บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม, เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้พื้นฐานและระบาดวิทยาเกี่ยวกับเชื้อไวรัสเดงกี

เชื้อไวรัสเดงกี (Dengue virus) เป็นหนึ่งใน single-stranded RNA virus ที่อยู่ใน family Faviviridae มีทั้งหมด 4 ซีโรไทป์ (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4) พบการระบาดครั้งแรกในประเทศฟิลิปปินส์ในปี พ.ศ. 2497 หลังจากนั้นพบว่ามีการระบาดในประเทศต่าง ๆ ทุกทวีป โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน (รูปภาพที่ 2.1) ในประเทศไทยพบการระบาดครั้งแรกในปี พ.ศ. 2501[1] โดยมีแนวโน้มของจำนวนผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกีเพิ่มมากขึ้นทุก ๆ ปีตั้งแต่ที่มีการระบาดมาในทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ยกเว้นในปี พ.ศ. 2542-2543 ซึ่งมีจำนวนผู้ป่วยลดลงอย่างมาก เนื่องจากมีโครงการรณรงค์อย่างจริงจัง[2] (รูปภาพที่ 2.2, ตารางที่ 2.1) โดยซีโรไทป์ที่พบมากในประเทศไทยได้แก่ DEN-1, DEN-2 และ DEN-3

การติดเชื้อไวรัสเดงกีซีโรไทป์หนึ่ง ๆ จะทำให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสเดงกีซีโรไทป์นั้น ๆ อย่างถาวรไปตลอดชีวิต (homotypic immunity) แต่จะมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสเดงกีซีโรไทป์อื่น (heterotypic immunity) และป้องกันการติดเชื้อข้ามไปยังเชื้อซีโรไทป์อื่นได้ชั่วคราวในช่วงระยะเวลาประมาณ 3-12 เดือน

2.2 พยาธิกำเนิดและอาการ/อาการแสดงของโรคเชื้อไวรัสเดงกี

โรคติดเชื้อไวรัสเดงกีเป็นโรคติดต่อจากคนไปสู่คนโดยมีแมลงคือยุงลายเป็นพาหะ ยุงลายชนิดที่มีความสำคัญในทางระบาดวิทยาคือ *Aedes aegypti* ซึ่งเป็นยุงที่ออกหากิน ดูดเลือดคนในเวลากลางวัน โดยเชื้อไวรัสเดงกีจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น และในที่สุดจะไปอยู่ในต่อมน้ำลายของยุงตัวเมียที่ดูดเลือดของผู้ป่วยที่มีเชื้อไวรัสเดงกีอยู่ในกระแสโลหิต ยุงที่มีเชื้อไวรัสอยู่จะสามารถแพร่เชื้อได้ตลอดช่วงชีวิตของมัน

ระยะฟักตัวของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีอยู่ในช่วงระยะเวลา 3-15 วัน โดยเฉลี่ยประมาณ 7 วัน ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะไม่มีอาการ ส่วนในรายที่มีอาการนั้นสามารถมีอาการได้ 4 รูปแบบดังต่อไปนี้ (รูปภาพที่ 2.3)

1. **ไข้ทั่ว ๆ ไปหรือกลุ่มอาการติดเชื้อไวรัส** (undifferentiated fever or viral syndrome; UF) เป็นกลุ่มอาการที่มีลักษณะเหมือนกับการติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถแยกกันได้จากอาการและอาการแสดงทางคลินิก คือมีไข้สูงเฉียบพลัน โดยอาจจะมีผื่น maculopapular ร่วมด้วยหรือไม่ก็ได้ อาการในกลุ่มนี้มักพบในเด็กเล็ก

2. **ไข้เดงกี** (dengue fever; DF) ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูงเฉียบพลัน ปวดศีรษะมาก ปวดรอบกระบอกตา ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ปวดกระดูกอย่างรุนแรงที่เรียกว่า "break bone fever" การทดสอบทูนิเกต์ให้ผลบวก (positive tourniquet test) ส่วนใหญ่จะตรวจพบเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดต่ำ อาการในกลุ่มนี้มักพบในเด็กโต และผู้ใหญ่

3. **ไข้เลือดออกเดงกี** (dengue hemorrhagic fever; DHF) อาการและอาการแสดงเหมือนกับไข้เดงกี (dengue fever) ร่วมกับมีการรั่วของพลาสมา ทำให้ตรวจพบการเพิ่มขึ้นของ Hct อาจตรวจพบน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดโดยเฉพาะช่องเยื่อหุ้มปอดข้างขวาจากการตรวจร่างกายหรือจากภาพเอ็กซเรย์ปอด บางรายอาจตรวจพบน้ำในช่องท้องได้ ความรุนแรงของอาการในกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสเดงกีครั้งที่สอง (การติดเชื้อไวรัสเดงกีทุติยภูมิ - secondary dengue infection) ซึ่งเป็นการติดเชื้อไวรัสเดงกีที่ต่างซีโรไทป์กับการติดเชื้อครั้งแรก (การติดเชื้อไวรัสเดงกีปฐมภูมิ – primary dengue infection) และจะมีแนวโน้มที่จะมีความรุนแรงมากกว่าการติดเชื้อครั้งแรก ยกเว้นในเด็กเล็กที่มีอายุต่ำกว่า 1 ขวบซึ่งยังมีภูมิคุ้นกันต่อเชื้อไวรัสเดงกีที่ได้รับจากมารดาซึ่งเคยติดเชื้อไวรัสเดงกีมาก่อน และภูมิคุ้มกันดังกล่าวยังหลงเหลืออยู่โดยที่ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อแก่เด็กได้ แต่จะทำให้เกิดอาการของการติดเชื้อไวรัสเดงกีที่รุนแรงได้

