Incidence of Dengue Virus Infection and Dengue Serotypes Changed in Ratchaburi Province During 2012-2020

Arisara Posanacharoen[1,2], Sumalee Chanama[2], Pattara Wongjaroen[2], Sarinee Chumnanruksa[2], Laddawan Meephaendee[2], Wararat Jamfa[2], Pornsiri Somasa[2], Husneeyah Vateh[2], Sirirat Naemkhunthot[2], Naruphong Phunikom[2], Pongsiri Tanthong[2], Archawin Rojanawiwat[2], Worada Samosornsuk[3] and Seksun Samosornsuk[3*]

[1]*Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathum Thani Province, Thailand*
[2]*National Institute of Health, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Nonthaburi Province, Thailand*
[3]*Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathum Thani Province, Thailand*

Abstract

Dengue fever, dengue hemorrhagic fever, and dengue shock syndrome are the groups of diseases caused by the dengue virus infection with the mosquito, *Aedes aegypti*, as the major vector. Dengue viruses are classified into four serotypes including dengue-1, dengue-2, dengue-3, and dengue-4. In every year, Ratchaburi is one of the provinces in Thailand where the incidence rates of dengue virus infection are high. This study aims to monitor dengue serotype changes in dengue fever, dengue hemorrhagic fever, and dengue shock syndrome patients in Ratchaburi province during 2012-2020. The 1,027 samples were tested for dengue virus RNA by real time RT-PCR. The results found that real time RT-PCR positive cases ranged from 37.6-74.7%. The prevalence rates of DENV-1, DENV-2, DENV-4 and DENV-3 were detected as 36.5%, 26.3%, 20.6% and 16.4%, respectively, including 0.2% of co-infection between DENV-2 and DENV-3. Notably, all four dengue serotypes were circulated in Ratchaburi province. DENV-1 was found every year, while DENV-3 and DENV-4 decreased in the last 5 years (since 2016). The number of DENV-2 has also decreased and until the year 2018 onwards, it has been increasing continuously. Within 2,106 patient

***Corresponding author E-mail address:** seksun@hotmail.com
Received: 21 January 2023 Revised: 7 June 2023 Accepted: 24 June 2023

#52-3-66 .indd 8743 7/12/2566 BE 12:32

cases, antibodies detection against dengue virus were 48.6-95.9%, with 0-20% of primary infection and 80-100% of secondary infection. The information obtained from this study notifies the epidemiology, outbreak pattern, and dengue serotype data, which will be useful for dengue control and vaccine research and development to cover the strains of the dengue virus.

Keywords: Dengue virus, Dengue fever, Dengue hemorrhagic fever, Serotypes

#52-3-66 .indd 8744 7/12/2566 BE 12:32

อุบัติการณ์การติดเชื้อและซีโรทัยป์ไวรัสเดงกีในจังหวัดราชบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2563

อริสรา โปษณเจริญ[1,2] สุมาลี ชะนะมา[2] ภัทร วงษ์เจริญ[2] สาริณี ชำนาญรักษา[2]
ลัดดาวัลย์ มีแผนดี[2] วรารัตน์ แจ่มฟ้า[2] พรศิริ โสมาสา[2] ฮุสนียะห์ วาเต๊ะ[2]
ศิริรัตน์ แนมขุนทด[2] นฤพงศ์ ภูนิคม[2] พงศ์ศิริ ตาลทอง[2] อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์[2]
วรดา สโมสรสุข[3] และ เสกสรรค์ สโมสรสุข[3*]

[1]บัณฑิตศึกษา สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี
[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี
[3]ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

โรคไข้เดงกี ไข้เลือดออกเดงกี และไข้เลือดออกช็อก เป็นกลุ่มโรคที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสเดงกี ที่มียุงลาย *Aedes aegypti* เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ ไวรัสเดงกีประกอบด้วย 4 ซีโรทัยป์ คือ เดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-3 และเดงกี-4 จังหวัดราชบุรีเป็นจังหวัดหนึ่งในพื้นที่ของประเทศไทยที่พบอุบัติการณ์ของไวรัสเดงกีสูงในทุกปี งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ ในจังหวัดราชบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2563 โดยศึกษาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี real time RT-PCR จำนวน 1,027 ราย พบผลบวกของเชื้อร้อยละ 37.6-74.7 สายพันธุ์ที่พบเรียงตามความชุกคือเชื้อเดงกี-1 เชื้อเดงกี-2 เชื้อเดงกี-4 และเชื้อเดงกี-3 โดยพบร้อยละ 36.5, 26.3, 20.6 และ 16.4 ตามลำดับ รวมทั้งมีการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อเดงกี-2 และเดงกี-3 ร้อยละ 0.2 จึงเห็นได้ว่าไวรัสเดงกีที่ตรวจพบในจังหวัดราชบุรีมีการหมุนเวียนครบทั้ง 4 ซีโรทัยป์ โดยที่เชื้อเดงกี-1 พบได้ทุก ๆ ปี ในขณะที่เดงกี-3 และเดงกี-4 เริ่มลดลงในช่วง 5 ปีหลัง (ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2559) ส่วนเชื้อเดงกี-2 มีจำนวนลดต่ำลง จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2561 เป็นต้นไป พบจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังศึกษาการติดเชื้อเดงกีจาก Antibody ด้วยวิธี Ab capture ELISA จำนวน 2,106 ราย พบผลบวกร้อยละ 48.6-95.9 ซึ่งเป็นการติดเชื้อครั้งแรกร้อยละ 0-20 และติดเชื้อเดงกีซ้ำร้อยละ 80-100 ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ทำให้ทราบสถานการณ์ รูปแบบการระบาด และข้อมูลซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกี ซึ่งจะช่วยให้เป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการควบคุมโรคไข้เลือดออกเดงกี รวมไปถึงการวิจัยพัฒนาวัคซีนให้ครอบคลุมสายพันธุ์ของไวรัสเดงกีต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อไวรัสเดงกี ไข้เดงกี ไข้เลือดออกเดงกี ซีโรทัยป์

***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address:** seksun@hotmail.com
รับบทความ: 21 มกราคม 2566 แก้ไขบทความ: 7 มิถุนายน 2566 รับตีพิมพ์บทความ: 24 มิถุนายน 2566

