliciviruses (NV และ SV) นั้นจากการศึกษาในอาสาสมัครพบว่า Norwalk virus ก่อให้เกิดการติดเชื้อจำเพาะต่อเซลล์ที่บุส่วนปลายของ villus ที่ jejunum เช่นเดียวกับ RV จะพบ villi สั้นและทู่กว่าของคนปกติ แต่ epithelial cell ไม่ถูกทำลายและตรวจไม่พบไวรัส⁴⁴ การดูดซึมสารอาหาร เช่น ไซมัน D-xylose lactose และการสร้างเอนไซม์บางชนิดลดลงการทำงานของ gastric motor อาจผิดปกติจึงทำให้ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้และอาเจียน⁴⁵

ภายหลังติดเชื้อ AstV ไม่ค่อยทราบถึงพยาธิกำเนิดที่แน่ชัดแต่จากการตรวจพบอนุภาคไวรัสใน epithelial cells จาก biopsy ของลำไส้เด็กที่มีอาการอุจจาระร่วงและพบอนุภาคไวรัสใน epithelial cells บริเวณส่วนบนของ villi และใน macrophage ที่ลำไส้เล็กของสัตว์ที่ติดเชื้อเชื่อว่า AstV ก่อการติดเชื้อจำเพาะบริเวณนี้⁴⁶

EAdV เหมือนกับสมาชิกอื่นๆ ใน family เดียวกันที่เพิ่มจำนวนได้ดีในเซลล์บุผนังลำไส้เล็กซึ่งมีรายงานการ

ตรวจพบอนุภาคไวรัสในเซลล์บุผนังลำไส้เล็กของผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากโรคอุจจาระร่วง⁴⁷

การติดต่อและลักษณะอาการทางคลินิก

โรคอุจจาระร่วงที่มีสาเหตุจากไวรัสกลุ่มนี้ ติดต่อกันโดยกินอาหารและน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ (fecal-oral route) เช่น การกินหอยนางรมดิบก่อให้เกิดการระบาดของโรคอุจจาระร่วงจาก NV และ Ast V จากคนสู่คน เช่น จากคนปรุงอาหารที่ติดเชื้อไม่ระมัดระวังสุขอนามัยจะเป็นแหล่งแพร่เชื้อไปกับอาหาร โดยเฉพาะพวกสลัด แซนวิช และโดยเชื้อแพร่กระจายได้ทางเครื่องใช้ของผู้ป่วยและติดไปกับมือหรือร่างกายของผู้ที่สัมผัสอุจจาระของผู้ป่วย⁴⁴ การติดต่อกันเกิดได้ง่ายระหว่างสมาชิกในครอบครัวเดียวกัน เช่น ผู้ใหญ่ติดเชื้อจากเด็กป่วย ผู้ใหญ่มักไม่แสดงอาการแต่จะขับเชื้อออกมากับอุจจาระจึงเป็นแหล่งกระจายเชื้อสู่เด็กอื่นๆ ต่อไป

การติดเชื้อไวรัสกลุ่มนี้อาจไม่ทำให้ป่วยโดยเฉพาะในผู้ใหญ่ บางคนอาจมีอาการเพียงเล็กน้อย เด็กเล็กที่ขาดภูมิคุ้มกันจากมารดาติดเชื้อครั้งแรกอาจมีอาการรุนแรง ส่วนผู้สูงอายุ หรือเด็กที่มีภูมิคุ้มกันต่ำกว่าปกติ (immunodeficiency) หรือภูมิคุ้มกันถูกกดไว้ (immunosuppression) เมื่อป่วยด้วยการติดเชื้อ RV หรือ NV แล้วอาจไม่หายขาด มีอาการอุจจาระร่วงเรื้อรังนานนับเดือนหรือมีอาการรุนแรงถึงเสียชีวิตได้⁴⁴ โรคอุจจาระร่วงจากการติดเชื้อไวรัสกลุ่มนี้มีระยะฟักตัวประมาณ 24-72 ชั่วโมง ซึ่งอาจจะเร็วหรือนานกว่านี้เล็กน้อยขึ้นอยู่กับอายุของผู้ติดเชื้อในผู้ใหญ่มักมีระยะฟักตัวนานกว่านี้หรือขึ้นอยู่กับชนิดของไวรัสที่เป็นสาเหตุ เช่น ติดเชื้อ EAdV มีระยะฟักตัวนานประมาณ 7-8 วัน⁴⁸ อาการที่พบมีไข้ประมาณ 37.9°C มีคลื่นไส้ อาเจียน ประมาณ 2-3 วัน เนื่องจากลำไส้เคลื่อนไหวน้อยลง อาการอุจจาระร่วงเกิดต่อจากอาการอาเจียน และเป็นอยู่นานประมาณ 3-8 วัน ลักษณะอุจจาระเหลวเป็นน้ำไม่มีมูกเลือดปนซึ่งต่างจากอุจจาระร่วงด้วยสาเหตุอื่นๆ ระยะนี้ผู้ป่วยจะขับเชื้อออกมากับอุจจาระเป็นจำนวนมากเป็นระยะแพร่เชื้อ ผู้ป่วยผู้ใหญ่ติดเชื้อ RV มักมีอาการอาเจียนมากกว่าอุจจาระร่วง²⁹ ตรงกันข้ามกับการติดเชื้อ NV ผู้ป่วยเด็กมักมีอาการอาเจียนมากกว่าอุจจาระร่วงแต่ในผู้ป่วยผู้ใหญ่จะมี

อุจจาระร่วงมากกว่าอาการอาเจียน⁴⁹ ส่วนผู้ที่ติดเชื้อ SV, AstV หรือ EAdV ส่วนใหญ่อาการจะไม่ค่อยรุนแรง อาการอุจจาระร่วงถาวรรุนแรง และอาเจียนมากจะทำให้ผู้ป่วยสูญเสียน้ำในร่างกาย (dehydration) เกิดสภาวะเสียสมดุลของ electrolytes เกิดสภาวะเป็นกรดในร่างกาย (acidosis) เป็นเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตถ้าไม่ได้รับการรักษา โดยทันตแพทย์ที่ สัตว์ส่วนของผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงจากการติดเชื้อ RV จะสูงกว่าของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสอื่นๆ ผู้ป่วยติดเชื้อ RV อายุต่ำกว่า 30 เดือน มีอัตราเสี่ยงต่อการตายสูงกว่าเด็กโต เด็กมักเสียชีวิตในวันที่ 1-3 หลังจากแสดงอาการ การเสียชีวิตอาจเกิดจากการสูญเสีย และเสียสมดุลของ electrolytes สำลัก อาเจียนหรืออาการชัก นอกจากนี้ภาวะทุโภชนาการอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้โรคมีอาการรุนแรงขึ้น²⁹