การดำเนินโรคของไข้เลือดออกเดงกีแบ่งออกเป็น 3 ระยะดังนี้

ระยะที่ 1 ระยะไข้ (febrile stage) ไข้จะสูงเฉียบพลันและจะสูงลอยประมาณ 2-7 วัน ไม่ตอบสนองหรือตอบสนองต่อยาลดไข้เพียงเล็กน้อย ร่วมกับมีอาการปวดศีรษะ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและกระดูก หน้าแดง จุกเสียดแน่นท้องบริเวณลิ้นปี่ ตับโตกดเจ็บ คลื่นไส้อาเจียน ผลทดสอบทูนิเกต์ให้ผลบวก เลือดออกตามอวัยวะต่าง ๆ เช่น เลือดกำเดาออก ถ่ายอุจจาระเป็นสีดำ ผื่น petechiae ขึ้นที่ผิวหนัง เป็นต้น

ระยะที่ 2 ระยะวิกฤต/ช็อก (shock stage) เกิดพร้อม ๆ กับช่วงที่ไข้ลดลงอย่างรวดเร็ว เกิดในช่วงระยะเวลาประมาณ 24-48 ชั่วโมง ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักจะเข้าสู่ระยะนี้หลังจากปริมาณ

เกร็ดเลือดต่ำลงประมาณ 12-24 ชั่วโมง[3] ถ้ามีการรั่วของพลาสมามากจะทำให้ผู้ป่วยมีความดันโลหิตต่ำและช็อกได้

ระยะที่ 3 ระยะฟื้นตัว (convalescent stage) มีการหยุดการรั่วของพลาสมาร่วมกับอาการโดยทั่ว ๆ ไปของผู้ป่วยที่ดีขึ้น ผู้ป่วยจะมีความอยากอาหารมากขึ้น ปัสสาวะออกมากขึ้น หัวใจเต้นช้าลง อาจมีผื่นขึ้นบริเวณลำตัว แขนขา ซึ่งเป็นผื่นที่มีลักษณะเฉพาะสำหรับโรคนี้ เรียกว่า "convalescent rash" โดยจะเห็นมีลักษณะเป็นวงเล็ก ๆ สีขาวกระจายอยู่บนพื้นแดงซึ่งเป็น petechial rash ที่ขึ้นรวมกัน

ความรุนแรงของไข้เลือดออกเดงกี แบ่งออกเป็น 4 ระดับ (grade) ดังนี้ (รูปภาพที่ 2.4)

ระดับ 1 (grade I) ผู้ป่วยมีไข้ ร่วมกับการทดสอบทูนิเกต์ให้ผลบวก โดยที่ไม่พบมีเลือดออกจากอวัยวะต่าง ๆ และ/หรือ มีจ้ำเลือดขึ้นได้ง่ายจากการโดนกระทบกระแทก (easy bruising)

ระดับ 2 (grade II) ผู้ป่วยมีเลือดออกจากอวัยวะต่าง ๆ เอง (spontaneous bleeding)

ระดับ 3 (grade III) ผู้ป่วยมีความดันโลหิตต่ำ, ชีพจรเบาเร็ว, pulse pressure แคบ (น้อยกว่า 20 มม.ปรอท), ช็อก

ระดับ 4 (grade IV) ผู้ป่วยมีภาวะช็อกอย่างรุนแรง (profound shock), คลำชีพจรไม่ได้, วัดความดันโลหิตไม่ได้

4. **ไข้เดงกีช็อก** (dengue shock syndrome; DSS) คือกลุ่มอาการไข้เลือดออกเดงกี (dengue hemorrhagic fever) ที่มีการรั่วของพลาสมามากจนทำให้ผู้ป่วยมีภาวะช็อก คือ ไข้เลือดออกเดงกีที่มีระดับความรุนแรง 3 หรือ 4 นั่นเอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3 การเปลี่ยนแปลงทางห้องปฏิบัติการที่สำคัญ

2.3.1 **การตรวจนับเม็ดเลือด** (CBC) ระดับ Hct จะสูงขึ้นจากการที่ผู้ป่วยมีภาวะแห้งน้ำเนื่องจากรับประทานได้น้อย ไข้สูง ร่วมกับมีการรั่วของพลาสมา โดยมักจะเกิดในวันเดียวกันหรือภายหลังจากวันที่ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดลดลงต่ำที่สุด ซึ่งมักจะพบในระยะก่อนไข้ลงใกล้ที่จะเข้าสู่ระยะวิกฤต/ช็อก ส่วนในรายที่ระดับ Hct ต่ำลงควรที่จะพยายามค้นหาว่ามีเลือดออก

จากอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะอวัยวะภายในช่องท้องหรือไม่ หรือผู้ป่วยอาจมีภาวะเม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) จากโรคเลือดบางอย่างเช่น โรคธาลาสซีเมีย ฮีโมโกลบินเอช เป็นต้น ปริมาณเม็ดเลือดขาวในช่วงแรกอาจปกติหรือสูงกว่าปกติเล็กน้อย แต่ประมาณจะลดลงในช่วงเวลาต่อมา โดยอาจจะลดลงอยู่ในช่วง 1,000-2,000 ตัว/ลบ.มม. ได้ ร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte และจากการตรวจดูเสมียร์เลือด (peripheral blood smear) อาจพบว่าลักษณะของ lymphocyte จะเป็น atypical lymphocyte ชนิด plasmacytoid ได้สูงถึง 10-35% ส่วนปริมาณเกร็ดเลือดสามารถลดลงต่ำกว่า 20,000 /ลบ.มม. ได้[4]

2.3.2 **การตรวจการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง (ESR)** จะปกติในช่วงที่มีไข้ และจะลดต่ำลงในช่วงระยะวิกฤต/ช็อก ซึ่งอาจนำมาใช้ช่วยในการแยกโรคกับการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (bacterial sepsis) ได้

2.3.3 **การทดสอบทูนิเกต์ (tourniquet test)** ทำโดยการใช้เครื่องวัดความดันโลหิตรัดที่ต้นแขน ขึ้นความดันให้อยู่กึ่งกลางระหว่างความดัน systolic และความดัน diastolic ค้างไว้เป็นเวลาประมาณ 5 นาที แล้วอ่านผลหลังจากคลายความดันที่รัดไว้แล้วประมาณ 1 นาที โดยแปลผลว่า "บวก" ถ้ามีจุดเลือดออก (petechiae) มากกว่า 10-20 จุด/ตารางนิ้ว[3,5] โดยมีความไว (sensitivity) ของวันที่ 1, 3 และ 5 ของโรคอยู่ที่ 53.3%, 90.6% และ 98.7% ตามลำดับ ความจำเพาะ (specificity) ของวันที่ 1, 3 และ 5 ของโรคอยู่ที่ 75.8%, 77.8% และ 74.2% ตามลำดับ[3,6]