#52-3-66 .indd 8745 7/12/2566 BE 12:32

บทนำ

ไข้เลือดออกเดงกี (Dengue hemorrhagic fever; DHF) เป็นโรคที่พบแพร่กระจายในประเทศเขตร้อนมานานกว่า 200 ปี ต่อมาหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 เริ่มมีการระบาดเพิ่มขึ้น และพบกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการโรคที่รุนแรง มีภาวะเลือดออกและภาวะช็อก โดยมีอัตราตายสูง และในปัจจุบันโรคไข้เลือดออกเดงกียังเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในหลายประเทศทั่วโลก เนื่องจากโรคนี้สามารถแพร่กระจายอย่างกว้างขวางและพบรายงานจำนวนผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้นอย่างมากในระยะเวลา 40 ปีที่ผ่านมา ประเทศไทยเริ่มพบโรคไข้เลือดออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2492 การระบาดครั้งใหญ่ที่สุดเกิดขึ้นเมื่อปี พ.ศ. 2530 มีผู้ป่วยทั้งสิ้น 174,285 ราย อัตราป่วย 325.13 ต่อแสนประชากร เสียชีวิต 1,008 ราย อัตราป่วยตายร้อยละ 0.58 และยังพบการระบาดครั้งใหญ่ ที่มีอัตราป่วยสูงในปีต่อมาอีกหลายครั้ง[1]

ไวรัสเดงกี จัดเป็น RNA virus ใน Family *Flaviviridae* Genus *Flavivirus*[2] ไวรัสเดงกีแบ่งออกเป็น 4 ซีโรทัยป์ คือ เดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-3 และเดงกี-4 ประเทศในเขตร้อนส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ที่มีไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์แพร่กระจายอยู่ จึงทำให้ผู้ที่อยู่ในพื้นที่ดังกล่าวมีโอกาสเกิดโรคไข้เลือดออกมากขึ้น ไวรัสเดงกีแต่ละซีโรทัยป์มีแอนติเจนบางส่วนที่แสดงลักษณะเฉพาะและแอนติเจนบางส่วนเป็นแอนติเจนร่วมของกลุ่ม Flavivirus แอนติบอดีที่เกิดขึ้นหลังการติดเชื้อไวรัสเดงกีจะทำปฏิกิริยาจับกับแอนติเจนของซีโรทัยป์นั้นและสามารถทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับแอนติเจนของ Flavivirus ตัวอื่น ๆ ในระดับสูง[3,4] เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ใดซีโรทัยป์หนึ่งแล้วจะมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสเดงกีซีโรทัยป์นั้นอย่างถาวรตลอดชีวิต แต่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสเดงกีอีก 3 ซีโรทัยป์ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ เพียง 2-3 เดือน หรืออาจนานถึง 6-12 เดือน การติดเชื้อไวรัสเดงกีในคนส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 90) มักไม่แสดงอาการ มีเพียงร้อยละ 3 เท่านั้นที่แสดงอาการอย่างรุนแรง ลักษณะอาการทางคลินิกของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีแบ่งเป็น 4 แบบคือ 1) ไข้ไม่ทราบสาเหตุ (Undifferentiated fever; UF); 2) ไข้เดงกี (Dengue fever; DF); 3) ไข้เลือดออกเดงกี (Dengue hemorrhagic fever; DHF) และ 4) ถ้ามีการรั่วของพลาสมาออกนอกหลอดเลือดมาก ผู้ป่วยจะมีภาวะช็อกเกิดขึ้นที่เรียกว่าไข้เลือดออกช็อก (Dengue shock syndrome; DSS)[5-7]

การจำแนกซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีในผู้ป่วยมีความสำคัญต่อการศึกษาทางระบาดวิทยา ทำให้เข้าใจสถานการณ์และปัจจัยเสี่ยงของการระบาดมากขึ้น รวมทั้งประโยชน์ต่อการพยากรณ์การระบาดและความรุนแรงของโรค การตรวจพบซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีที่เปลี่ยนไปในระยะ 3 เดือน สามารถพยากรณ์สถานการณ์ของการระบาดที่จะเกิดขึ้นต่อเนื่องได้[8] นอกจากนี้การติดเชื้อซ้ำด้วยไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ที่ต่างจากการติดเชื้อซีโรทัยป์แรกเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดอาการที่รุนแรง การติดเชื้อซ้ำด้วยเดงกี-2 และเดงกี-3 มีอัตราเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคไข้เลือดออกชนิดที่รุนแรงมากกว่าการติดเชื้อซ้ำด้วยซีโรทัยป์อื่น[9] การตรวจซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีนิยมตรวจ 2 วิธี คือ การแยกเชื้อไวรัสด้วยเซลล์เพาะเลี้ยงหรือฉีดเชื้อไวรัสเข้าตัวยุงโดยตรง แล้วตรวจหาเชื้อไวรัส ซึ่งจะพบเฉพาะเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิตเท่านั้น ส่วนการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อโดยวิธี real time reverse transcription polymerase chain reaction (real time RT-PCR) เป็นวิธีที่นิยมแพร่หลายในปัจจุบัน ใช้ตรวจหาเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อหลายชนิดพร้อม ๆ กันได้ รวมทั้งโรคไข้เลือดออกด้วย ทำให้

สะดวกและง่ายขึ้น[10]

เนื่องจากจังหวัดราชบุรีเป็นจังหวัดที่มีการระบาดของไวรัสเดงกีอย่างต่อเนื่อง มีอุบัติการณ์ของโรคไข้เลือดออกสูงทุกปี มีการหมุนเวียนของเชื้อไวรัสเดงกีในพื้นที่ในระดับที่สูง เนื่องจากเป็นเขตชายแดนประเทศไทย ซึ่งมีลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่มีทั้งป่าและสังคมเมือง ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกี จากการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเดงกีโดยวิธี real time RT-PCR และการตรวจหาสถานภาพของการติดเชื้อครั้งแรกหรือติดเชื้อซ้ำจากแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ต่อเชื้อโดยวิธี ELISA ในผู้ป่วยไข้เดงกีและไข้เลือดออกเดงกี และไข้เลือดออกช็อกในจังหวัดราชบุรี