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

ผู้ที่ติดเชื้อ RV จะสร้างแอนติบอดีจำเพาะภูมิคุ้มกันที่ป้องกันการติดเชื้อ RV ได้คือ secretory IgA ในลำไส้ ในซีรัมจะมี IgM และ IgG เป็น neutralizing antibodies ที่มีความจำเพาะต่อ serotype/genotype ที่เป็นสาเหตุมากกว่าเชื้อต่างๆ serotype/genotype เมื่อระดับของแอนติบอดีลดลงจึงอาจพบการติดเชื้อซ้ำได้อีก การติดเชื้อซ้ำในเด็กอายุต่ำกว่า 3 ขวบอาจเกิดได้หลายครั้ง การติดเชื้อซ้ำมักมีอาการไม่รุนแรงและหายเร็วกว่า หรือไม่แสดงอาการแต่ขับเชื้อไวรัสออกทางอุจจาระได้ เด็กเล็กสร้างภูมิคุ้มกันได้ดีพอๆ กับเด็กโตในผู้ใหญ่ไม่ค่อยมีการติดเชื้อซ้ำ แต่ถ้ามักไม่แสดงอาการ²⁹

ผู้ที่ติดเชื้อ NV แอนติบอดีที่สร้างขึ้นไม่ได้ช่วยป้องกันการติดเชื้อซ้ำอย่างสมบูรณ์จากการศึกษาในอาสาสมัครผู้ใหญ่ให้มีการติดเชื้อ NV พบว่าร้อยละ 80 มีการติดเชื้อและในจำนวนนี้ร้อยละ 50 แสดงอาการขับไวรัสออกทางอุจจาระและสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ (strain) ที่เป็นสาเหตุในเวลาต่อมาและยังพบว่าระดับแอนติบอดีที่มีอยู่เดิมไม่สัมพันธ์กับความต้านทาน (resistance) ต่อการติดเชื้อ⁴⁹ ส่วนผู้ที่ติดเชื้อ SV พบว่าแอนติบอดีที่สร้างขึ้นเกี่ยวข้องกับความต้านทานในการติดเชื้อซ้ำ⁵⁰

ส่วนใหญ่ของผู้ที่ติดเชื้อ AstV และแสดงอาการ

จะเป็นเด็กเล็กและผู้สูงอายุ แอนติบอดีที่เกิดขึ้นภายหลังการติดเชื้อในวัยเด็กเป็นภูมิคุ้มกันและอยู่เกือบตลอดชีวิต แม้ว่าจะระดับจะลดลงต่ำลง การติดเชื้อซ้ำในวัยที่สูงขึ้นพบได้ แต่มักไม่แสดงอาการหรืออาการไม่รุนแรง⁵¹

การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

โรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากเชื้อไวรัสมีอาการคล้ายคลึงกัน การวินิจฉัยทางคลินิกไม่อาจสรุปได้ว่าเกิดจากเชื้อไวรัสชนิดใด จำเป็นต้องใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันถึงสาเหตุของโรค ซึ่งทำได้หลายวิธีดังนี้

1. การตรวจตัวอย่างตรวจโดยตรง ตัวอย่างตรวจคืออุจจาระซึ่งควรเก็บในระยะ 1-4 วันแรกที่ผู้ป่วยแสดงอาการ นำมาตรวจหาอนุภาคไวรัสหรือแอนติเจนหรือยีนของไวรัส

การตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (EM) จะเห็นอนุภาคไวรัสมีลักษณะจำเพาะขึ้นกับชนิดของไวรัส วิธีนี้มีข้อเสียที่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง และไม่เหมาะในการตรวจตัวอย่างจำนวนมาก และอาจใช้ไม่ค่อยได้ผลกับไวรัสบางชนิด เช่น NVs และ SVs เพราะอนุภาคมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก และปริมาณที่ถูกขับออกมากับอุจจาระค่อนข้างน้อย⁴⁴ วิธีนี้อาจดัดแปลงให้มีความไวและความจำเพาะเพิ่มขึ้นโดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะทำให้ไวรัสเกิดการเกาะกลุ่ม (agglutination) เสียก่อนเพื่อจะได้ตรวจหาไวรัสได้ง่ายขึ้น เรียกว่าเทคนิค immune electron microscopy (IEM)

การตรวจหาแอนติเจน นิยมทำด้วยวิธี ELISA ซึ่งใช้ตรวจหาแอนติเจนของ RV⁹, NV⁵² SV⁵⁰, AstV⁵³ และ EAdV นอกจากนี้การตรวจหาแอนติเจนของ RV และ NV อาจใช้วิธี latex agglutination, reverse passive hemagglutination²⁹

การตรวจหายีน สำหรับ RV ทำได้ด้วยวิธี RAGE เพื่อตรวจดู RNA electrophoretotype⁹ ซึ่งสามารถใช้จำแนก subgroup ได้ นอกจากนี้มี dot blot hybridization ซึ่งเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง²⁹ ส่วน EAd40, EAd41 สามารถจะตรวจหารูปแบบของยีนในภายหลังถูกตัดด้วยเอนไซม์ที่จำเพาะแล้วเปรียบเทียบกับของไวรัสสายพันธุ์มาตรฐานเรียกว่าเทคนิค DNA restriction enzyme (RE) analysis³⁸ ปัจจุบันนิยมใช้ PCR (poly-

merase chain reaction) ในการตรวจหาอีโนมของ EAd40, EAd41³⁸ และใช้ RT-PCR (reverse transcription-PCR) ตรวจหาอีโนมของ RV group A และใช้ multiplex RT-PCR ในการตรวจหาและจำแนก genotype ของ RV ได้ด้วย¹² นอกจากนี้วิธี multiplex RT-PCR ยังใช้ในการตรวจหาอีโนมและจำแนก genogroup / genotype ของ NV, SV และ AstV พร้อมกันในตัวอย่างตรวจเดียวกันได้⁵⁴

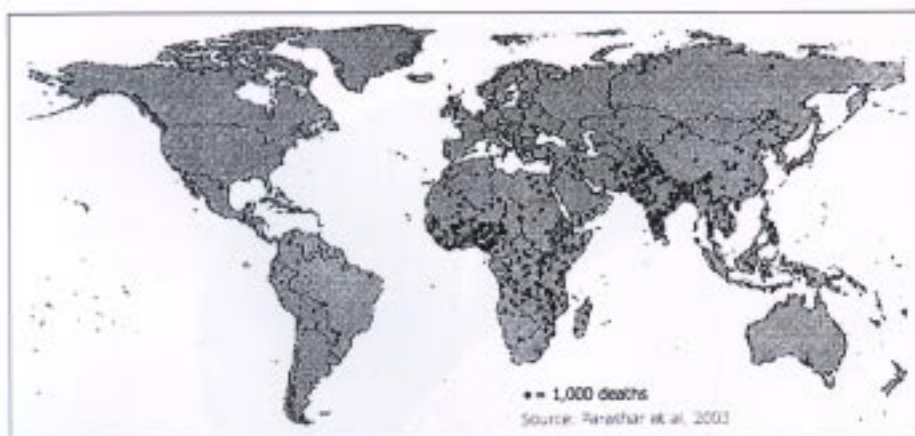
2. การตรวจหาแอนติบอดี นิยมทำกันในงานศึกษาระบาดวิทยามากกว่าเพื่อการวินิจฉัยโรค เพราะจะได้ผลการตรวจซ้ำไม่ทันใช้ประโยชน์ในแง่ของการดูแลรักษาผู้ป่วย วิธีที่ใช้ เช่น ELISA ใช้ได้กับ RV²⁹, NV⁵⁵

3. การแยกเชื้อไวรัส RV ที่ก่อโรคในคนเจริญเพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ไม่ดัดนัก เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้คือ monkey kidney cell line (MA 104) หรือ human colon adenocarcinoma cell line (CaCo-2)²⁸ NV และ SV ที่ก่อโรคในคนไม่สามารถจะเพาะเลี้ยงได้ในเซลล์เพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามมีรายงานจากงานวิจัยในปี พ.ศ. 2548⁵⁶ พบว่าอีโนม (RNA) ของ NV สามารถจะเพิ่มจำนวนและประกอบตัวเข้าไปในแคปซิดที่สร้างขึ้นได้เป็นอนุภาคที่สมบูรณ์ภายในเซลล์เพาะเลี้ยง mammalian cell (293 T cell) โดยใช้ระบบ expression vector เป็น vaccinia virus สายพันธุ์ Ankara ที่สามารถทำให้มีการแสดงออก (expression) ได้ bacteriophage T7 RNA Polymerase enzyme (MVA/T7) ทำให้ NVcDNA (comple-

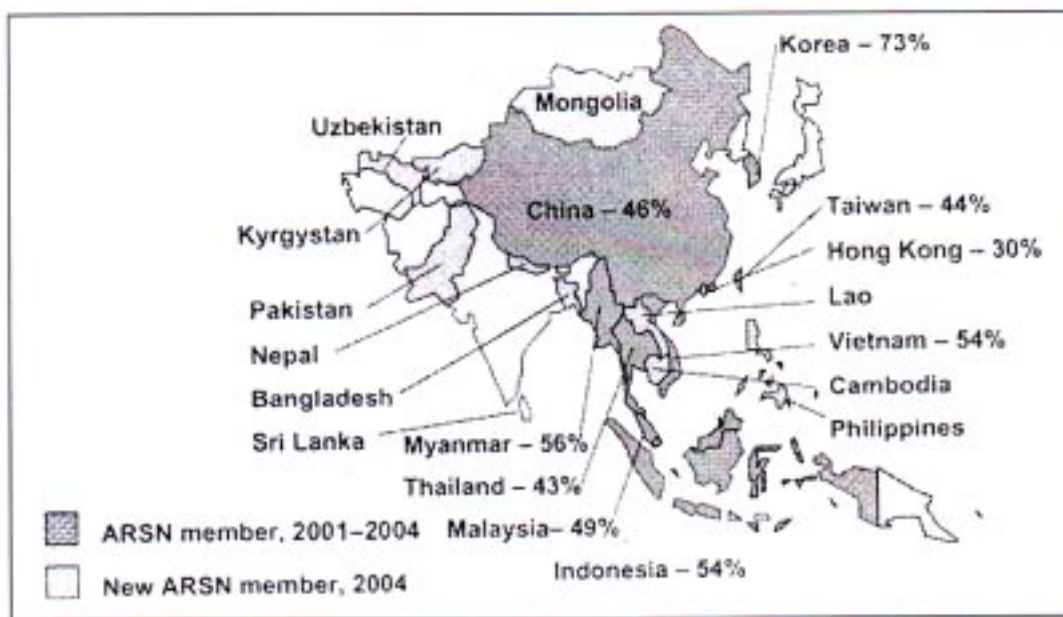
mentary DNA) เกิด transcription และ translation ได้อนุภาคที่สมบูรณ์ของ NV เรียกกระบวนนี้ว่า mammalian cell-based system สำหรับ AstV ที่ก่อโรคในคน สามารถเพาะเลี้ยงได้ใน rhesus monkey kidney cell line (LLCMk2)), human colon adenocarcinoma cell line (CaCo-2) และ hepatoma cell line (PLC/PRF/5)⁵¹ ส่วน EAd40, EAd41 เพาะเลี้ยงได้ยากต้องใช้เซลล์เพาะเลี้ยงที่จำเพาะ เช่น Chang conjunctiva cells,^{40,41} Graham 293,⁴⁰ cynomolgus monkey kidney cells⁴⁰ บางสายพันธุ์อาจเพาะเลี้ยงได้ใน HeLa cells⁴⁰ และ HEP-2 cells⁴⁰

ระบาดวิทยา

RV เป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคอุจจาระร่วงในเด็กอายุ 6-24 เดือน พบได้ทั่วทุกภูมิภาคของโลกทำให้ทารกเด็กเล็กเสียชีวิตจำนวน 440,000 คนต่อปี ส่วนใหญ่พบในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนา^{6,7,57} (รูปที่ 1) จากรายงานของเครือข่ายเฝ้าระวัง RV แห่งเอเชีย (Asian Rotavirus Surveillance Network) ในช่วงปี พ.ศ. 2544 - 2547 พบว่าเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี ในกลุ่มประเทศเหล่านี้มีการติดเชื้อ RV ประมาณร้อยละ 30-73 มีค่า median 43% (รูปที่ 2)⁵⁸ การศึกษาในประเทศไทยพบเด็กป่วยโรคอุจจาระร่วงจาก RV ร้อยละ 30-50^{9,59,60} เด็กอายุ 3 ปีขึ้นไป ประมาณร้อยละ 80-90 เคยติดเชื้อมาแล้วและจะตรวจพบแอนติบอดีต่อ RV ไปจนตลอดชีวิต แสดงว่ามีการติดเชื้อซ้ำอยู่เสมอโดยไม่แสดงอาการ



รูปที่ 1 การกระจายตัวของจำนวนเด็กที่เสียชีวิตด้วยโรคอุจจาระร่วงซึ่งเกิดจาก rotavirus จำนวน 440,000 คนต่อปี ทั่วโลก⁵⁷



รูปที่ 2 สมาชิกของ Asian Rotavirus Surveillance Network และสัดส่วนของผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงที่เกิดจาก rotavirus แสดงเป็นคำร้อยละ⁵⁸

ในประเทศแถบอบอุ่น RV มักระบาด (outbreak) ในช่วงฤดูหนาว-ฤดูใบไม้ผลิซึ่งอากาศเย็นและแห้ง ในฤดูอื่นๆ พบผู้ป่วยน้อยมากหรือไม่มีเลย ในประเทศแถบร้อน เช่น แอฟริกาและไทยพบผู้ป่วยได้ตลอดปี (endemic) แต่พบมากขึ้นในฤดูฝนและค่อยๆ เพิ่มขึ้นในช่วงเดือน ธันวาคม – มีนาคม^{29,61}

ในระยะเวลา 20 ปี ที่ผ่านมา RV ที่พบทั่วทั่วโลกได้บ่อยทั่วโลกเป็น genotype G1 P[8], G3P[8], G4P[8] และ G2P[4]³⁰ ในปี พ.ศ. 2526 เริ่มพบ RV genotype G9 เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในเด็กที่สหรัฐอเมริกาประมาณร้อยละ 9⁶² ต่อมาจามีรายงาน G9 (G9P[8], GP[6], G9P[4], G9P[11], G9P[19]) พบได้ทั่วโลกในอัตราความชุกที่แตกต่างกัน^{63,64} และพบ G9P[8] ได้สูงสุดถึงร้อยละ 91.6 ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2543-2544¹² อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน RV genotype ที่เป็นสาเหตุการระบาดมีการเปลี่ยนแปลงพบว่า G9 ลดลง และ G1-G4 กลับมาระบาดได้บ่อยขึ้นนอกจากนี้อาจเกิดจาก RV ที่มี G และ P genotypes เป็น G5, G6, G8, G10, G12 ร่วมกับ P[9], P[14], P[1], P[10], P[11] แต่พบได้ไม่ค่อยบ่อยและ

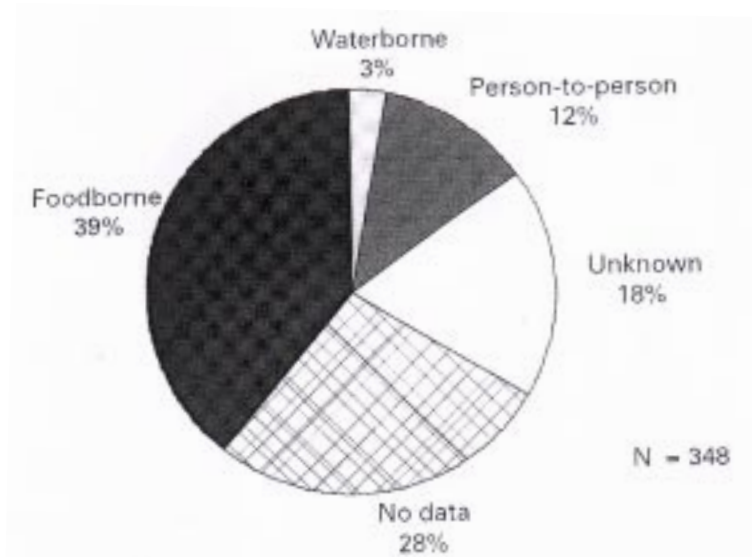
มีความชุกต่ำ³⁰ ในประเทศไทยมีการศึกษาโรคอุจจาระร่วงในเด็กสาเหตุจาก RV ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 พบว่า G4 ก่อการระบาดในช่วง พ.ศ. 2525-2527 โดยที่ G1, G2, G3 พบน้อยมาก^{65,66} ต่อมาจากปี พ.ศ. 2528-2542 พบ G1 ก่อการระบาดแทบทุกปี⁶⁵⁻⁶⁸ มีเพียงช่วงปี 2535-2536 ที่พบ G2 ระบาด⁶⁹ ส่วน G3, G4 ไม่พบในช่วงเวลาดังกล่าว สำหรับ G9 เริ่มพบครั้งแรกในปี 2532 ในอัตราต่ำ⁶³ และก่อการระบาดในช่วง ปี 2543 – 2545¹² แล้วเริ่มลดลงและ G1, G2 กลับมาแทนที่⁶¹

NV ติดต่อสู่คนทางการกินอาหาร น้ำ ที่ปนเปื้อนเชื้อ การระบาดในกลุ่มชุมชน (outbreak) เริ่มจากแหล่งอาหาร แหล่งน้ำเดียวกันและต่อจากนั้นระยะต่อไปเป็นการแพร่กระจายโดยการติดต่อกับคนสู่คน เช่น จากรายงานการระบาดในสหรัฐอเมริกา (รูปที่ 3)⁷⁰ จากการสำรวจประชากรในสหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ. 2521 พบแอนติบอดีในเด็กโต และเพิ่มสูงขึ้นในผู้ใหญ่ ประมาณร้อยละ 50 ของประชากรอายุ 50 ปี มีแอนติบอดีต่อ NV แล้ว แสดงว่าส่วนใหญ่เริ่มติดเชื้อในเด็กโต⁴⁴ ส่วนในประเทศบังคลาเทศ ฟินแลนด์ แอฟริกาใต้ ญี่ปุ่น จีน อุเวต

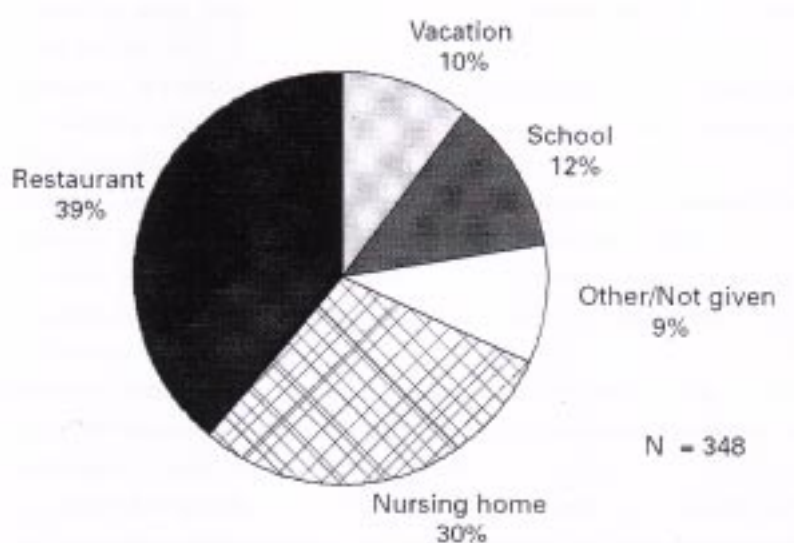
และอังกฤษ เด็กมีการติดเชื้อในช่วงอายุน้อยๆ พบร้อยละ 40-100 ของทารกและเด็กเล็กมีแอนติบอดีต่อ NV อยู่แล้ว⁷¹⁻⁷⁴

แหล่งระบาดในประเทศแถบอบอุ่นเช่น ในอเมริกา ยุโรป พบได้หลายแหล่ง (setting) เช่นจากผลการสำรวจ ในปี พ.ศ.2539-2543 ในสหรัฐอเมริกา พบได้ในภัตตาคาร โรงเรียน สถานพยาบาลและโรงพยาบาล สรรว่ายน้ำ แหล่งพักผ่อน เช่น บนเรือสำราญ (รูปที่ 4)⁷⁰ การ

ระบาดพบได้ตลอดปี แต่พบได้มากขึ้นในฤดูหนาว – ฤดูใบไม้ผลิเกิดกับเด็กโตและผู้ใหญ่^{70,75} นอกจากนี้ NV ยังก่อโรคได้ในทารกและเด็กเล็ก⁷⁶ โดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนาพบการติดเชื้อได้ตลอดปีในอัตราความชุกต่ำๆ (sporadic) ประมาณร้อยละ 7.6 – 9.9^{14,18} โดย NV genogroup II (NVGII) จะก่อโรคได้บ่อยกว่า NVGI และที่พบได้บ่อยทั่วโลกเป็น NVGII genotype 4 (GII/4)⁷⁵



รูปที่ 3 การติดต่อในการระบาดของโรคอุจจาระร่วงจาก NV จำนวน 348 แหล่งที่รายงาน CDC ในช่วงเดือน มกราคม 2539 – พฤศจิกายน 2543⁷⁰



รูปที่ 4 แหล่งการระบาดของโรคอุจจาระร่วงจาก NV จำนวน 348 แหล่ง ที่รายงาน CDC ในช่วง มกราคม 2539 – พฤศจิกายน 2543⁷⁰

ในประเทศไทยเริ่มมีการศึกษาถึงการติดเชื้อ NV ในปี พ.ศ. 2523 โดยพบว่าประชากรไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 50 มีแอนติบอดีต่อ NV ซึ่งส่วนใหญ่ร้อยละ 70 เป็นเด็กอายุ 4-5 ปี และร้อยละ 47 ของทารกแรกคลอดมีแอนติบอดีอยู่แล้ว⁷⁷ ในปี พ.ศ. 2543-2544 มีการศึกษาในเด็กที่มีอายุไม่เกิน 5 ปี ที่มีอาการอุจจาระร่วงในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่าร้อยละ 7.6 เกิดจาก NV และส่วนใหญ่ร้อยละ 75 เป็น NVGII¹⁴ ต่อมาในปี พ.ศ. 2545 – 2546 มีรายงานทารกและเด็กเล็กในสิ่งภูมิภาคที่มีอาการอุจจาระร่วง พบว่าร้อยละ 14 เกิดจาก NV โดยทั้งหมดเป็น NGII และส่วนใหญ่ร้อยละ 64 เป็น NVII/4⁷⁸

SV ก่อโรควัณโรคในทารกและเด็กเล็กได้มากกว่าในผู้ใหญ่โดยเริ่มติดเชื้อตั้งแต่อายุต่ำกว่า 6 เดือน พบว่าเด็กอายุ 1 ขวบเริ่มมีแอนติบอดีต่อ SV ในระดับต่ำๆ อายุหลัง 2 ปี ระดับแอนติบอดีจะเพิ่มสูงขึ้น เด็กอายุ 5 ปี ส่วนใหญ่มีแอนติบอดีต่อ SV แล้ว มีรายงานพบว่า ร้อยละ 70-100 ของประชากรผู้ใหญ่ในญี่ปุ่น แคนาดา อเมริกา จีน สิงคโปร์ อินโดนีเซียและปาปัวนิวกินีมี แอนติบอดีต่อ SV⁷⁹ โรควัณโรคจาก SV พบได้ทั่วโลก พบตลอดปีในอัตราความชุกต่ำๆ เช่นพบร้อยละ 3.3 ในปากีสถาน¹⁸ และ 5.7 ในฟินแลนด์⁸⁰ อย่างไรก็ตาม มีรายงานการระบาดในเด็กเล็กในสถานเลี้ยงเด็กหรือผู้ใหญ่ในสถานพยาบาล แต่พบไม่ค่อยบ่อย⁸¹ SV ที่พบบ่อยทั่วโลกเป็น genogroup I (GI)⁸¹ ในประเทศไทยมีรายงานในปี พ.ศ. 2547 พบโรควัณโรคจาก SV ได้ถึงร้อยละ 3.8 – 11 และส่วนใหญ่เกิด จาก SVGI^{14,78}

AstV เป็นสาเหตุของโรควัณโรคจาก SV พบได้ทั่วโลกโดยมีความชุกแตกต่างกันเฉลี่ยประมาณร้อยละ 0.3-14.0^{18,20,21} พบการติดเชื้อในเด็กเล็กสูงกว่าช่วงอายุอื่น พบได้ในผู้สูงอายุและผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง^{82,83} การศึกษาในประเทศอังกฤษ พบว่าเด็กอายุ 6-12 เดือนเริ่มมีการ ติดเชื้อพบแอนติบอดีประมาณร้อยละ 7 และเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 75 เมื่ออายุ 10 ปี⁵¹ การติดเชื้อเกิดได้ตลอดปีในแถบอบอุ่นพบเป็นการระบาดในฤดูหนาว – ฤดูใบไม้ผลิ ส่วนในแถบร้อนการติดเชื้อจะเริ่มสูงขึ้นในช่วงฤดูฝนคล้ายของ RV การระบาดพบได้ในหอผู้ป่วยเด็กทารก โรงเรียนอนุบาล และสถานเลี้ยงเด็ก AstV ที่พบบ่อยเป็น serotype/genotype 1 และ 3, 4, 9

ตามลำดับ⁵¹ สำหรับประเทศไทยมีรายงานในปี พ.ศ. 2534 และ 2537 เด็กอายุไม่เกิน 5 ปี เกิดโรควัณโรคจาก AstV ประมาณร้อยละ 8.6-14^{20,84} ในปี พ.ศ. 2547 มีรายงานเกิดการระบาดของโรควัณโรคจาก AstV ในหอทารกแรกคลอดในโรงพยาบาลถึงร้อยละ 30.7⁸⁵

EAdV 40, 41 ก่อโรควัณโรคในเด็กเล็กได้ประมาณร้อยละ 1-20²²⁻²⁷ ความชุกของการติดเชื้อในเด็กของประเทศพัฒนาและกำลังพัฒนาไม่แตกต่างกัน พบได้บ่อยในเด็กช่วงอายุต่ำกว่า 4 ปี การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นพบว่าเด็กทารกอายุ 1-6 เดือน เริ่มมีการติดเชื้อพบแอนติบอดีร้อยละ 20 และเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 50 เมื่ออายุ 4 ปี⁸⁶ พบการติดเชื้อ EAdV ตลอดปี มีความไม่บ่อยสูง (sporadic หรือ endemic) อย่างไรก็ตามพบการระบาดได้เป็นครั้งคราวในหอผู้ป่วยเด็กทารก สถานเลี้ยงเด็กทารกและเด็กเล็ก⁸⁷ ในระยะแรกๆ EAd41 ก่อโรคได้มากกว่า⁸⁸ ในประเทศไทยมีรายงานในปี พ.ศ. 2525 และ พ.ศ. 2538 พบว่า ทารกและเด็กเล็กเกิดโรควัณโรคจาก EAdV ถึงร้อยละ EAdV ถึงร้อยละ 2.8 และ 10.7^{22,26} ตามลำดับ

การป้องกันและรักษา

การรักษา อันตรายที่เกิดจากโรควัณโรคจาก SV คือภาวะที่ผู้ป่วยเสียน้ำและ electrolytes ขาดสมดุล ซึ่งมักจะพบเนื่องจากการติดเชื้อ RV มากกว่าการติดเชื้ออื่นถึง 14 เท่าและพบในเด็กมากกว่าผู้ใหญ่ ผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง หายเองได้อาจให้ดื่มสารน้ำ และ oral dehydration salt ทดแทนการเสียน้ำ และเกลือแร่ และให้สารน้ำทางหลอดเลือดดำในกรณีที่มีอาการอาเจียน และอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง

การป้องกัน ปัจจุบันมีการพัฒนาวัคซีนต่อ RV หลายชนิดโดยเป็นเชื้อมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ เช่น วัคซีน LLR เตรียมจาก RV ของลูกแกะ สายพันธุ์ LLR (monovalent) genotype G10 P[12] ซึ่งอนุญาตให้ใช้ในประเทศจีนตั้งแต่ พ.ศ. 2543 และวัคซีน Rotarix เตรียมจาก RV ของคนสายพันธุ์ 89-12 (monovalent) genotype G1P[8] ทดลองใน phase II, III นอกจากนี้มีการพัฒนาวัคซีนจาก reassortant viruses (เป็น RV สายพันธุ์ที่ประกอบไปด้วยยีน 2 ท่อนได้จาก RV ของคนที่กำหนดสร้างโปรตีน

VP7 และ VP4 ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ผิวนอกของอนุภาค ส่วนยื่นอีก 9 ท่อนได้จาก RV ของสัตว์ ซึ่งจะช่วยให้ไวรัส เกาะเลี้ยงได้ง่าย) ได้แก่ วัคซีน UK-based reassortants ประกอบด้วยเชื้อ 4 สายพันธุ์ (quadrivalent) 4 genotypes (G1P[5], G2, G3 G4) และวัคซีน Rota Teq ประกอบด้วยเชื้อ 5 สายพันธุ์ (pentavalent) 5 genotypes (G1P[5], G2, G3, G4, G6P[8]) ทั้ง 2 ชนิด ทดลองใน phase III³⁰ ในประเทศไทยเริ่มนำวัคซีน Rotarix มาใช้บ้างแล้ว ซึ่งมีผลการทดลองในหลายประเทศมาก่อนโดยให้ 2 โดส ทางปากกิน พบมีการตอบสนองสร้างแอนติบอดีต่อ RV ชนิด IgA ในอัตราร้อยละ 91-97⁸⁸ สำหรับวัคซีนป้องกัน โรคจากเชื้อ NV SV AstV และ EAdV ยังไม่มีเพราะความ หลากหลายของแอนติเจนและเชื้อเพาะเลี้ยงได้ยากหรือไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้

การป้องกันคือการรักษานามัยและการสุขาภิบาล บริโภคอาหารที่ปรุงสุกปราศจากเชื้อในการดูแลผู้ป่วย ทั้งที่บ้านและโรงพยาบาลควรมีมาตรการป้องกันการ แพร่เชื้ออย่างเข้มงวด เช่น การกำจัดอุจจาระผู้ป่วย การใช้ ยาฆ่าเชื้อทำความสะอาดเครื่องใช้ผู้ป่วย การล้างมือและ การสวมถุงมือเมื่อจับต้องผู้ป่วย การแยกผู้ป่วย การตรวจ สุขอนามัยของผู้ประกอบอาหาร ร้านอาหาร คุณภาพ น้ำดื่มและส้วมจะช่วยให้ช่วยลดอุบัติการณ์ และป้องกันการ ระบาดของโรคได้

เอกสารอ้างอิง

1. Synder JD, Merson MH. The magnitude of the global problem of acute diarrheal disease: a review of active surveillance data. Bull World Health Organ 1982; 60: 605-13
2. Bern CB, Glass RI. Impact of diarrheal disease worldwide. In: Kapikian AZ, editor. Viral infections of the gastrointestinal tract. New York: Marcel Dekker, 1994: 1-26
3. Guerrant RL, Hughes JM, Jima NL, Drane J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings and etiologies. Rev Infect Dis 1990; 12: S41-50
4. Warren KS. Tropical medicine or tropical health: the Health Clark lectures, 1988. Rev Infect Dis 1990; 12: 142-56
5. Bern C, Snieszek J, Mathbor GM, Siddiqi MS, Ronsmans C, Chowdhury AM, et al. Risk factors for mortality in the Bangladesh cyclone of 1991. Bull World Health Organ. 1993; 71: 73-8
6. Bern C, Martines J, de Zoysa I, Glass RI. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. Bull World Health Organ. 1992; 70: 705-14
7. Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet. 1997; 349 (9063): 1436-42
8. Martines J, Phillips M, Feachem RG. Diarrheal disease. In: Jamison DT, Mosely WH, Measham AR, Bobadilla JL, editors. Disease control priorities in developing countries. New York : Oxford University Press, 1993: 91-116
9. Hasegawa A, Mukoyama A, Suzuki H, Inouye S, Chearskul S, Thongkrajai P, et al. Rotavirus infection of Thai infants: antigen detection, RNA electrophoresis and virus cultivation. J Diarrhoeal Dis Res. 1987; 5: 165-70.
10. Barnes GL, Uren E, Stevens KB, Bishop RF. Etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. J Clin Microbiol 1998; 36: 133-8
11. Coluchi N, Munford V, Manzur J, Vazquez C, Escobar M, Weber E, et al. Detection, subgroup specificity, and genotype diversity of rotavirus strains in children with acute diarrhea in Paraguay. J Clin Microbiol. 2002; 40: 1709-14
12. Khamrin P, Peerakome S, Wongsawasdi L, Tonusin S, Sornchai P, Maneerat V, et al. Emergence of human G9 rotavirus with an exceptionally high frequency in children

- admitted to hospital with diarrhea in Chiang Mai, Thailand. *J Med Virol.* 2006; 78: 273-80.
13. Schnagl RD, Belfrage K, Farrington R, Hutchinson K, Lewis V, Erlich J, et al. Incidence of human astrovirus in central Australia (1995 to 1998) and comparison of deduced serotypes detected from 1981 to 1998. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4114-20
 14. Hansman GS, Katayama K, Maneekarn N, Peerakome S, Khamrin P, Tonusin S, et al. Genetic diversity of norovirus and sapovirus in hospitalized infants with sporadic cases of acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1305-7
 15. Nakayama M, Ueda Y, Kawamoto H, Han-jun Y, Saito K, Nishio O, et al. Detection and sequencing of Norwalk-like viruses from stool samples in Japan using reverse transcription-polymerase chain reaction amplification. *Microbiol Immunol* 1996; 40: 317-20
 16. Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 71-7
 17. Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, Bresee JS, Beard RS, Bulens SN, et al. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus—United States, 2002. *J Infect Dis* 2004; 190: 27-36
 18. Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Maneekarn N, Nishio O, Okitsu S, et al. Human astrovirus, norovirus (GI, GII), and sapovirus infections in Pakistani children with diarrhea. *J Med Virol* 2004; 73: 256-61
 19. Honma S, Nakata S, Numata K, Kogawa K, Yamashita T, Oseto M, et al. Epidemiological study of prevalence of genogroup II human calicivirus (Mexico virus) infections in Japan and Southeast Asia as determined by enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2481-4
 20. Echeverria P, Hoge CW, Bodhidatta L, Tungtaem C, Herrmann J, Imlarp S, et al. Etiology of diarrhea in a rural community in western Thailand: importance of enteric viruses and enterovirulent *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1994; 169: 916-9
 21. Iritani N, Seto Y, Kubo H, Murakami T, Haruki K, Ayata M, et al. Prevalence of Norwalk-like virus infections in cases of viral gastroenteritis among children in Osaka City, Japan. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1756-9
 22. Jayavas C, Hooniwat Y, Sagaunwong S, Jayavas J, Chatyanonda K. A long term study of rotavirus infection in Thai infants and children with diarrhoea. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1982; 13: 373-6
 23. Soares CC, Volotao EM, Albuquerque MC, da Silva FM, de Carvalho TR, Nozawa CM, et al. Prevalence of enteric adenoviruses among children with diarrhea in four Brazilian cities. *J Clin Virol.* 2002; 23: 171-7
 24. Saderi H, Roustai MH, Sabahi F, Sadeghizadeh M, Owlia P, De Jong JC. Incidence of enteric adenovirus gastroenteritis in Iranian children. *J Clin Virol.* 2002; 24: 1-5
 25. Kidd AH, Cosgrove BP, Brown RA, Madeley CR. Faecal adenoviruses from Glasgow babies. Studies on culture and identity. *J Hyg (Lond).* 1982; 88: 463-74
 26. Hendricks MK, Cuevas LE, Hart CA. Rotavirus diarrhoea in Thai infants and children. *Ann Trop Paediatr.* 1995; 15: 147-52
 27. Herrmann JE, Blacklow NR, Perron-Henry DM, Clements E, Taylor DN, Echeverria P. Incidence

- of enteric adenoviruses among children in Thailand and the significance of these viruses in gastroenteritis. *J Clin Microbiol.* 1988; 26: 1783-6
28. Estes MK. Rotavirus and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields virology*. 4th ed., vol 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1747-85
29. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM. Rotaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields virology*. 4th ed., vol 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1787-822
30. Santos N, Hoshino Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol.* 2005; 15: 29-56
31. Khamrin P, Maneekarn N, Peerakome S, Chan-it W, Yagyu F, Okitsu S, et al. Novel porcine rotavirus of genotype P[27] shares new phylogenetic lineage with G2 porcine rotavirus strain. *Virology.* 2007; 361: 243-52
32. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J virol* 1972; 10: 1075-81
33. Zheng D, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 2006; 346:312-23
34. Chiba S, Sakuma Y, Kogasaka R, Akihara M, Horino K, Nakao T, et al. An outbreak of gastroenteritis associated with calicivirus in an infant home. *J Med Virol* 1979; 4: 249-54
35. Farkas T, Zhong WM, Jing Y, Huang PW, Espinosa SM, Martinez N, et al. Genetic diversity among sapoviruses. *Arch Virol* 2004; 149: 1309-23
36. Madeley CR, Cosgrove BP. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975; 2: 451-2
37. Sakamoto T, Negishi H, Wang QH, Akihara S, Kim B, Nishimura S, et al. Molecular epidemiology of astroviruses in Japan from 1995 to 1998 by reverse transcription-polymerase chain reaction with serotype-specific primers (1 to 8). *J Med Virol* 2000; 61: 326-31
38. Li L, Shimizu H, Doan LT, Tung PG, Okitsu S, Nishio O, et al. Characterizations of adenovirus type 41 isolates from children with acute gastroenteritis in Japan, Vietnam, and Korea. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 4032-9
39. Flewett TH, Bryden AS, Davies HA, Morris CA. Epidemic viral enteritis in a long-stay children's ward. *Lancet* 1975; 1: 4-5
40. de Jong JC, Wigand R, Kidd AH, Wadell G, Kapsenberg JG, Muzerie CJ, et al. Candidate adenoviruses 40 and 41: fastidious adenoviruses from human infant stool. *J Med Virol.* 1983; 11: 215-31
41. Kidd AH, Madeley CR. In vitro growth of some fastidious adenoviruses from stool specimens. *J Clin Pathol.* 1981; 34: 213-6
42. Vasickova P, Dvorska L, Lorencova A, et al. Viruses as a cause of foodborne diseases: a review of the literature. *Vet Med-Czech* 2005; 50: 89-104
43. Ball JM, Tian P, Zeng CQ, Morris AP, Estes MK. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science.* 1996; 272: 101-4

44. Green KY, Kapikian AZ. Human Caliciviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields virology*. 4th ed., vol 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 841-66
45. Meeroff JC, Schreiber DS, Trier JS, Blacklow NR. Abnormal gastric motor function in viral gastroenteritis. *Ann Intern Med*. 1980; 92: 370-3
46. Phillips AD, Rice SJ, Walker-Smith JA. Astrovirus within human small intestinal mucosa. *Gut* 1982; 23: A923-4
47. Whitelaw A, Davies H, Parry J. Electron microscopy of fatal adenovirus gastroenteritis. *Lancet*. 1977; 1: 361
48. Richmond SJ, Caul EO, Dunn SM, Ashley CR, Clacken SKR. An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses. *Lancet* 1979; 1: 1178-80
49. Centers for Disease Control and Prevention. Norwalk-like viruses: public health consequences and outbreak management. *MMWR* 2001; 50: 1-17
50. Nakata S, Chiba S, Terashima H, Nakao T. Prevalence of antibody to human calicivirus in Japan and Southeast Asia determined by radioimmunoassay. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 519-21
51. Matsui SM, Greenberg HB. Astroviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields virology*. 4th Ed., vol 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 875-90
52. Gallimore CI, Green J, Lewis D, Richards AF, Lopman BA, Hale AD, et al. Diversity of noroviruses cocirculating in the north of England from 1998 to 2001. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1396-401
53. Herrmann JE, Nowak NA, Perron-Henry DM, Hudson RW, Cubitt WD, Blacklow NR. Diagnosis of astrovirus gastroenteritis by antigen detection with monoclonal antibodies. *J Infect Dis*. 1990; 161: 226-9
54. Yan H, Yagyu F, Okitsu S, Nishio O, Ushijima H. Detection of norovirus (GI, GII), sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J Virol Methods* 2003; 114: 37-44
55. Atmar RL, Estes MK. Diagnostic of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 15-37
56. Asanaka M, Atmar RL, Ruvo V, Crawford SE, Neill FH, Estes MK. Replication and packaging of Norwalk virus RNA in cultured mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 10327-32
57. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9: 565-72
58. Bresee JS, Hummelman E, Nelson EA, Glass RI. Rotavirus in Asia: the value of surveillance for informing decisions about the introduction of new vaccines. *J Infect Dis*. 2005; 192 Suppl 1: S1-5
59. Louisirirothanakul S, Wasi C, Satrasook S, Surakhaka M, Thongcharoen P. Rotavirus in pediatric diarrhoea at Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1984; 15: 348-53
60. Wasi C, Louisirirothanakul S, Thakerngpol K, Satrasook S, Surakhala M, Varavithya W, et al. The epidemiological study on viral diarrhoea in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 1984; 67: 369-75
61. Jiraphongsa C, Bresee JS, Pongsuwanna Y, Kluabwang P, Poonawagul U, Arpornitip P,

- et al. Epidemiology and burden of rotavirus diarrhea in Thailand: results of sentinel surveillance. *J Infect Dis.* 2005; 192 Suppl 1: S87-93
62. Clark HF, Hoshino Y, Bell LM, Groff J, Hess G, Bachman P, et al. Rotavirus isolate WI61 representing a presumptive new human serotype. *J Clin Microbiol.* 1987; 25: 1757-62
 63. Okada J, Urasawa T, Kobayashi N, Taniguchi K, Hasegawa A, Mise K, et al. New P serotype of group A human rotavirus closely related to that of a porcine rotavirus. *J Med Virol.* 2000; 60: 63-9
 64. Santos N, Volotao EM, Soares CC, Albuquerque MC, da Silva FM, de Carvalho TR, et al. Rotavirus strains bearing genotype G9 or P[9] recovered from Brazilian children with diarrhea from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1157-60
 65. Pipittajan P, Kasempimolporn S, Ikegami N, Akatani K, Wasi C, Sinarachatanant P. Molecular epidemiology of rotaviruses associated with pediatric diarrhea in Bangkok, Thailand. *J Clin Microbiol.* 1991; 29: 617-24
 66. Pongsuwanne Y, Taniguchi K, Choonthanom M, Chiwakul M, Susansook T, Saguanwongse S, et al. Subgroup and serotype distributions of human, bovine, and porcine rotavirus in Thailand. *J Clin Microbiol.* 1989; 27: 1956-60
 67. Sethabutr O, Unicomb LE, Holmes IH, Taylor DN, Bishop RF, Echeverria P. Serotyping of human group A rotavirus with oligonucleotide probes. *J Infect Dis.* 1990; 162: 368-72
 68. Pongsuwanna Y, Taniguchi K, Wakasugi F, Sutivijit Y, Chiwakul M, Warachit P, et al. Distinct yearly change of serotype distribution of human rotavirus in Thailand as determined by ELISA and PCR. *Epidemiol Infect.* 1993; 111: 407-12
 69. Nirdnoy W, Sethabutr O, Sakulkaipeara T, Harikul S, Hoge CW, Echeverria P. Typing of human group A rotavirus with alkaline phosphatase-labeled oligonucleotide probes or a monoclonal enzyme immunoassay in unfrozen stools of children with diarrhea in Bangkok. *J Med Virol.* 1995; 45: 117-20
 70. Fankhauser RL, Noel JS, Monroe SS, Ando T, Glass RI. Molecular epidemiology of "Norwalk-like viruses" in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis.* 1998; 178: 1571-8
 71. Black RE, Greenberg HB, Kapikian AZ, Brown KH, Becker S. Acquisition of serum antibody to Norwalk Virus and rotavirus and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. *J Infect Dis.* 1982; 145: 483-9
 72. Lew JF, Valdesuso J, Vesikari T, Kapikian AZ, Jiang X, Estes MK, et al. Detection of Norwalk virus or Norwalk-like virus infections in Finnish infants and young children. *J Infect Dis.* 1994; 169: 1364-7
 73. Smit TK, Steele AD, Peenze I, Jiang X, Estes MK. Study of Norwalk virus and Mexico virus infections at Ga-Rankuwa Hospital, Ga-Rankuwa, South Africa. *J Clin Microbiol.* 1997; 35: 2381-5
 74. Jiang X, Wilton N, Zhong WM, Farkas T, Huang PW, Barrett E, et al. Diagnosis of human caliciviruses by use of enzyme immunoassays. *J Infect Dis.* 2000; 181 Suppl 2: S349-59
 75. Maunula L, Von Bonsdorff CH. Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998-2002. *J Clin Virol.* 2005; 34: 186-94
 76. Pang XL, Joensuu J, Vesikari T. Human

- calicivirus-associated sporadic gastroenteritis in Finnish children less than two years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Pediatr Infect Dis J.* 1999; 18: 420-6
77. Echeverria P, Burke DS, Blacklow NR, Cukor G, Charoenkul C, Yanggratoke S. Age-Specific Prevalence of antibody to rotavirus, *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin, Norwalk virus, and hepatitis A virus in a rural community in Thailand. *J Clin Microbiol* 1983; 17:923-5
 78. Guntapong R, Hansman GS, Oka T, Ogawa S, Kageyama T, Pongsuwanna Y, et al. Norovirus and Sapovirus infection in Thailand. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 276-8
 79. Nakata S, Kogawa K, Numata K, Ukae S, Adachi N, Matson DO, et al. The epidemiology of human calicivirus/Sapporo/82/Japan. *Arch Virol Suppl.* 1996; 12: 263-70
 80. Pang XL, Honma S, Nakata S, Vesikari T. Human caliciviruses in acute gastroenteritis of young children in the community. *J Infect Dis.* 2000; 181 Suppl 2: S288-94.
 81. Phan TG, Trinh QD, Yagyu F, Sugita K, Okitsu S, Muller WEG, et al. Outbreak of sapovirus infection among infants and children with acute gastroenteritis in Osaka City, Japan during 2004-2005. *J Med Virol* 2006; 78: 839-46
 82. Matsui SM, Lewis TL, Chiu E, Smith LS, Dupuis K, Cahill CK, et al. An outbreak of astrovirus gastroenteritis in a nursing home and molecular characterization of the virus. *Gastroenterology* 1994; 106: A730
 83. Grohmann GS, Glass RI, Pereira HG, Monroe SS, Hightower AW, Bryan RT. Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 1993; 329: 14-20
 84. Herrmann JE, Taylor DN, Echeverria P, Blacklow NR. Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children. *N Engl J Med* 1991; 324: 1757-60
 85. Sirinavin S, Techasaensiri C, Okascharoen C, Nuntnarumit P, Tonsuttakul S, Pongsuwan Y. Neonatal astrovirus gastroenteritis during an inborn nursery outbreak. *J Hosp Infect.* 2006; 64: 196-7
 86. Shinozaki T, Araki K, Ushijima H, Fujii R. Antibody response to enteric adenovirus types 40 and 41 in sera from people in various age groups. *J Clin Microbiol.* 1987; 25: 1679-82
 87. Van R, Wun CC, O'Ryan ML, Matson DO, Jackson L, Pickering LK. Outbreaks of human enteric adenovirus types 40 and 41 in Houston day care centers. *J Pediatr.* 1992; 120: 516-21.
 88. Phua KB, Quak SH, Lee BW, Emmanuel SC, Goh P, Han HH, et al. Evaluation of RIX4414, a live, attenuated rotavirus vaccine, in a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial involving 2464 Singaporean infants. *J Infect Dis.* 2005; 192 Suppl 1: S6-S16