2.3.4 **การตรวจการแข็งตัวของเลือด (coagulogram)** จะตรวจพบว่าค่า PT และ PTT ยาวกว่าค่าควบคุมได้ โดยที่ค่า PTT จะมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่า เกิดจากการที่การทำงานของตับบกพร่อง ร่วมกับมีภาวะ DIC

2.3.5 **การตรวจการทำงานของตับ (liver function tests)** ผู้ป่วยส่วนใหญ่สามารถตรวจพบการเพิ่มขึ้นของระดับ transaminase enzymes โดยที่ระดับ AST จะเพิ่มสูงกว่าระดับ ALT ผู้ป่วยมักไม่ค่อยมีอาการตาตัวเหลือง นอกจากจะมีภาวะแทรกซ้อนคือมีภาวะตับวายอย่างรุนแรง (fulminant hepatic failure) หรือมีภาวะเม็ดเลือดแดงแตกในผู้ป่วยที่มีโรคเลือดบางชนิดอยู่แล้ว เช่น โรคธาลาสซีเมีย ฮีโมโกลบินเอช และโรคขาดเอนไซม์ G-6-PD เป็นต้น

2.3.6 **ภาพเอ็กซเรย์ปอด** (chest X-ray) จะพบน้ำในเยื่อหุ้มปอดได้ในระยะที่มีการรั่วของพลาสมา โดยเฉพาะช่องเยื่อหุ้มปอดข้างขวา

2.4 การวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกเดงกี/ไข้เลือดออกเดงกีช็อก

การวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกเดงกี/ไข้เลือดออกเดงกีช็อก (DHF/DSS) นั้นอาศัยอาการทางคลินิกและการเปลี่ยนแปลงทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นตามเกณฑ์การวินิจฉัยตามองค์การอนามัยโลก (WHO) โดยใช้เกณฑ์อาการทางคลินิก 2 ข้อแรก เป็นหลัก ร่วมกับเกณฑ์การตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 1 ข้อ เกณฑ์ดังกล่าวนี้ช่วยให้แพทย์สามารถวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกเดงกี/ไข้เลือดออกเดงกีช็อกได้ตั้งแต่ในระยะแรกของโรค ก่อนที่ผู้ป่วยจะเข้าสู่ภาวะช็อกเต็มขั้นได้ ดังนั้นจึงเป็นเพียงการวินิจฉัยเบื้องต้น (provisional diagnosis) เท่านั้น[5]

อาการทางคลินิก

1. ไข้สูงเฉียบพลัน (2-7 วัน)
2. อาการเลือดออก (นับรวมถึงผลบวกจากการทดสอบทูนิเกต์ด้วย)
3. ตับโต (มักกดเจ็บร่วมด้วย)
4. มีภาวะช็อก

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. ปริมาณเกร็ดเลือด $\leq$ 100,000/ลบ.มม.
2. มีการเพิ่มขึ้นของ Hct $\geq$ 20% เมื่อเทียบกับค่าปกติเดิม หรือค่าเฉลี่ยปกติสำหรับอายุและเพศของประชากรนั้น ๆ

2.5 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี

การตรวจทางน้ำเหลือง (Serologic diagnosis)

คือ การตรวจหา antibody ต่อเชื้อไวรัสเดงกี ซึ่งมีอยู่หลายวิธีที่ใช้ในปัจจุบัน แต่วิธีที่ได้รับความนิยมใช้กันในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไปคือวิธี ELISA และ HAI ซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดต่อไป ข้อเสียของการตรวจหา antibody คือสามารถมีปฏิกิริยาข้าม (cross reactivity) ได้ระหว่าง

flavivirus ด้วยกันเช่น Japanese encephalitis virus (JEV), St. Louis encephalitis virus, West Nile virus ซึ่งจะทำให้มีปัญหาในการแปลผลในพื้นที่ที่มีเชื้อเหล่านี้อยู่ด้วย สำหรับในประเทศไทยก็จะมีปัญหาในการแปลผลเพื่อแยกจากการติดเชื้อ JEV ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมี IgM ขึ้นภายหลังจากมีไข้ประมาณ 2-4 วัน IgM จะเพิ่มขึ้นและคงอยู่ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ประมาณ 3-6 เดือน สำหรับการติดเชื้อแบบทุติยภูมินั้นจะพบการเพิ่มขึ้นของ IgG ก่อน IgM ถึงแม้ว่าจะเป็นการติดเชื้อไวรัสเดงกี serotype ที่ต่างจากเดิมก็ตาม (รูปภาพที่ 2.5) การตรวจหา antibody ต่อเชื้อไวรัสเดงกีมีหลายวิธีดังต่อไปนี้

1. **Hemagglutination-inhibition test (HAI หรือ HI)** เนื่องจากเชื้อไวรัสเดงกีเป็นไวรัสที่มีสาร hemagglutinin ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงเกิดการเกาะกลุ่มกัน จึงใช้คุณสมบัตินี้ในการหา antibody ต่อเชื้อไวรัสโดยดูการยับยั้งการเกิดการเกาะกลุ่มกันของเม็ดเลือดแดง หลังจากผสมซีรั่มของผู้ป่วยที่เจือจางเป็นความเข้มข้นต่าง ๆ กับสาร hemagglutinin การแปลผลนั้นอ่านออกมาเป็นค่า titer ของซีรั่มที่สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ แต่ต้องแปลผลโดยใช้ซีรั่มสองครั้งที่เจาะห่างกันอย่างน้อย 7 วัน (ตารางที่ 2.2) วิธีนี้ในปัจจุบันยังถือว่าเป็นมาตรฐาน (gold standard) ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี เป็นวิธีที่สามารถแยกการติดเชื้อไวรัสเดงกีปฐมภูมิและทุติยภูมิได้ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่า antibody ที่ขึ้นนั้นเป็นชนิด IgG หรือ IgM วิธีนี้สามารถแยก serotype ของเชื้อไวรัสเดงกีได้สำหรับการติดเชื้อแบบปฐมภูมิ ส่วนการติดเชื้อไวรัสเดงกีทุติยภูมินั้นไม่สามารถบอก serotype ได้เนื่องจากเมื่อมีการติดเชื้อไวรัสเดงกีซ้ำด้วย serotype อื่น จะมีการกระตุ้นให้มีการสร้าง antibody ต่อเชื้อไวรัสเดงกี serotype เดิมให้สูงขึ้น เพราะเชื้อไวรัสเดงกีทั้ง 4 serotypes มี antigen บางส่วนที่เหมือนกัน เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า “doctrine of original antigenic sin”