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยซึ่งได้รับการวินิจฉัยจากอาการทางคลินิกด้วยโรคไข้เดงกี (Dengue fever, DF) ไข้เลือดออกเดงกี (Dengue hemorrhagic fever, DHF) หรือไข้เลือดออกช็อก (Dengue shock syndrome, DSS) ซึ่งเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลราชบุรี จังหวัดราชบุรี เป็นระยะเวลา 9 ปี ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2563 จำนวน 2,106 ราย ได้รับการตรวจกรองทางห้องปฏิบัติการด้วย Dengue NS1 Ag จากชุด Rapid test (SD Bioline, South Korea) ในการศึกษานี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างซีรัม 2 ครั้ง ครั้งแรกในขณะที่ผู้ป่วยมาโรงพยาบาล และครั้งที่ 2 นัดห่างจากวันเริ่มป่วย 10-17 วัน ซึ่งจะเก็บซีรัมทั้งสองครั้งไว้ที่ -20°C เพื่อตรวจหาสถานภาพการติดเชื้อของไวรัสเดงกี และ serotype ของเชื้อเดงกีต่อไป งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ (COE No.21/2563)

2. การตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธี Real time RT-PCR

ตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยที่เก็บครั้งแรกนับจากวันเริ่มมีอาการป่วย 0-5 วัน จำนวน 1,027 ราย ทดสอบหาสารพันธุกรรมตรวจหาซีโรทัยป์ของเชื้อเดงกีด้วย real time PCR ณ ห้องปฏิบัติการฝ่ายอาโบไวรัส สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสกัดอาร์เอ็นเอจากเลือด 100 µL ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป QIAamp viral RNA kit (QIAGEN, Germany) จากนั้นนำอาร์เอ็นเอที่ได้ไปเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยวิธี Real time RT-PCR ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป abTEST™ DENV/CHIKU5 qPCR II kit (ATI biotech, Singapore) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต[11] ด้วยเครื่อง ABI 7500 ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต การแปลผลซีโรทัยป์ของเชื้อเดงกี หลังจากพบ amplification curve ซึ่งมีค่า Ct น้อยกว่าหรือเท่ากับ 40 ในกรณีเกิดที่ target สี Cy5, สี FAM, สี Texas Red และ สี TAMRA สรุปผลเป็นเดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-3 และเดงกี-4 ตามลำดับ

3. การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ด้วยวิธี Antibody capture ELISA

ตัวอย่างเลือดผู้ติดเชื้อเดงกีที่เจาะทั้ง 2 ครั้งในครั้งแรกและครั้งที่ 2 จำนวน 2,106 ราย นำส่งตรวจหา Ab ชนิด IgM และ IgG ต่อเชื้อไวรัสเดงกีและวิเคราะห์สถานภาพของการติดเชื้อครั้งแรกหรือติดเชื้อซ้ำ ณ ฝ่ายอาโบไวรัส สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยตรวจชนิดและปริมาณ IgM และ IgG ต่อเชื้อไวรัสเดงกี วิธี Ab capture ELISA (Cappel, Ohio, USA)

ตามวิธีของ Innis และคณะ[12] การแปลผล Dengue IgM เป็นผลบวกเมื่อค่า IgM มากกว่าหรือเท่ากับ 40 ยูนิต และ Dengue IgG เป็นผลบวกเมื่อค่า IgG มากกว่าหรือเท่ากับ 100 ยูนิต ในกรณีสัดส่วนระหว่าง IgM และ IgG มากกว่าหรือเท่ากับ 1.8 และระยะห่างระหว่างเลือดครั้งแรกและครั้งที่ 2 ห่างกันตั้งแต่ 7 วันขึ้นไป แสดงว่า ผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกีครั้งแรก (Primary infection) ในกรณีสัดส่วนระหว่าง IgM และ IgG น้อยกว่า 1.8 และระยะห่างระหว่างเลือดครั้งแรกและครั้งที่ 2 ห่างกันไม่เกิน 17 วัน แสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อซ้ำ (Secondary infection)[13]

ผลการวิจัย

ผู้ป่วยเดงกีที่ได้รับการวินิจฉัยทางคลินิกด้วยโรคไข้เดงกี ไข้เลือดออกเดงกี หรือไข้เลือดออกช็อก จำนวนทั้งสิ้น 2,106 รายหรือร้อยละ 14 ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลราชบุรี ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2563 ซึ่งแยกจำนวนผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกีในแต่ละปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562 และ 2563 ได้เป็น 451 (ร้อยละ 27.8), 395 (ร้อยละ 29.6), 284 (ร้อยละ 28.6), 428 (ร้อยละ 9.8), 72 (ร้อยละ 18.4), 102 (ร้อยละ 15.8), 159 (ร้อยละ 9.0), 173 (ร้อยละ 9.0) และ 42 (ร้อยละ 4.3) ตามลำดับ โดยพบจำนวนผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกีสูงสุดในปี พ.ศ. 2558 (จำนวน 428 ราย) แต่ในปีถัดไป (พ.ศ. 2559) พบจำนวนผู้ป่วยเริ่มลดน้อยลงต่ำสุด (72 ราย) การศึกษาทางห้องปฏิบัติการในผู้ติดเชื้อเดงกีตรวจพบแอนติบอดีชนิด IgM และ/หรือ IgG วิธี ELISA ร้อยละ 48.6-95.9 และยืนยันการตรวจพบสารพันธุกรรมด้วยวิธี real time RT-PCR ร้อยละ 37.6-74.7 (Table 1) จากการวิเคราะห์สถานภาพการติดเชื้อจากแอนติบอดีในช่วงเวลาที่ศึกษา พบเป็นการติดเชื้อครั้งแรกเพียงร้อยละ 0-20 แต่เป็นผู้ที่ติดเชื้อซ้ำร้อยละ 80-100 (Table 2) โดยอยู่ในกลุ่มผู้ป่วยโรคไข้เดงกี (DF) ร้อยละ 58.6-80.1 ผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกี (DHF) ร้อยละ 16.6-35.9 ผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกช็อก (DSS) ร้อยละ 1.3-12.9 แสดงว่าการติดเชื้อซ้ำมีอาการไม่รุนแรง

ในกลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสเดงกีได้ส่งตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี real time RT-PCR ทั้งหมด 1,027 ราย พบผลบวก 602 ราย (ร้อยละ 58.6) และในภาพรวมสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสเดงกีที่พบเรียงลำดับดังนี้ เชื้อไวรัสเดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-4 และเดงกี-3 พบร้อยละ 36.5 (220 ราย) ร้อยละ 26.3 (158 ราย) ร้อยละ 20.6 (124 ราย) และร้อยละ 16.4 (99 ราย) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อไวรัสเดงกี-2 และเชื้อไวรัสเดงกี-3 ร้อยละ 0.2 (1 ราย) (Fig. 1) โดยที่ซีโรทัยป์ที่พบสูงเด่นระหว่างปี พ.ศ. 2555-2563 ในแต่ละปีสลับกันไปมา (Fig. 2) โดยที่เชื้อไวรัสเดงกี-1 เป็นซีโรทัยป์พบได้ทุกปี ในขณะที่เดงกี-2 เด่นในช่วงแรก (ปี 2555-2556) แต่เริ่มลดลงชัดเจนในปี พ.ศ. 2557 และขึ้นมาใหม่ในช่วงหลัง (พ.ศ. 2561 เป็นต้นไป) ส่วนเดงกี-3 และเดงกี-4 พบในช่วงกลาง ๆ (พ.ศ. 2557-2559 และปี พ.ศ. 2557-2560 ตามลำดับ) นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2562 ยังพบการติดเชื้อ 2 ซีโรทัยป์ร่วมกัน (เดงกี-2 และเดงกี-3) จำนวน 1 ราย

เมื่อวิเคราะห์สถานภาพของการติดเชื้อเดงกีในผู้ป่วย พบว่าติดเชื้อครั้งแรกด้วยไวรัสเดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-3 และเดงกี-4 ร้อยละ 59.4, 18.8, 17.2 และ 4.7 ตามลำดับ ในขณะที่พบผู้ที่ติดเชื้อซ้ำด้วยไวรัสเดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-4 และเดงกี-3 ร้อยละ 31.9, 28.2, 25.0 และ 14.6 ตามลำดับ (Fig. 3) ในผู้ป่วยไข้เดงกี (DF) เกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-4 และเดงกี-3 ร้อยละ 37.6, 24.3, 20.4 และ 17.4 ตามลำดับในผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี

(DHF) เกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี-1 เดงกี-2 เดงกี-4 และเดงกี-3 ร้อยละ 32.7, 32.0, 23.1 และ 12.2 ตามลำดับ ในขณะที่ผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกช็อกกลับพบว่าเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี-4 เดงกี-1 เดงกี-2 และเดงกี-3 ร้อยละ 38.5, 26.9, 23.1 และ 11.5 ตามลำดับ (Fig. 4)

Table 1 Number of dengue positive Ab (IgM and/or IgG) and/or dengue genome in dengue patients.

Year B.E.	Positive dengue Ab by ELISA (total tested)	Positive dengue genome by real time RT-PCR (total tested)
2555	83.8% (n = 451)	46.2% (n = 117)
2556	95.9% (n = 395)	45.9% (n = 74)
2557	89.4% (n = 284)	37.6% (n = 178)
2558	86.2% (n = 428)	74.7% (n = 312)
2559	48.6% (n = 72)	50.0% (n = 46)
2560	79.4% (n = 102)	72.9% (n = 59)
2561	84.9% (n = 159)	56.2% (n = 73)
2562	70.5% (n = 173)	60.9% (n = 128)
2563	81.0% (n = 42)	72.5% (n = 40)
	Total (n = 2,106)	**Total** (N = 1,027)

Table 2 Occurrence of dengue primary infection and secondary infection by years during 2555-2563.

Year B.E. (total tested = 1,174)	Dengue infection as determined by ELISA	
	Primary infection (%)	Secondary infection (%)
2555 (n = 233)	42 (18.8%)	181 (81.2%)
2556 (n = 190)	38 (20%)	152 (80.0%)
2557 (n = 98)	15 (15.3%)	83 (84.7%)
2558 (n = 303)	36 (11.9%)	267 (88.1%)
2559 (n = 27)	0 (0%)	27 (100%)
2560 (n = 74)	14 (18.9%)	60 (81.1%)
2561 (n = 116)	20 (17.2%)	96 (82.8%)
2562 (n = 104)	16 (15.4%)	88 (84.6%)
2563 (n = 29)	2 (6.9%)	27 (93.1%)

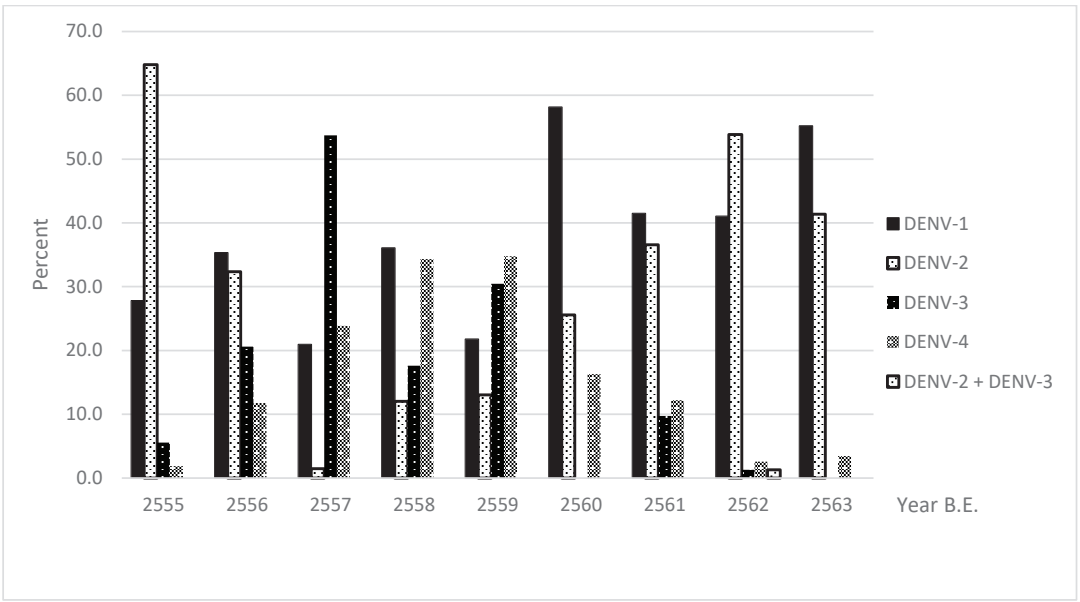

Fig. 1 Distribution of serotypes dengue infection in Ratchaburi province during 2555-2563.

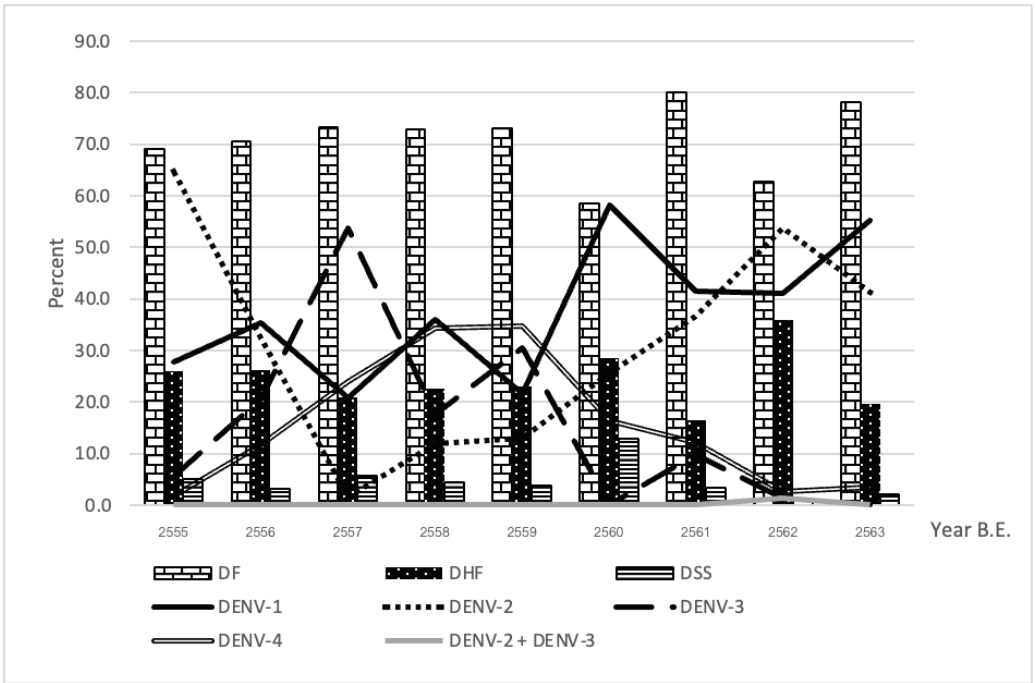

Fig. 2 Percentage of dengue manifestations; dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever (DHF), and dengue shock syndrome (DSS) vs dengue serotypes.

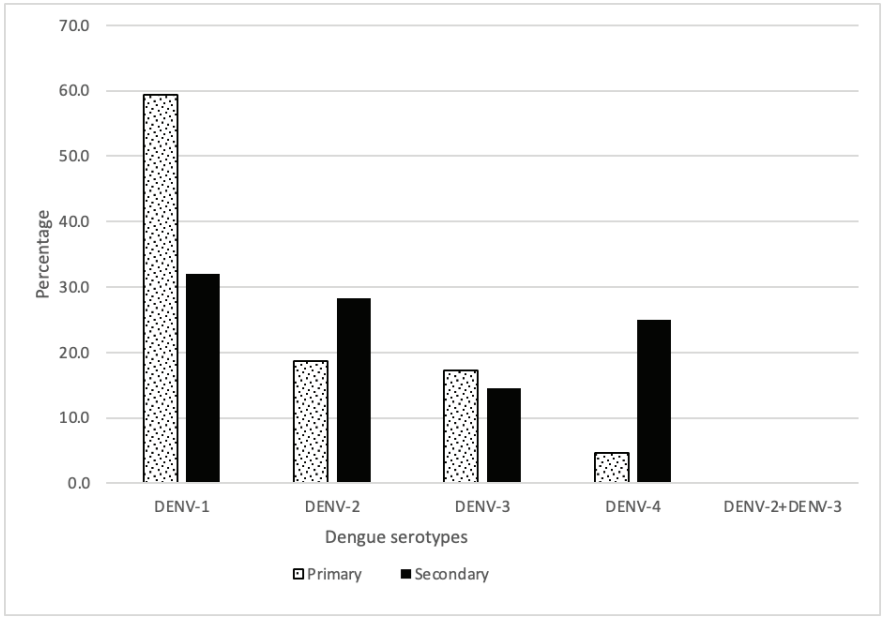

Fig. 3 Percentage of primary and secondary dengue infection in dengue patients vs serotypes.