2. **Plaque reduction neutralization test (PRNT)** เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะมากที่สุดเมื่อเทียบกับการตรวจทางน้ำเหลืองชนิดอื่น ๆ สามารถแยก serotype ในการติดเชื้อไวรัสเดงกีปฐมภูมิได้[8] แต่เป็นวิธีที่มีขั้นตอนยุ่งยากในการทำและเป็นวิธีที่ใช้เวลาในการทำนาน จึงไม่เป็นที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน ใช้หลักการลดการเกิดการเกาะกลุ่มกัน (plaque formation) ของเซลล์เพาะเลี้ยงที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี หลังจากนำเชื้อไวรัสเดงกีไปผสมกับซีรั่มของผู้ป่วย การแปลผลนั้นอ่านเป็นค่า titer ของซีรั่มที่สามารถลดจำนวน plaque ได้ 50-90%[9,10]

3. **Complement fixation test** (CF) เป็นการทดสอบที่อาศัยหลักการที่ว่า complement จะถูกนำใช้ถ้ามีการจับกันระหว่าง antigen กับ antibody ทำให้ไม่มีปริมาณ complement เหลือมากเพียงพอที่จะทำให้เกิดการแตก (hemolysis) ของเม็ดเลือดแดงที่จับกับ antibody กับเม็ดเลือดแดง วิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง เป็นวิธีที่สามารถแยก serotype ของเชื้อไวรัสเดงกีสำหรับการติดเชื้อแบบปฐมภูมิได้ แต่วิธีการทำยุ่งยาก และ antibody ขึ้นช้ากว่า antibody ที่ทดสอบได้โดยวิธี HAI[11]

4. **Enazyme-linked immunosorbent assays (ELISAs)** เป็นการทดสอบที่มีความสะดวกรวดเร็ว และง่ายกว่าสามวิธีการทดสอบทางน้ำเหลืองข้างต้น มีความไวและความจำเพาะสูง เป็นวิธีที่สามารถแยกชนิดของ antibody ระหว่าง IgG และ IgM ได้ สามารถแยกการติดเชื้อไวรัสเดงกีปฐมภูมิและทุติยภูมิได้ รวมทั้งยังสามารถแยกการติดเชื้อ JEV ได้ ปัจจุบันมีหลายวิธีย่อย ๆ แต่วิธีที่ได้รับความนิยมมากคือ Immunoglobulin M capture enzyme linked immunosorbent assay (MAC-ELISA) และ rapid ELISA วิธี MAC-ELISA ถือเป็นอีกวิธีหนึ่งที่เป็นมาตรฐาน (gold standard) ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี การแปลผลอาจใช้ผลจากซีรั่มเดี่ยวได้ หรือถ้าเป็นซีรั่มคู่นั้นสามารถเจาะเลือดห่างกันเพียง 2-3 วัน

การแปลผลว่ามีติดเชื้อไวรัสเดงกีนั้น ค่า antibody ต่อเชื้อไวรัสเดงกีจะต้องมากกว่า antibody ต่อ JEV ถ้าเป็นการติดเชื้อไวรัสเดงกีปฐมภูมิ ค่า IgM:IgG จะมากกว่า 1.8:1 และค่า IgM ต้องมีค่าอย่างน้อย 40 units หรือมีการเพิ่มขึ้นของ IgM จากค่าที่น้อยกกว่า 15 units เป็นมากกว่า 30 units ส่วนการติดเชื้อไวรัสเดงกีทุติยภูมินั้นค่า IgM:IgG จะน้อยกว่า 1.8:1 หรือ ค่า IgM น้อยกว่า 40 units ร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของ IgG อย่างน้อย 2 เท่า โดยที่ค่า IgG ในซีรั่มที่สองจะต้องมีค่าอย่างน้อย 100 units[5,12-14]

มีหลายการศึกษาที่ใช้วิธี ELISA ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีโดยใช้สิ่งส่งตรวจอื่นที่ไม่ใช้เลือด ได้แก่ น้ำลาย[15-18] ปัสสาวะ[17] ซึ่งได้ทั้งความไวและความจำเพาะสูง ส่วนการตรวจ IgM ในน้ำไขสันหลัง[20] มีระดับต่ำกว่าระดับ IgM ในเลือดมาก ยังไม่สามารถนำมาเป็นวิธีที่ใช้ในการวินิจฉัยภาวะแทรกซ้อนทางระบบประสาทจากการติดเชื้อไวรัสเดงกีได้

การแยกเชื้อไวรัสเดงกี (Viral isolation)

วิธีการแยกเชื้อไวรัสเป็นวิธีซึ่งเป็นมาตรฐาน (gold standard) ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโดยทั่ว ๆ ไปรวมทั้งเชื้อไวรัสเดงกีด้วย แต่วิธีในการทำยุ่งยาก รวมทั้งใช้เวลานานเป็นสัปดาห์ จึงไม่เป็นที่นิยม วิธีนี้จะตรวจได้ในช่วงที่มีไวรัสในกระแสเลือด (viremia) คือในช่วง 6 วันแรกหลังจากมี