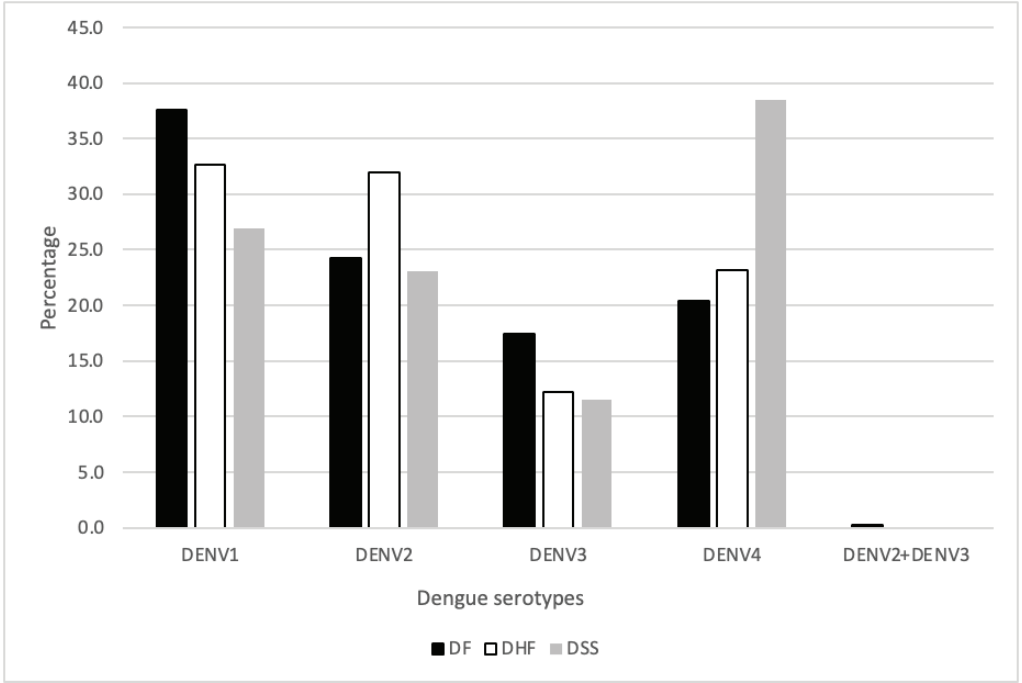

Fig. 4 Percentage of dengue manifestations; dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever (DHF), and dengue shock syndrome (DSS) vs dengue serotypes.

วิจารณ์ผลการวิจัย

หลังจากมีการติดเชื้อเดงกีภายใน 5 วันแรก จะตรวจพบเชื้อในกระแสเลือด ต่อมาจะพบ IgM หลังจากนั้นพบแอนติบอดีเฉพาะ IgG เพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดที่ 14-21 วัน ในกรณีมีการติดเชื้อซ้ำก็อาจพบ IgM ในระดับต่ำ แต่ IgG จะเพิ่มปริมาณขึ้นเร็วและสูงกว่าครั้งแรก ทำให้สามารถแยกการติดเชื้อครั้งแรกและการติดเชื้อซ้ำได้จากอัตราส่วน IgG ต่อ IgM สูง จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ การตรวจทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยเดงกีที่ได้รับการวินิจฉัยทางคลินิก พบการติดเชื้อเดงกีด้วยแอนติบอดีต่อเชื้อชนิด IgM และ/หรือ IgG ได้ร้อยละ 48.6-95.9 แต่พบเชื้อเดงกีด้วยวิธี RT-PCR เพียงร้อยละ 37.6-74.7 เนื่องจากผู้ป่วยอาจมาโรงพยาบาลหลังติดเชื้อเดงกีมานานกว่า 7 วัน ทำให้เชื้อไวรัสในกระแสเลือดของผู้ป่วยลดลงจนถึงไม่สามารถตรวจพบเชื้อเดงกีได้ในที่สุด แม้จะตรวจพบ NS1 แอนติเจนก็ตาม โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อครั้งแรก[14] ดังนั้น การตรวจด้วย RT-PCR มักใช้ในการตรวจการติดเชื้อเดงกีในระยะแรก หรือใช้สำหรับการตรวจแยกซีโรทัยป์เท่านั้น จากการวิเคราะห์สถานภาพการติดเชื้อ เป็นการติดเชื้อครั้งแรกด้วยแอนติบอดีโดยรวมร้อยละ 0-19 ใกล้เคียงกับการศึกษาค้นหาผู้ติดเชื้อทางน้ำเหลืองวิทยาในเขตอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี ในช่วงปี พ.ศ. 2555-2558 พบผู้ป่วยที่ติดเชื้อครั้งแรกร้อยละ 4.8-14.7[15] นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังพบว่าส่วนใหญ่เคยติดเชื้อไวรัสเดงกีมาก่อนหรือเป็นการติดเชื้อซ้ำ (ร้อยละ 80-100) เช่นเดียวกับข้อมูลพื้นที่ในกรุงเทพฯ (ร้อยละ 68.7) และกำแพงเพชร (ร้อยละ 69.1)[16] แสดงให้เห็นว่าเชื้อเดงกีที่ระบาดอยู่ในแต่ละพื้นที่มีซีโรทัยป์ต่างชนิดหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลา จึงมีจำนวนผู้ติดเชื้อเดงกีซ้ำในแต่ละพื้นที่มากกว่าผู้ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีครั้งแรก ส่วนผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกช็อกนั้นพบน้อยกว่าร้อยละ 1 ทั้งสองเพศ เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาในกรุงเทพฯ ที่พบผู้ป่วยเป็นโรคไข้เดงกีส่วนใหญ่ทั้งเพศชายและเพศหญิงเท่ากับร้อยละ 87.2 และ 84 ตามลำดับ ตามด้วยผู้ป่วยที่เป็นโรคไข้เลือดออกเดงกีร้อยละ 7.5 และ 10.4 ในเพศชายและเพศหญิงตามลำดับ ส่วนผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกช็อกเพศชายและเพศหญิงมีจำนวนร้อยละ 5.2 และ 5.5 ตามลำดับ[16] ซึ่งการเกิดความรุนแรงของอาการทางคลินิกในผู้ป่วยแต่ละคนนั้นประกอบด้วยปัจจัยจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเอง และสายพันธุ์ของไวรัสที่ติดเชื้อในผู้ป่วย เช่น การติดเชื้อซ้ำด้วยไวรัสเดงกี-2 และเดงกี-3 มีอัตราเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคไข้เลือดออกชนิดรุนแรงมากกว่าการติดเชื้อซ้ำด้วยซีโรทัยป์อื่น[9]

จากผลการศึกษาที่พบจำนวนของผู้ป่วยโรคไข้เดงกีมากกว่าผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกี และจำนวนผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีมากกว่าจำนวนผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกช็อกนั้น (DF>DHF>DSS) เหมือนกันทั้งในจังหวัดราชบุรี กำแพงเพชร และกรุงเทพฯ เนื่องจากพบสายพันธุ์ของไวรัสเดงกีที่คล้ายกันในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อไวรัส ส่งผลให้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเกิดความรุนแรงเมื่อเกิดการติดเชื้อไวรัสเดงกีซ้ำ ซึ่งข้อมูลการวิจัยพบว่าในปีที่มีปริมาณผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีและโรคไข้เลือดออกช็อกสูง (ปี พ.ศ. 2560) จะเป็นปีที่พบไวรัสเดงกี-2 และเดงกี-3 มากกว่าในช่วงปีอื่น ๆ

จากผลการศึกษาสายพันธุ์ของไวรัสเดงกีและวิเคราะห์ตามสถานการณ์การติดเชื้อ พบเป็นเชื้อไวรัสเดงกี-1 จำนวนสูงที่สุด ตามด้วยเดงกี-2 ซึ่งเป็นไปตามข้อมูลรายงานทางระบาดวิทยาในแต่ละปีที่พบเชื้อไวรัสเดงกี-1 หรือเดงกี-2 มักจะเป็นซีโรทัยป์เด่น[17] ในผู้ป่วยไข้เดงกีและไข้เลือดออกพบเชื้อเดงกี-1 ปริมาณสูงที่สุด ส่วนในผู้ป่วยไข้เลือดออกช็อก พบเดงกี-4 สูงที่สุด สอดคล้องกับ

การศึกษาในกรุงเทพฯ ของ Kerdpanich และคณะ ที่พบเดงกี-1 เป็นซีโรทัยป์เด่นในผู้ป่วยไข้เดงกี และผู้ป่วยไข้เลือดออก แต่ในจังหวัดกำแพงเพชรกลับพบเชื้อไวรัสเดงกี-3 และเดงกี-2 เป็นซีโรทัยป์เด่นในผู้ป่วยไข้เดงกี และผู้ป่วยไข้เลือดออกตามลำดับ อาจมีสาเหตุจากกรุงเทพฯ และจังหวัดราชบุรีมีระยะทางใกล้กว่ากำแพงเพชร ทำให้พบซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีเหมือนกันมากกว่า[16]

การตรวจพบทั้ง 4 ซีโรทัยป์ ในจังหวัดราชบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2563 ในการศึกษานี้โดยมีสัดส่วนที่แตกต่างกันในแต่ละปี จำนวนผู้ป่วยเดงกีสูงสุด (จำนวน 484 ราย) ในปี พ.ศ. 2558 และเริ่มลดน้อยลงต่ำสุดในปี พ.ศ. 2559 (จำนวน 72 ราย) สาเหตุที่พบผู้ติดเชื้อเดงกีน้อยลง อาจเนื่องจากข้อมูลรายงานการพยากรณ์โรคไข้เลือดออกปี พ.ศ. 2560 กรมควบคุมโรค ได้วิเคราะห์ถึงสาเหตุที่ปริมาณผู้ป่วยติดเชื้อเดงกีลดลงในปี พ.ศ. 2559 ไว้ว่าอาจเกิดจากผลการประกาศเตรียมพร้อมรับการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสซิกา ในการรณรงค์ด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมเพื่อลดแหล่งเพาะพันธุ์ยุงลาย ซึ่งเป็นยุงนำโรคชนิดเดียวกับเชื้อไวรัสเดงกี[18] และข้อมูลที่น่าสนใจในปี พ.ศ. 2560 ไม่พบไวรัสเดงกี-3 ซึ่งสอดคล้องกับภาพรวมของประเทศที่ไวรัสเดงกี-3 ลดลงโดยพบเพียงร้อยละ 2.17 ในปี พ.ศ. 2560[19] ไวรัสเดงกี-1 มีความชุกสูงเกือบทุกปีตลอดการศึกษา เชื้อไวรัสเดงกี-2 พบในช่วงแรกแต่เริ่มลดลงชัดเจนในปี พ.ศ. 2557 สอดคล้องกับรายงานพยากรณ์โรคไข้เลือดออก กรมควบคุมโรค สถานการณ์การระบาดของไวรัสเดงกีในประเทศไทยที่มีเชื้อไวรัสเดงกี-1 เป็นซีโรทัยป์เด่นในปี พ.ศ. 2558 และ พ.ศ. 2560-2563 และเดงกี-2 ลดลงตั้งแต่ในปี พ.ศ. 2557-2558[17,20] เชื้อไวรัสเดงกี-2 เคยเป็นซีโรทัยป์เด่นในปี พ.ศ. 2556 และเดงกี-2 และเดงกี-4 เป็นซีโรทัยป์เด่นในปี พ.ศ. 2557[15] โดยรวมในแต่ละปีที่ศึกษาซีโรทัยป์ที่สูงเป็นเชื้อไวรัสเดงกี-2 (พ.ศ. 2555), เดงกี-1 ร่วมกับเดงกี-2 (พ.ศ. 2556) และเดงกี-3 (พ.ศ. 2557) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในอำเภอบางแพซึ่งเป็นอำเภอหนึ่งในจังหวัดราชบุรีเช่นเดียวกัน ที่พบสูงเด่นเป็นเชื้อไวรัสเดงกี-3 เด่น (พ.ศ. 2555) เชื้อเดงกี-2 (พ.ศ. 2556) เชื้อเดงกี-2 ร่วมกับเชื้อเดงกี-4 (พ.ศ. 2557)[15] ซึ่งคงต้องวิเคราะห์ร่วมกับลักษณะทางภูมิศาสตร์และประชากรศาสตร์ของเขตอำเภอบางแพและอำเภอข้างเคียงในจังหวัดราชบุรีต่อไป ในขณะที่ผลการศึกษานี้พบซีโรทัปย์เด่นของเชื้อไวรัสเดงกี-1 ร่วมกับเดงกี-4 (พ.ศ. 2558) และเดงกี-4 (พ.ศ. 2559) ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาในกรุงเทพฯ พบเดงกี-4 เด่น ระหว่างปี พ.ศ. 2558-2559[21] ช่วงปี พ.ศ. 2559-2560 จังหวัดนนทบุรีพบเป็นเดงกี-2[22] แต่จากการศึกษานี้พบเป็นเดงกี-4 (พ.ศ. 2559) และเดงกี-1 (พ.ศ. 2560) นอกจากนี้ระหว่างปี พ.ศ. 2561-2563 ในกรุงเทพฯ พบเดงกี-1 เด่นตามด้วยเดงกี-2 เดงกี-4 และเดงกี-3 ตลอดทั้ง 3 ปี[23] ซึ่งการศึกษาในจังหวัดราชบุรี ปี พ.ศ. 2561 ได้ผลแบบเดียวกัน แตกต่างเพียงเล็กน้อยในปี พ.ศ. 2562 พบเป็นเดงกี-2 ตามด้วยเดงกี-1 ส่วนการติดเชื้อร่วมกันระหว่างเดงกี-2 และเดงกี-3 (2562) ที่พบในการศึกษานี้เคยมีรายงานในจังหวัดราชบุรี (2543) ที่มีรายงานการติดเชื้อร่วมกันระหว่างไวรัสเดงกี-1 และเดงกี-3[24]

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ทำให้ได้ทราบข้อมูลสำคัญที่บ่งบอกซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีในจังหวัดราชบุรี ซึ่งเป็นจังหวัดที่พบความชุกของการระบาดสูงของเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศไทย โดยพบเชื้อไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์ สับเปลี่ยนกันไปในแต่ละปี ระหว่างช่วงปี

พ.ศ. 2555-2560 จึงทำให้พบการติดเชื้อซ้ำจากต่างซีโรทัยป์ได้ง่าย ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี รวมถึงเป็นแนวทางในการวิจัยพัฒนาวัคซีนในอนาคต ดังนั้นเพื่อให้มีข้อมูลของการติดเชื้อไวรัสเดงกีที่ครอบคลุมในภาพรวมของประเทศ ควรมีการศึกษาอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสเดงกีและการเปลี่ยนแปลงซีโรทัยป์อย่างต่อเนื่องในทุก ๆ พื้นที่ของประเทศไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Thongcharoen P. Hemorrhagic fever. Bangkok: Aksorn Samai; 1977: p.188-226. (in Thai)
2. Henchal EA, Putnak JR. The dengue viruses. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 376-96.
3. Innis BL. Dengue and dengue hemorrhagic fever. In: Porterfield JS editor. Kass Handbook of Infectious Diseases: Exotic Virus Infections. London: Chapman & Hall Medical; 1995: p.103-46.
4. Calisher CH, Karabatsos N, Dalrymple JM, *et al*. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization test with polyclonal antisera. J Gen Virol 1989; 70: 37-43.
5. Nimmannitya S. Dengue hemorrhagic fever: current issues and future research. Asian Oceanian J Paediatr Child Health 2002; 1: 1-21.
6. World Health Organization. Dengue Hemorrhagic Fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 1997.
7. World Health Organization. Prevention and control of dengue and dengue hemorrhagic fever. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia; 1999.
8. Nguyen TKT, Do QH, Tran KT, Loung CQ. Predictive indicators for forecasting epidemic of dengue/dengue hemorrhagic fever through epidemiological, virological and entomological surveillance. Dengue Bull 1999; 23: 44-50.
9. Nimmannitya S, Kalayanaroojj S, Witthayasup A, editors. Guidelines for diagnosis and treatment of dengue hemorrhagic fever. 1st ed. Bangkok: Ministry of Public Health; 2542.
10. Yenchitsomanus PT, Sricharoen P, Jaruthasana I, *et al*. Rapid detection and identification of dengue viruses by polymerase chain reaction (PCR). Southeast Asian J Trop Med Public Health 1996; 27: 228-36.
11. Product Insert abTES™DENV/CHIKU 5 qPCR II kit (V2.1), AITbiotech Pte Ltd, 2017.
12. Innis BL, Nisalak A, Nimmanitya S, *et al*. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. Am J Trop Med Hyg 1989; 40: 418 -27.

13. Arbovirus section, Standard Operating Procedure 13-02-497 "Anti-dengue antibody detection by ELISA using tissue cultured antigen. Nonthaburi: National Institute of Health, Department of Medical Sciences; 1-11.
14. Parkash O, Shueb RH. Diagnosis of dengue infection using conventional and biosensor based techniques. Viruses 2015; 7: 5410-27.
15. Limkittikul K, Chanthavanich P, Lee KS., *et al*. Dengue virus seroprevalence study in Bangphae district, Ratchaburi, Thailand: A cohort study in 2012-2015. PLoS Negl Trop Dis 2022; 16: e0010021. doi:10.1371/journal.pntd.0010021
16. Kerdpanich P, Kongkiatngam S, Buddhari D., *et al*. Comparative analyses of historical trends in confirmed dengue illnesses detected at public hospitals in Bangkok and northern Thailand, 2002-2018. Am J Med Hyg 2021; 104: 1058-66.
17. Department of Disease Control, Ministry of Public Health. Report of Dengue Hemorrhagic Fever Prophecy, 2021. (in Thai)
18. Department of Disease Control, Ministry of Public Health. Report of Dengue Hemorrhagic Fever Prophecy, 2017. (in Thai)
19. Department of Disease Control, Ministry of Public Health. Report of Dengue Hemorrhagic Fever Prophecy, 2019. (in Thai)
20. Department of Disease Control, Ministry of Public Health. Report of Dengue Hemorrhagic Fever Prophecy, 2015. (in Thai)
21. Liulak W, Saichaer P, Waidab W, *et al*. Prospective study of dengue in Bangkok during 2015-2016. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2017; 48: 33-8
22. Uttayamakul S, Nitiyanontakij R, Dedsatit S, Reawrang S, Suttha P, Moolasart V. Molecular laboratory testing for dengue serotypes at Bamrasnaradura Infectious Disease Institute. Bull Dept Med Sci 2019; 61: 31-9.
23. Poltep K, Phadungsombat J, Nakayama EE., *et al*. Genetic diversity of dengue virus in clinical specimens from Bangkok, Thailand, during 2018-2020: co-circulation of all four serotypes with multiple genotypes and/or clades. Trop Med Infect Dis 2021; 6: 162-72.
24. Chanama S, Anantapreecha S, Thongthai P, A-nuegoonpipat A, Panthuyosri N. Surveillance of dengue virus in four provinces of Thailand, 1999-2000. J Health Sci 2011; 10: 688-94.