อาการ[21] เนื่องจากปริมาณเชื้อไวรัสในกระแสเลือดจะสูงในช่วงแรกและจะลดลงเรื่อย ๆ สวนทางกันกับ antibody ซึ่งจะขึ้นสูงขึ้น การแยกเชื้อสามารถทำได้ในเซลล์หลายชนิดแต่ที่ได้รับความนิยม คือ เซลล์เพาะเลี้ยงที่มาจากยุง (mosquito-derived cell cultures) เช่น C6/36 (*Aedes albopictus*), AP61 (*Aedes pseudoscutellaris*), TRA-284 (*Toxorhynchites amboinensis*) เป็นต้น[22] การอ่านผลใช้การดูวิธีการทำปฏิกิริยาของเซลล์เพาะเลี้ยงที่มี cytopathic effect (CPE) กับ monoclonal antibody ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสเดงกีแต่ละ serotype โดยใช้วิธีการย้อม Immunofluorescence (IF)

การตรวจด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (Molecular detection)

วิธีการตรวจทางชีวโมเลกุลสามารถตรวจได้ไวกว่าวิธีการแยกเชื้อไวรัส เนื่องจากมีกระบวนการเพิ่มปริมาณของสารพันธุกรรมของไวรัส ทำให้สามารถตรวจหาเชื้อไวรัสที่มีปริมาณน้อย ๆ ได้ การตรวจทางชีวโมเลกุลนี้มีข้อดีกว่าการตรวจหา antibody จากซีรั่มหลายประการ สามารถแยก serotype ของเชื้อไวรัสได้ เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง ไม่มีผลบวกข้ามกับ Flaviviruses ชนิดอื่น ๆ สามารถวินิจฉัยโรคโดยไม่จำเป็นต้องเก็บสิ่งส่งตรวจสองครั้ง ส่วนความไวนั้นขึ้นอยู่กับระยะเวลาของโรคในขณะที่เก็บสิ่งส่งตรวจ และขึ้นกับชนิดของสิ่งส่งตรวจด้วย โดยความไวในการตรวจจะสูงมากในช่วงที่มีไข้ทำให้สามารถวินิจฉัยโรคได้ตั้งแต่ในระยะแรกของโรค ซึ่งในขณะนั้นการตรวจทางน้ำเหลืองอาจให้ผลลบได้ การตรวจวิธีนี้ถ้าเก็บสิ่งส่งตรวจในช่วงระยะก่อนไข้ลงเพียงเล็กน้อยหรือหลังไข้ลงไปแล้วอาจตรวจได้ผลลบจากซีรั่ม แต่ยังอาจจะสามารถตรวจพบได้ใน buffy coat หรือ peripheral blood mononuclear cell (PBMC) เนื่องจากเชื้อไวรัสเดงกีมีการเพิ่มจำนวนในเม็ดเลือดขาว การตรวจทางชีวโมเลกุลสำหรับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีมีหลายวิธีดังต่อไปนี้

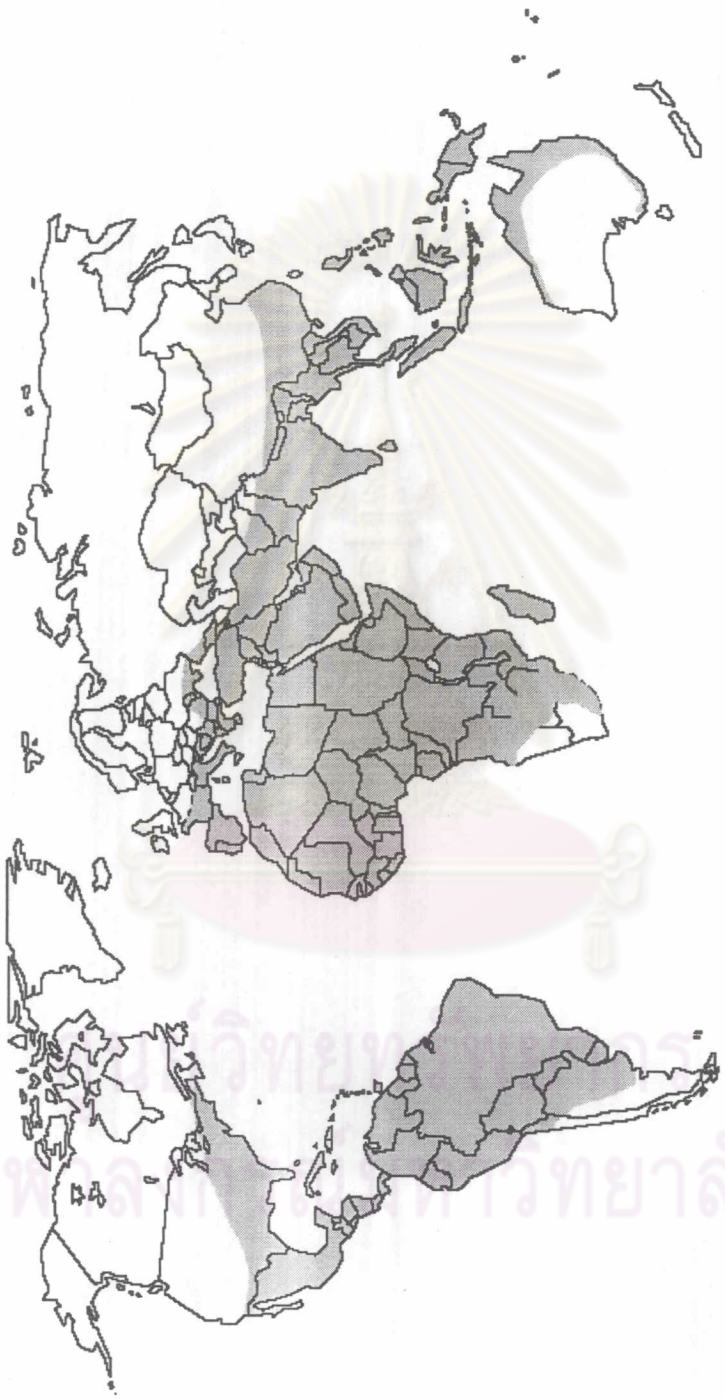
1. **Reverse transcription – polymerase chain reaction (RT-PCR)** เป็นการตรวจหา DNA ที่ถูกทำให้เพิ่มจำนวนมากขึ้น (amplification) เป็น DNA ที่เปลี่ยนมาจาก RNA ของเชื้อไวรัสเดงกี โดยใช้เอนไซม์ reverse transcriptase (RT) ปัจจุบันมีชนิดย่อย ๆ อีกหลายวิธี เช่น nested RT-PCR, real-time RT-PCR, multiplex RT-PCR เป็นการทดสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูง สำหรับเลือดเมื่อเทียบกับการแยกเชื้อไวรัสโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด mosquito C6/36 โดยมีความไวอยู่ในช่วง 84-100% และความจำเพาะอยู่ในช่วง 86-100%[23-27] จะเห็นว่าแต่ละการศึกษาความไวและความจำเพาะต่างกัน เนื่องจากมีการใช้ primer ต่างกัน สารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยาต่าง ๆ รวมทั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ ต่าง ๆ แตกต่างกัน ทำให้ในปัจจุบันยังไม่มีการทดสอบ RT-PCR ที่

เป็นมาตรฐานสำหรับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี สิ่งส่งตรวจอื่นที่ไม่ใช่ซีรั่มเช่น เลือด, buffy coat และปัสสาวะ[28-31] ก็สามารถนำมาเป็นสิ่งส่งตรวจเพื่อใช้ในการทดสอบด้วยวิธี RT-PCR ได้ มีการศึกษาที่เทียบสิ่งส่งตรวจระหว่างเลือดซีรั่มและ buffy coat พบว่าซีรั่มเป็นสิ่งส่งตรวจที่ดีที่สุด [32]

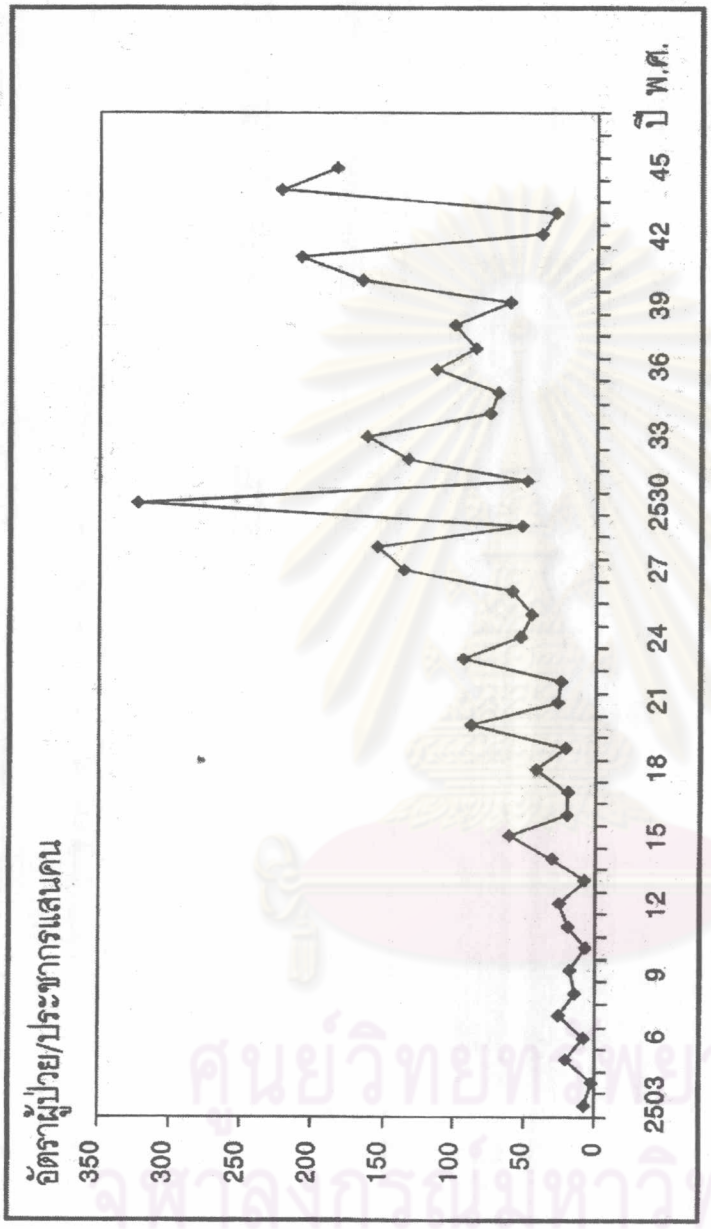
2. **Nucleic acid sequence-based amplification (NASBA)** เป็นวิธีที่ตรวจหา RNA ที่ถูกทำให้เพิ่มปริมาณขึ้น โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิคงที่ ไม่มีการเปลี่ยนอุณหภูมิขึ้นลงเหมือนกับวิธี RT-PCR และมีการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการน้อยเนื่องจากเป็นการตรวจหา RNA ซึ่งเป็นข้อดีของวิธีนี้ที่เหนือกว่าวิธี RT-PCR แต่ RNA มีความคงตัว (stability) น้อยกว่า DNA การอ่านผลใช้วิธี electrochemiluminescence (ECL) การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี NASBA โดยใช้เลือดเป็นสิ่งส่งตรวจมื่อเทียบกับการแยกเชื้อไวรัสโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด mosquito C6/36 โดยมีความไว 98.5% และความจำเพาะสูงถึง 100%[33] แต่การศึกษาเกี่ยวกับวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีด้วยวิธี NASBA ยังไม่ได้รับความนิยมและยังไม่เป็นที่แพร่หลายเมื่อเทียบกับการตรวจด้วยวิธี RT-PCR

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 2.1: ระบาดวิทยาของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีในประเทศต่าง ๆ [7]



รูปภาพที่ 2.2: **อัตราป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกปี พ.ศ.** 2503-2545 [1]
(แหล่งข้อมูลจาก สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

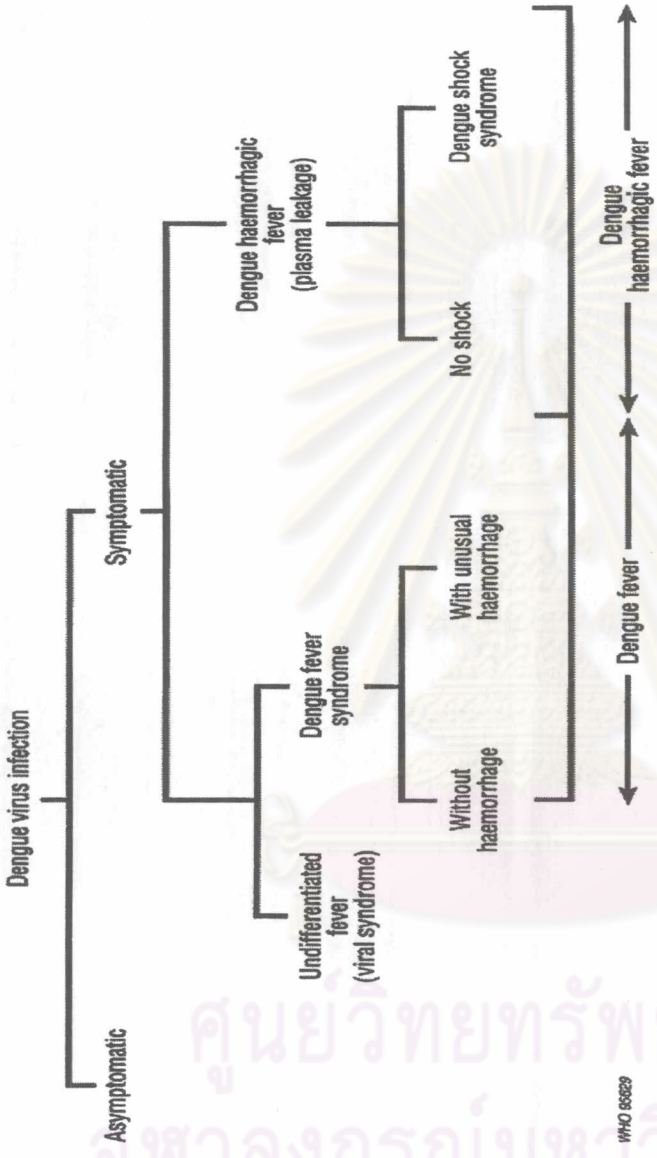
ตารางที่ 2.1: ร้อยละของผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีที่อายุมากกว่า 15 ปี ระหว่างปี พ.ศ. 2541-2545 [1]

(แหล่งข้อมูลจาก สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข)

ปี พ.ศ.	จำนวนผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มอายุ				รวมทุกกลุ่มอายุ
	0-4 ปี	5-9 ปี	10-14 ปี	>15 ปี	
2541	19,837	48,171	36,427	25,519 (20%)	12,954
2542	4,101	8,163	6,747	5,814 (23%)	24,826
2543	2,758	6,181	5,260	4,418 (23%)	18,617
2544	16,952	43,813	40,213	38,377 (27%)	139,355
2545	11,380	33,299	35,248	34,906 (30%)	114,833

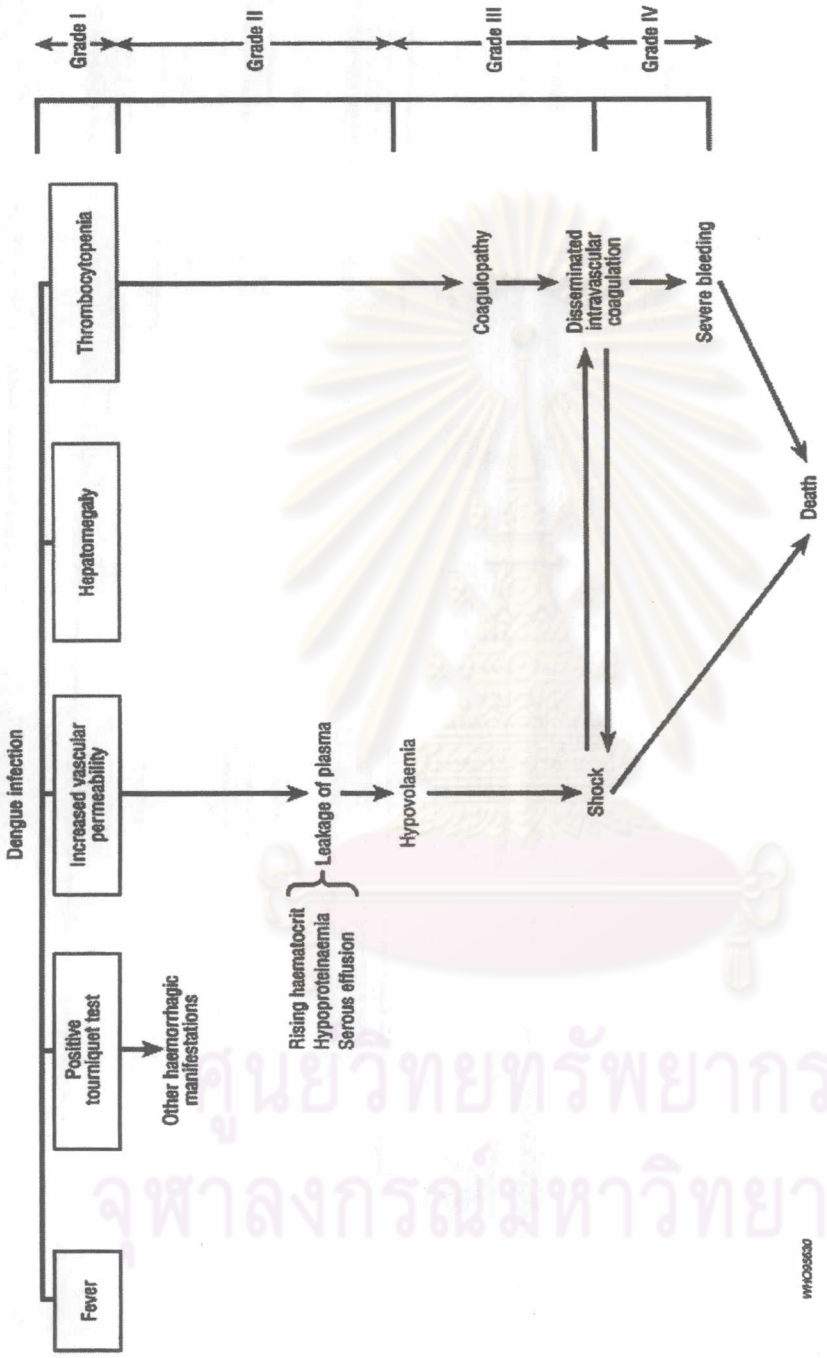
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 2.3: **รูปแบบของอาการ/อาการแสดงของโรคติดเชื้อไวรัสเดงกี** [5]



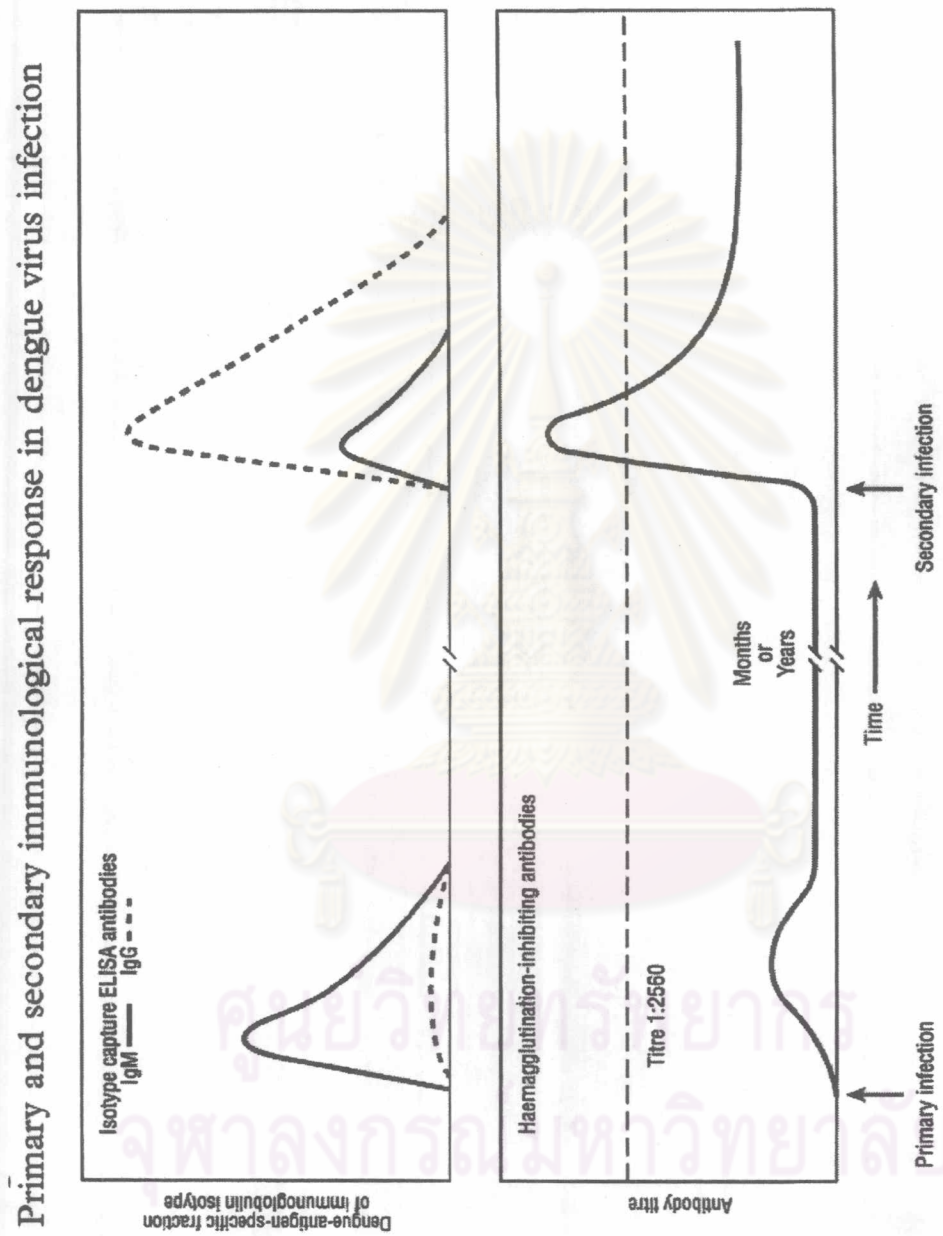
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 2.4: ระดับความรุนแรงของไข้เลือดออกเดงกี [5]



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 2.5: **การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเดงกี** [5]



ตารางที่ 2.2: **การแปลผล** Hemagglutination-inhibition test **ของเชื้อไวรัสเดงกี** [5]

Antibody response	S1–S2 interval[b]	Convalescent titre[c]	Interpretation
≥4-fold rise	≥7 days	≤1:1280	Acute flavivirus infection, primary
≥4-fold rise	Any specimen	≥1:2560	Acute flavivirus infection, secondary
≥4-fold rise	<7 days	≤1:1280	Acute flavivirus infection, either primary or secondary
No change	Any specimen	>1:2560	Recent flavivirus infection, secondary
No change	≥7 days	≤1:1280	Not dengue
No change	<7 days	≤1:1280	Uninterpretable
Unknown	Single specimen	≤1:1280	Uninterpretable

[a] These criteria were derived empirically from data collected at the U.S. Armed Forces Research Institute of Medical Sciences, Bangkok, Thailand. Laboratories should assess the sensitivity of their assay with standard sera from WHO Collaborating Centres for Arboviruses and/or Haemorrhagic Fever Reference and Research or WHO Collaborating Centres for New, Emerging and Re-emerging Diseases (see Annex 6). Laboratories should also establish baseline data for the population they serve during a period of little or no flavivirus transmission.

[b] Interval in days between acute (S1) and convalescent (S2) specimens.

[c] Against any dengue antigen.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย