

Available online at www.ptat.thaigov.net

Overview of Dengue Viruses and Their Relations

Natthanej Luplertlop

Department of Tropical Hygiene, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

Abstract

Dengue virus (DENV) is one of the most important mosquito-borne diseases. It belongs to the genus *Flavivirus* of the family *Flaviviridae* and is a small enveloped, positive single-stranded RNA virus. Dengue virus comprise four distinct serotypes, DEN-1 through DEN-4, which are transmitted from infected to healthy humans through bites of female *Aedes aegypti* and *A. albopictus*. Dengue infection is a major cause of morbidity and mortality in tropical and subtropical countries. Over 2.5 billion people are at risk of dengue infection, and about 100 million cases of dengue fever occur annually. Up to 500,000 of these develop dengue hemorrhagic fever (DHF) or dengue shock syndrome (DSS), the life-threatening forms of infection. At present, no proven vaccine is available for all 4 dengue serotypes, nor specific antiviral drugs to treat infection. Studies of the viral structure, clinical presentation and classification, basic to advanced diagnostic tools, and primary treatments, are necessary for effective disease prevention and control. This review summarizes current basic knowledge of dengue virus infection, based on clinical and laboratory studies. This overview of dengue virus infection should be useful for developing disease control programs and further research.

Keywords: dengue, pathogenesis, diagnosis, treatment, vaccine, review

ความสำคัญของไข้เลือดออกเดงกี (Dengue Hemorrhagic Fever) และไวรัสเดงกี (Dengue Virus)

โรคไข้เลือดออกเดงกี จัดเป็นโรคที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนเพิ่มมากขึ้นทุกปีโดยเฉพาะประชากรผู้อาศัยอยู่ในประเทศในแถบเขตร้อน-ร้อนชื้น (พื้นที่ส่วนใหญ่ที่พบรายงานผู้ติดเชื้อไวรัสเดงกีจะอยู่ระหว่างเส้นรุ้งที่ 25 องศาเหนือถึง 25 องศาใต้) [1]

การติดเชื้อไวรัสเดงกีนั้น สามารถก่อให้เกิดอาการหรือความผิดปกติ ซึ่งสามารถจำแนกตามความรุนแรงออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ [2] คือ

1. **Asymptomatic** กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสแต่ไม่มีอาการ พบได้ประมาณ 90% ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี

2. **Symptomatic** กลุ่มผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีอาการหรืออาการแสดงที่ทำให้สงสัยว่ามีการติดเชื้อของโรคไข้เลือดออกเดงกี ซึ่งจะพบได้ไม่เกิน 5% ของผู้ติดเชื้อไวรัสเดงกี โดยกลุ่มผู้ป่วยที่แสดงอาการหรือความรุนแรงของโรคนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

2.1 **Undifferentiated fever (UF)** ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีลักษณะอาการเหมือนการติดเชื้อไวรัสทั่วๆ ไป ลักษณะคล้ายโรคหวัดแต่อาการคัดแน่นจมูกนำมูกไหลจะพบได้ไม่มากนัก แต่จะมีลักษณะอาการของไข้สูง ซึ่งจะพบได้ประมาณ 2-3 วัน ปวดเมื่อยตามร่างกาย ผู้ป่วยกลุ่มนี้อาการต่างๆ มักจะหายไปได้เอง

2.2 **Dengue fever (DF)** กลุ่มผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีอาการไข้สูง โดยลักษณะของไข้สูงอาจมีการลดต่ำลงแล้วกลับมาสูงขึ้นอีกครั้ง ร่วมกับอาการปวดศีรษะ ปวดกระบอกตา ปวดกล้ามเนื้อต่างๆ ตามร่างกาย บาง

Correspondence:

Natthanej Luplertlop,

E-mail: tmnll@mahidol.ac.th

ครั้งมีอาการปวดลึกถึงกระดูกและข้อ (บางครั้งจึงมีการเรียกโรคไข้เลือดออกเดงกีว่า Break bone fever) นอกจากนั้นอาจพบผื่นในลักษณะของ maculopapular ซึ่งผื่นผิวหนังชนิดนี้มักจะพบในผู้ใหญ่มากกว่าในเด็ก บางครั้งอาจพบจุดเลือดออกตามผิวหนัง เมื่อทำการทดสอบด้วยทูร์นิเก้ (Tourniquet test) จะให้ผลบวก

2.3 Dengue hemorrhagic fever (DHF) ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีลักษณะอาการที่ชัดเจน คือ ไข้สูงลอยร่วมกับมีอาการเลือดออก ตับโต เมื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการจะพบว่าปริมาณเกร็ดเลือดลดลงต่ำลง ถ้าเป็นรุนแรงจะพบลักษณะอาการที่บ่งชี้ว่ามีการรั่วของพลาสมาออกนอกเส้นเลือด โดยส่วนมากจะไปอยู่ในช่องปอดและช่องท้อง ถ้าตรวจทางห้องปฏิบัติการจะพบว่ามีการตีบอัดเม็ดเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งถ้าการรั่วนั้นมีความรุนแรงมากบางครั้งจะส่งผลให้ผู้ผู้ป่วยเกิดภาวะช็อก เรียกกลุ่มผู้ป่วยนี้ว่า Dengue shock syndrome (DSS) ถ้าผู้ป่วยได้รับการรักษาไม่ทันจะเป็นอันตรายถึงตายได้ [2]

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า ประชากรอย่างน้อยประมาณ 1 ใน 100 คนของประชากรทั้งหมดมีประวัติของการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออก [2] มีรายงานการระบาดของเชื้อไวรัสเดงกีพบว่าประชากรหลายสิบล้านคนต่อปีทั่วโลกที่ป่วยด้วยโรค Dengue fever และยังมีประชากรมากกว่า 500,000 คนที่ป่วยรุนแรงถึงขั้นเสี่ยงต่อการเสียชีวิตด้วย Dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) [2]

สำหรับประวัติความเป็นมาของเชื้อไวรัสไข้เลือดออกพบว่ามีรายงานครั้งแรกในปี พ.ศ. 2322 พบการระบาดของ DF ในประเทศภูมิภาคเอเชีย แอฟริกา และอเมริกาเหนือ โดยยังไม่มีรายงานผู้เสียชีวิตจากโรคไข้เลือดออกเดงกี จนกระทั่งหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 พบการระบาดของ DHF เป็นครั้งแรกที่ประเทศฟิลิปปินส์ในปี พ.ศ. 2497 สำหรับการระบาดในประเทศไทยพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2501 จากนั้นจึงมีการระบาดไปยังประเทศต่างๆ ที่อยู่ใกล้เคียงของทวีปเอเชียและกระจายสู่ประเทศต่างๆ ทั่วโลก โดยพบอุบัติการณ์ของการระบาดเพิ่มขึ้นกว่า 500 เท่าภายในระยะเวลาย้อนหลังไป 50 ปี ทำให้มีการตรวจพบผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเดงกีมากกว่า 100 ประเทศทั่วโลกภายหลังปี พ.ศ. 2532 [2] มีการศึกษาการระบาดของไวรัสเดงกีย้อนหลังไปทุกๆ สามปีเป็นเวลา 15 ปีโดยใช้หลักการทางคณิตศาสตร์เป็นแม่แบบเพื่อทำการเปรียบเทียบการแพร่กระจายของไข้เลือดออกเดงกีกับลักษณะและการแพร่กระจายของยุงพาหะ พบว่ามีความสัมพันธ์กับการระบาดของไวรัสเดงกี คือเชื้อไวรัสเดงกีจะแพร่กระจายสู่พื้นที่ใกล้เคียงด้วยอัตราการกระจายของโรคในแต่ละเดือนประมาณ 148 กิโลเมตร [1,2]

คุณลักษณะทางชีวภาพของเชื้อไวรัสเดงกี

เชื้อไวรัสเดงกี เป็นตัวก่อโรคชนิดที่ปรากฏขึ้นใหม่และมีภาวะระบาดซ้ำ (Emerging and re-emerging disease) จัดอยู่ใน Family Flaviviridae, Genus *Flavivirus* ซึ่งเป็นกลุ่มไวรัสกลุ่มใหญ่ที่เป็นสาเหตุการตายของทั้งคนและสัตว์ ไวรัสกลุ่ม Family Flaviviridae [3,4] นี้สามารถแบ่งย่อยออกได้ตามชนิดของพาหะเป็น 3 ชนิดใหญ่ๆ [3-5] คือ

1. กลุ่มไวรัสที่มียุงเป็นพาหะนำโรค (Mosquito-borne viruses) เช่น Dengue virus, West Nile virus, Yellow fever virus, Japanese encephalitis virus เป็นต้น
2. กลุ่มไวรัสที่มีเห็บเป็นพาหะนำโรค (Tick-borne viruses) เช่น Powassan virus, Kyasanur Forest disease virus

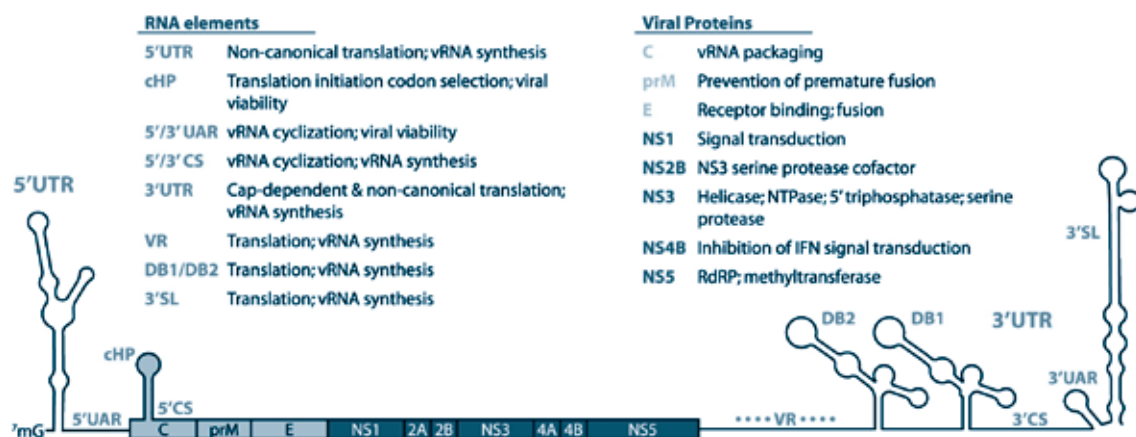
3. กลุ่มที่ไม่สามารถระบุพาหะนำโรคได้ (Viruses with no known arthropod vector) เช่น Dakar bat virus

เชื้อไวรัสเดงกีจัดอยู่ในกลุ่มไวรัสที่นำโดยยุง ซึ่งยุงที่เป็นพาหะของไวรัสเดงกี คือ *Aedes* spp. ที่พบว่าเป็นพาหะหลักคือ *Ae. aegypti*, *Ae. scutellaris* และ *Ae. albopictus* [1-3]

เชื้อไวรัสเดงกีมีสายพันธุกรรมเป็น RNA ชนิดสายเดี่ยวแบบสายตรงชนิดบวก (Linear, positive single-stranded RNA) ไวรัสเดงกีมีอนุภาครูปทรงกลม มีส่วนเปลือกหุ้ม (Envelope-protein) มีขนาดของอนุภาคไวรัสประมาณ 50 nm สามารถแบ่งชนิดของเชื้อไวรัสเดงกีเป็น 4 ชนิด คือ Dengue-1, 2, 3 และ 4 โดยโครงสร้างของไวรัสเดงกีทั้ง 4 ชนิดนี้คล้ายกัน ซึ่งจะประกอบไปด้วยสาย RNA ยาวประมาณ 10.7 Kb (Dengue-2 ยาวที่สุด ประมาณ 10.723 Kb และ Dengue-4 สั้นที่สุด ประมาณ 10.644 Kb) โครงสร้างของไวรัสไข้เลือดออกสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนหลักๆ [2-3] คือ

1. Structural proteins ประกอบไปด้วย Capsid (C), Pre-membrane/Membrane (PrM/M) และ Envelope (E) protein
2. Non-structural proteins (NS) ประกอบไปด้วย NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B และ NS5
3. Untranslated region (UTR) ประกอบไปด้วย 5' UTR และ 3' UTR

ไวรัสเดงกีมี open reading frame ของยีนส์ (genes) ที่กำหนดและควบคุมการสร้างโปรตีนต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของตัวไวรัส และเนื่องจากไวรัสนี้เป็น RNA virus ชนิดสายเดี่ยวแบบสายตรงชนิดบวกดังกล่าวข้างต้น สาย RNA นี้จึงทำหน้าที่เป็น mRNA ในการสร้างโปรตีนได้โดยตรง ดังนั้นเมื่อไวรัสเดงกีเข้าสู่เซลล์ RNA ของไวรัสจะกำหนดการสร้างโปรตีนที่สำคัญ เพื่อประกอบกันเป็นไวรัสตัวใหม่ ทำให้ไวรัสเดงกีเพิ่มจำนวนขึ้นในเซลล์นั้น โดยคุณสมบัติและหน้าที่ของส่วนประกอบในโครงสร้างของเชื้อไวรัสเดงกีทั้งในส่วน RNA และ โปรตีน สรุปได้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างและหน้าที่หลักของโปรตีนและ RNA ของไวรัสเดงกี (ได้รับอนุญาตจาก American Society for Microbiology) [5]

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง Receptors กับเซลล์เป้าหมายของเชื้อไวรัสเดงกี

Receptors	Target cells	Reference
Heparan sulfate	Liver cells; VERO; BHK21; C636	14-16
Hsp70/ 90	Monocyte derived Macrophage; human; Neuroblastoma cells	17-18
GRP78/ BiP	Liver cells	19
37/ 67 kDa high affinity Laminin receptor	Liver cells	19-20
CD14	Monocyte derived Macrophage	21
DC-SIGN	Dendritic cells, Langerhans cells	22-24
L-SIGN	Liver cell; LN: Spleen	23-25

เซลล์เป้าหมายและการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสเดงกี

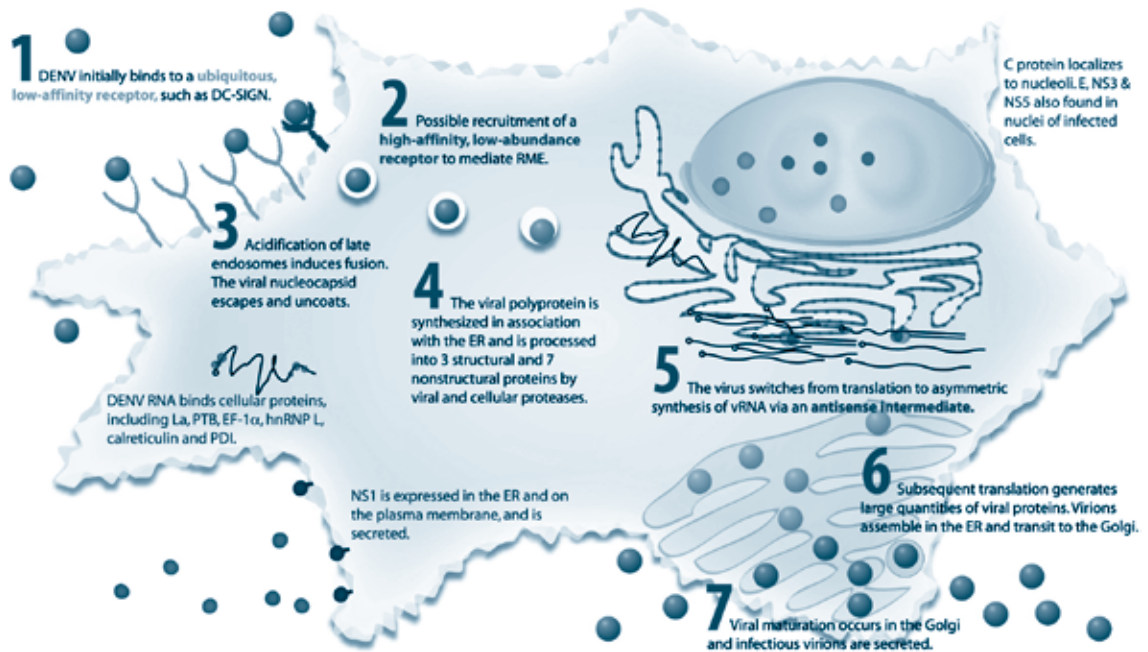
สำหรับการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเดงกีนั้นเริ่มต้นเมื่อไวรัสเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย (target cells) ซึ่งถ้าทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับความเป็นจริงในผู้ป่วย ได้มีการศึกษาโดยใช้เซลล์หลายชนิดที่คิดว่าเป็นเซลล์เป้าหมายของไวรัสเดงกีโดยอาศัยพื้นฐานของอาการของผู้ป่วยเป็นหลักนั้น จะพบว่าเซลล์เป้าหมายของเชื้อไวรัสเดงกีนั้นมีหลายชนิด โดยแบ่งตามชนิดของเซลล์เพาะเลี้ยง คือ

1. เซลล์เพาะเลี้ยงปฐมภูมิ (Primary cell culture) ได้แก่ hepatocytes [6,7], neuron cells [7], dendritic cells [6,7], endothelial cells [7-10], monocyte/macrophage [7-10], B cell [8-11], และ T cells [8-11].

2. เซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (Cell lines) ได้แก่ Mosquito cells (C6/36, AP61) [13], Mammalian cells (LLC-MK2, Vero, BHK, PDK) [13], Mononuclear phagocyte lineage (Raji cells, THP-1 cells) [8-11]

3. เซลล์ที่ได้จากเนื้อเยื่อของผู้ป่วยที่เสียชีวิตโดยตรง (Autopsy study) [7,8]

วงจรชีวิตของไวรัสเดงกี เริ่มจากการที่ไวรัสเดงกีสามารถจับกับ receptors จำเพาะบนเซลล์เป้าหมาย แล้วกระตุ้นให้ไวรัสเข้าสู่เซลล์ด้วยขบวนการที่เรียกว่า Receptor-mediated endocytosis (RME) [25,26] โดยจะเกิดการสร้าง endosome ในเซลล์ซึ่งภายใน endosome มีสภาวะเป็นกรดทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ E protein (trimerization) เป็นผลให้ RNA ของไวรัสหลุดออกจาก envelop (uncoat) จากนั้น RNA ของไวรัสจะเริ่มสร้างโปรตีนต่างๆ (translation) ที่บริเวณ ER-derived membrane และจะหยุดสร้างโปรตีนเมื่อมีการสร้างสาย RNA ของไวรัส (replication) โปรตีนและสาย RNA ที่สร้างขึ้นจะประกอบตัวกัน (assembly) ที่ Endoplasmic reticulum (ER) แล้วเคลื่อนต่อไปที่ Golgi compartment เพื่อให้การประกอบตัวสมบูรณ์และไวรัสมีสภาพเป็นตัวเต็มวัย (mature form) แล้ว



รูปที่ 2 วงจรชีวิตของการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเดงกี (ได้รับอนุญาตจาก American Society for Microbiology) [5]

เซลล์เป้าหมายนี้จะปล่อยไวรัสที่เกิดใหม่และมีความสมบูรณ์ออกจากเซลล์เดิมกระจายไปสู่เซลล์ใหม่เซลล์อื่นๆ ต่อไป (รูปที่ 2, ที่มาของรูปจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 5) [25-27]

พยาธิกำเนิดโรคไข้เลือดออกเดงกี

โรคไข้เลือดออกเดงกี เป็นโรคที่มีอุบัติการณ์การเสียชีวิตเพิ่มมากขึ้นทุกปี การติดเชื้อไวรัสต่างๆ ไปนั้น ระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกายมนุษย์จะสามารถยับยั้งหรือลดการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเมื่อมีการติดเชื้อซ้ำในครั้งที่สอง แต่โรคไข้เลือดออกเดงกีจะแตกต่างจากเชื้อไวรัสอื่นๆ ตรงที่การติดเชื้อของไวรัสเดงกีในครั้งแรกผู้ป่วยอาจไม่แสดงอาการใดๆ หรืออาจมีอาการเหมือนการติดเชื้อไวรัสต่างๆ ไป ในขณะที่จะพบไข้เลือดออกเดงกีชนิดรุนแรง (DHF/DSS) เมื่อมีการติดเชื้อซ้ำ โดยจะพบได้ประมาณ 15-80 เท่า อันเป็นผลมาจากการที่ระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสชนิดนี้ไม่สามารถยับยั้ง (neutralize) เชื้อไวรัสได้ แต่กลับไปส่งเสริมให้มีการเข้าสู่เซลล์และเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเดงกีภายในเซลล์เป้าหมาย เรียกลักษณะดังกล่าวนี้ว่า Antibody dependent enhancement (ADE) [28-31] คุณสมบัติ ADE นั้นจัดว่าเป็นส่วนสำคัญหนึ่งในการศึกษาถึงพยาธิกำเนิดของโรคไข้เลือดออกเดงกี

สำหรับการติดเชื้อไวรัสเดงกีนั้นไม่ได้ก่อให้เกิดโรคไข้เลือดออกเดงกีชนิดรุนแรงทุกครั้ง ทั้งนี้เนื่องมาจากปัจจัยที่มีผลต่อการก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกีนั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ปัจจัยหลักคือ

1. ปัจจัยพลจากเชื้อไวรัส
สำหรับสาเหตุอันเนื่องมาจากเชื้อไวรัสเดงกีต่อความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกีนั้นเกิดจาก
 - 1.1 จำนวนของไวรัส (Viral load effect) พบว่าปริมาณของไวรัสนั้นมีผลกระทบต่อเซลล์เป้าหมายโดยตรงสืบเนื่องมาจากปริมาณของไวรัสที่มาก ทำให้สามารถติดเชื้อต่อเซลล์เป้าหมายได้มาก จึงส่งผลให้มีการแสดงความผิดปกติออกมาได้ชัดเจนขึ้น [31-34]
 - 1.2 สายพันธุ์ของไวรัส (Viral strain) มีข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่า สายพันธุ์ของไวรัสที่ก่อโรคในภูมิภาคเอเชีย โดยเฉพาะภูมิภาคเอเชียอาคเนย์นั้นสามารถก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคได้มากกว่าสายพันธุ์อเมริกา [35-38]
2. ปัจจัยพลจากผู้รับเชื้อ
สำหรับสาเหตุอันเนื่องมาจากการรับเชื้อต่อความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกีนั้นเกิดจาก
 - 2.1 ปัจจัยส่วนบุคคล [39] ซึ่งได้แก่
 - 2.1.1 อายุ พบว่าความรุนแรงของโรคในเด็กนั้นจะรุนแรงกว่าในผู้ใหญ่
 - 2.1.2 เพศ พบว่าความรุนแรงมักจะเกิดในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย
 - 2.1.3 ภาวะโภชนาการ พบว่าผู้ที่มีภาวะโภชนาการที่ดีมักเกิดความรุนแรงมากกว่าผู้ป่วยทุพโภชนาการ

2.1.4 เชื้อชาติ จะพบว่าผู้ป่วยที่เป็นผิวดำหรือเอเชียมีความรุนแรงมากกว่าผิวดำ

2.1.5 พันธุกรรม จะพบว่าผู้ที่มียีนส์ของ HLA class I จะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกี

2.2 บทบาทของภูมิคุ้มกัน [24,40-43] จากการศึกษาความสัมพันธ์ของความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกีกับระบบภูมิคุ้มกันนั้นสามารถแบ่งย่อยออกได้เป็น

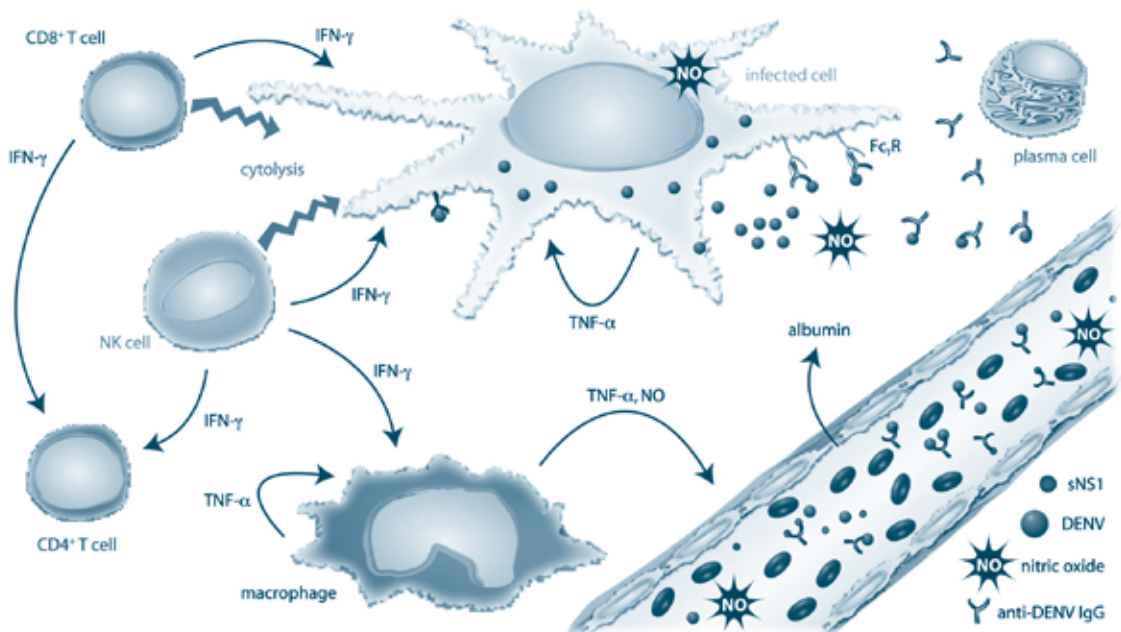
2.2.1 Antibody/ Humoral immunity ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 2 ชนิดย่อยๆ คือ

- 1) ชนิดที่สามารถลดหรือทำลายฤทธิ์ของไวรัสได้ (Neutralizing antibody) โดยเริ่มต้นจากการที่ไวรัสติดเซลล์เป้าหมายแล้วมีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด innate immune response ส่งผลให้มีการกระตุ้นการสร้างสาร cytokines และ chemokines ต่างๆ ไปยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส ในขณะเดียวกันสารดังกล่าวยังสามารถกระตุ้น T-cells ให้มีการหลั่ง cytokines จำเพาะและกระตุ้นระบบ complements ทำให้เกิดการทำลายฤทธิ์ของไวรัส ซึ่งส่วนมากมักจะพบในการติดเชื้อครั้งแรก [44-46]
- 2) ชนิดที่ช่วยในการติดเชื้อและเพิ่มจำนวนในเซลล์เป้าหมาย (Enhancing

antibody) ชนิดนี้เป็นชนิดที่พบและอธิบายถึงพยาธิกำเนิดของโรคไข้เลือดออกเดงกีชนิดติดเชื้อซ้ำและก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค โดยเชื้อไวรัสเดงกีจะอาศัย Fc-receptor ในการชักนำเข้าเซลล์และเพิ่มจำนวนในเซลล์เป้าหมายต่อไป [29-31]

2.2.2 Cellular immunity

สำหรับระบบภูมิคุ้มกันชนิดนี้จะเน้นในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่าง T-cell, B-cell และ Cytokines โดยมีการศึกษาความสัมพันธ์กับพยาธิกำเนิดของไข้เลือดออกเดงกีพบว่าความสามารถของ T-cells ต่อการยับยั้งการติดเชื้อของไวรัสเดงกีในครั้งที่สองที่ต่างชนิดไปจากครั้งแรกนั้นเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้การกำจัดไวรัสออกจากร่างกายด้วยระบบภูมิคุ้มกันนั้นทำได้ลดลงอีก แต่กลับส่งผลให้เกิดการหลั่ง cytokines เพิ่มมากขึ้น เซลล์เป้าหมายแรกของเชื้อไวรัสเดงกีคือ Monocyte/Macrophage และ Dendritic cells พบว่าถ้ามีการติดเชื้อในครั้งที่สองนั้นจะมีการกระตุ้นให้มีการหลั่ง cytokine ชนิด $\text{TNF-}\alpha$ ร่วมกับอนุมูลอิสระ (Nitric oxide) ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงกับเยื่อผนังเส้นเลือด โดยมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างในห้องปฏิบัติการและในเลือดผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกีชนิด DF เปรียบเทียบกับ DHF พบว่านอกเหนือจาก $\text{TNF-}\alpha$ แล้วยังมี cytokines อื่นๆ ที่มีผลทำให้เกิดความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกีได้อีก คือ IL-6, IL-8 และ IL-10 พบว่า cytokines ต่างๆ ที่ส่งผลให้เกิดความรุนแรงนั้น



รูปที่ 3 พยาธิสรีรวิทยาของไข้เลือดออกเดงกี (ได้รับอนุญาตจาก American Society for Microbiology) [5]

จะจัดอยู่ในกลุ่มของ Th-2 cytokines มากกว่า Th-1 cytokines (รูปที่ 3, ที่มาของรูปจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 5) [5,47-50] ซึ่ง cytokines ต่างๆ เหล่านี้จะส่งผลกระทบต่อเยื่อผนังเส้นเลือด โดยส่งผลต่อ extracellular matrix ต่างๆ เช่น Glycosaminoglycans และ proteoglycans เป็นต้น รวมถึง cell adhesion molecules ต่างๆ เช่น Laminin, ICAM-1, PECAM, β -actin เป็นต้น [24,49,51,52] ทำให้เกิดการรั่วของพลาสมาเพิ่มมากขึ้น สำหรับการศึกษาพยาธิสรีรวิทยาของโรคไข้เลือดออกเดงกี ยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมและพัฒนาความรู้อย่างต่อเนื่อง เพื่อหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรัสเดงกีและพยาธิกำเนิดที่จำเพาะเจาะจงและชัดเจนมากขึ้น ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนารักษาและวัคซีนป้องกันไวรัสเดงกีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

นอกจาก cytokines ดังกล่าวข้างต้น มีรายงานที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของโรคไข้เลือดออกเดงกีชนิดรุนแรง (ในผู้ป่วย DHF/DSS) กับองค์ประกอบอื่นๆ อีก เช่น

- 1) พบว่ามีอัตราส่วนของ CD4:CD8 ลดลง (CD4:CD8 < 1) [53]
- 2) มีการกระตุ้น Human cytotoxic factor เพิ่มมากขึ้น [49,50]
- 3) มีการตรวจพบระดับของ MMP-9 เพิ่มมากขึ้น (จากการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการ) [51,52]
- 4) พบระดับของ cytokines บางชนิดลดลง เช่น IL-12 [49,50]
- 5) พบระดับของ cytokines บางชนิดเพิ่มขึ้น เช่น IL-18, IL-4, IL-13, IFN- γ , TGF- β เป็นต้น [49-52]

การตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ

จะเห็นว่าโรคไข้เลือดออกเดงกีนั้นมีความรุนแรงและมีการระบาดเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ แต่ยังไม่มียาที่ใช้ในการรักษาที่จำเพาะเจาะจง ดังนั้นการจะลดอุบัติการณ์ของการเสียชีวิตจากเชื้อไวรัสเดงกี จึงต้องอาศัยแพทย์ผู้มีความรู้ความสามารถในการวินิจฉัยจากอาการและอาการแสดงของผู้ป่วย ร่วมกับการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่แม่นยำและรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้แพทย์ผู้ทำการรักษาทราบสาเหตุของโรคได้อย่างถูกต้อง ส่งผลต่อการรักษาที่รวดเร็ว ร่วมกับการเฝ้าระวังอาการ (treatment monitoring) รวมถึงการเฝ้าระวังโรค (surveillance) ที่มีประสิทธิภาพต่อไป

การตรวจวินิจฉัยไข้เลือดออกเดงกีในห้องปฏิบัติการนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดหลักๆ คือ

1. การตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกี (Viral identification) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ดังนี้

1.1 การตรวจเพาะเลี้ยงแยกเชื้อไวรัส (Viral isolation) วิธีนี้ใช้ระยะเวลานานมากกว่า 1-2 สัปดาห์จึงจะทราบผล (แต่ใช้วิธีการตรวจสอบที่เลือกใช้) ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ

- 1.1.1 Intracerebral inoculation โดยการนำ

ตัวอย่างตรวจที่ได้ฉีดเข้าสมองหนูแรกเกิดแล้วแยกไวรัสเพื่อตรวจสอบหรือดูพยาธิสภาพของหนูภายหลังการฉีดตัวอย่าง ว่ามีการเปลี่ยนแปลงของพัฒนาการของหนูแรกเกิด การเกิดภาวะอัมพาต (paralysis) หรือการตายของหนูแรกเกิดช้าเร็วต่างกันอย่างไรเมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุม (ใช้ระยะเวลาประมาณ 1-3 สัปดาห์) [55]

- 1.1.2 Mammalian and mosquito cell culture เป็นการนำตัวอย่างตรวจที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด mammalian cell lines (เช่น LLC-MK2, Vero, BHK, PDK, HepG2 cells เป็นต้น) [13,55,56] หรือ mosquito cell line (C6/36, AP61 cells) [13] โดยจะศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของ cytoplasm ของเซลล์เมื่อเกิดพยาธิสภาพ ที่เรียกว่า Cytopathic effect (CPE) พบว่าลักษณะของ CPE ในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด mammalian cells มักจะเป็นในลักษณะ lysis หรือ cell swelling แต่สำหรับในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด mosquito cell line มักจะไม่ค่อยพบ CPE แต่ถ้าพบในบางตัวอย่างมักจะเป็นลักษณะ syncytium นอกจากการตรวจหา CPE แล้ววิธีการนี้ยังหวังผลในการเพิ่มปริมาณไวรัสจากตัวอย่างตรวจ เพื่อนำไปศึกษาเรื่องอื่นๆ ต่อไป (ใช้ระยะเวลาประมาณ 1-3 สัปดาห์)

- 1.1.3 Mosquito inoculation วิธีนี้เป็นการนำตัวอย่างตรวจเข้าสู่ยุง โดยมีวัตถุประสงค์หลักคือเพิ่มปริมาณของไวรัสที่ได้จากตัวอย่างตรวจเพื่อนำไปทำการศึกษาเรื่องอื่นๆ ต่อไป อีกทั้งสามารถตรวจสอบพยาธิสภาพที่เกิดภายในตัวยุงหลังจากนำตัวอย่างตรวจเข้าสู่ตัวยุง โดยยุงที่นิยมนำมาใช้คือ ยุงลาย (*Aedes* spp) หรือ ยุงยัก (*Toxorhynchites* spp) (ใช้ระยะเวลาประมาณ 1-2 สัปดาห์) [56]

1.2 การตรวจสอบหา RNA ของไวรัส

เป็นวิธีที่นิยมมากขึ้นในปัจจุบัน ทั้งนี้เพราะสามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็วและมีความแม่นยำสูง สำหรับการเลือกตำแหน่งจำเพาะในไวรัสเดงกีเพื่อตรวจสอบด้วยวิธีการหา RNA ของไวรัสสามารถทำได้ทุกตำแหน่งในโครงสร้างของไวรัส แต่ที่นิยมและมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในปัจจุบันคือ untranslated region (5', 3' UTR) [57], Capsid protein (C) [58], envelope protein (E) [59], nonstructural protein-1 (NS1) [60], nonstructural protein-5 (NS5) [61] โดยวิธีที่นิยมใช้มากในปัจจุบันคือ

1.2.1 Nucleic acid hybridization โดยการนำตัวอย่างที่ได้ไป hybridized ด้วย biotinylated probe หรือ ^{32}P -labeled probe แล้วทำการตรวจสอบหาไวรัสจากตัวอย่าง นิยมใช้ตรวจสอบตัวอย่างที่เป็นเนื้อเยื่อมากกว่าตัวอย่างที่เป็นสารน้ำ [62]

1.2.2 Polymerase chain reaction ที่นิยมใช้กับการตรวจวินิจฉัยไข้เลือดออกเดงก็คือ Reverse transcriptase PCR (RT-PCR) เพื่อตรวจสอบว่าตัวอย่างตรวจมีการติดเชื้อไวรัสเดงก็หรือไม่ (Viral identification) และมีการใช้ร่วมกับ Nested-PCR เพื่อระบุชนิดของเชื้อไวรัสเดงก็ (Viral serotyping) วิธีการนี้จะต้องออกแบบ primers ซึ่งจำเพาะเจาะจงกับยีนส์ (gene) ที่สนใจศึกษา (กรณีที่ต้องการตรวจสอบจำเพาะเจาะจงแต่ละโปรตีนในโครงสร้างของไวรัสเดงก็) [63,64] หรืออาจใช้ universal primer สำหรับตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัสเดงก็ [64] โดยพบว่าวิธีนี้สามารถได้ผลการตรวจสอบไม่เกิน 2-6 ชั่วโมง ข้อจำกัดของวิธี PCR คือ สารที่ใช้ตรวจสอบและเครื่องมือยังมีราคาสูง นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีตรวจสอบที่มีความจำเพาะสูงสามารถตรวจสอบได้ในตัวอย่างที่มีปริมาณไวรัสน้อยมากๆ ได้ ภายใต้หลักการของ PCR คือ Single tube multiplex RT-PCR ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความแม่นยำ ลดปริมาณค่าใช้จ่ายและระยะเวลาของการตรวจสอบ วิธีดังกล่าวอยู่ในช่วงพัฒนาและนิยมใช้ในการศึกษาวิจัยมากกว่าการวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกเดงก็ [65]

1.2.3 Real-time PCR วิธีนี้มีการพัฒนาเพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากความรวดเร็วและความจำเพาะต่อไวรัสสูง และสามารถได้ผลการตรวจสอบที่รวดเร็วภายในระยะเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง แต่วิธีนี้เหมาะสำหรับงานวิจัยมากกว่างานวินิจฉัย ทั้งนี้เนื่องมาจากราคาของการตรวจสอบวิธีนี้ยังคงสูงอยู่ [66-68]

2. การตรวจหา Antibody ของผู้ป่วย

สามารถทราบผลได้แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของวิธีการตรวจสอบ คือ ตั้งแต่ภายใน 24 ชั่วโมงจนถึงหลายสัปดาห์ วิธีที่นิยมใช้อยู่ในปัจจุบัน คือ

2.1 Rapid test เป็นการตรวจหา IgM และ IgG ต่อไวรัสเดงก็ในตัวอย่างตรวจ โดยหลักการของวิธีนี้จะเป็นการเคลือบ antigen ต่อโปรตีนในไวรัสเดงก็บนแผ่นตรวจสอบเมื่อต้องการตรวจสอบตัวอย่างตรวจ ทำได้โดยการนำตัวอย่างตรวจ

มาหยดลงบนแผ่นตรวจสอบ รอตามระยะเวลาที่กำหนด จะปรากฏแถบสีให้เห็น ซึ่งใช้เวลาเฉลี่ยไม่เกิน 15 นาที ซึ่งโปรตีนที่ใช้ในปัจจุบันคือ nonstructural protein-1 (NS1) สำหรับวิธีนี้สามารถตรวจสอบได้รวดเร็ว แต่มีความผิดพลาดค่อนข้างสูงเนื่องจากการเกิด cross reaction ระหว่างกลุ่มตัวอย่างตรวจได้ ในปัจจุบันมีการพัฒนาทำให้การตรวจสอบวิธีนี้มีความจำเพาะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ (ใช้ระยะเวลาประมาณ 15-30 นาที) [69]

2.2 Plaque assay and plaque neutralization assay เป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบหาชนิดของไวรัสเดงก็ที่ได้จากตัวอย่างโดยอาศัยหลักการของ mammalian cell culture ร่วมกับ Antigen-antibody complex (ใช้ระยะเวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์) [70,71]

2.3 Hemagglutination inhibition assay เป็นการตรวจสอบโดยใช้หลักการของการเกาะกลุ่มกันระหว่างเชื้อไวรัสเดงก็กับเซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์บางชนิด เช่น ห่าน (*Anser cinereus*) การตรวจสอบวิธีนี้จะพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงของ antibody titer ซึ่งจะต้องมีการตรวจสอบ 2 ครั้งคือ acute phase และ convalescent phase ห่างกันประมาณ 7 วัน โดยพิจารณาจากค่า convalescent antibody titer ให้ผลบวกเมื่อมีค่าสูงขึ้นมากกว่า 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับ acute phase และเมื่อพิจารณาค่าจำเพาะในระยะ convalescent antibody titer ถ้าน้อยกว่า 1:1,280 มักจะเป็นการติดเชื้อครั้งแรก (Primary infection) แต่ถ้ามีค่ามากกว่า 1:2,560 มักจะเป็นการติดเชื้อซ้ำ (Secondary infection) [72,73]

2.4 Plaque reduction neutralization assay (PRNT) เป็นการดัดแปลง cell culture ร่วมกับ Challenge virus resistant assay โดยการเจือจางตัวอย่างมาผสมกับไวรัสและดูการแสดงผลต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสจาก antibody จำเพาะภายหลังการติดเชื้อไวรัสเดงก็ [70,71]

2.5 Enzyme immunosorbent assay (EIA, ELISA) ถือเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้หลักการของการตรวจสอบสัดส่วนของ immunoglobulin isotype (IgM หรือ IgG) ที่ทำปฏิกิริยาต่อ Dengue หรือ Japanese encephalitis (JE) antigen [74,75] โดยหลักการของการอ่านผลการตรวจสอบจะพิจารณาจาก

2.5.1 Ratio ของ anti-dengue IgM ต่อ anti-JE IgM เพื่อตรวจสอบว่าเป็นการติดเชื้อ Dengue virus หรือ JE virus [74,75]

- ถ้าค่าที่ได้มากกว่า 1 ถือว่าเป็นการติดเชื้อ Dengue virus
- ถ้าค่าที่ได้น้อยกว่า 1 ถือว่าเป็นการติดเชื้อ JE virus

2.5.2 แยกการติดเชื้อครั้งแรก (Primary infection) หรือเป็นการติดเชื้อซ้ำ (Secondary infection) จะพิจารณาจาก ratio ระหว่าง IgM กับ IgG [74,75]

ตารางที่ 2 วิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสเดงกี ความไวและเวลาที่ใช้ในการตรวจสอบ

Test	Minimum virion	Time	Reference
Viral culture/ isolation	>104 PFU	>10 days	6-13
RT/Nested-PCR	10-250 PFU	9-15 hours	63-65
Real time PCR	<10 PFU	1-2 hours	66-68
Antibody detection	>103 PFU	>1 weeks	56, 72, 74, -75

- ratio IgM : IgG มากกว่า 1.8 ถือว่าเป็นการติดเชื้อครั้งแรก (Primary infection)
- ratio IgM : IgG น้อยกว่า 1.8 ถือว่าเป็นการติดเชื้อซ้ำ (Secondary infection)

การตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสเดงกีนั้นยังมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อหาวิธีการตรวจสอบที่รวดเร็ว สะดวก และมีความแม่นยำสูง ทั้งนี้เพราะวิธีการตรวจสอบของแต่ละวิธีย่อมมีข้อจำกัดแตกต่างกันออกไป [76] ดังในตารางที่ 2

แนวทางการรักษาผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี

ปัจจุบันยังไม่มียาต้านไวรัสเดงกี ดังนั้นการรักษาส่วนใหญ่จะเป็นการรักษาแบบตามอาการและประคับประคอง โดยเน้นที่การชดเชยการรั่วของพลาสมา ร่วมกับการรักษาอาการแทรกซ้อนอื่นๆ ของผู้ป่วยแต่ละราย ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญของการรักษาผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี คือการเฝ้าระวังคนไข้อย่างใกล้ชิดตลอดระยะเวลาวิกฤต ซึ่งมีระยะเวลาประมาณ 24-48 ชั่วโมงภายหลังไข้ลดหรือมีการรั่วของพลาสมา โดยมีหลักการสำคัญๆ ของการดูแลรักษาผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี [77,78] คือ

- วินิจฉัยอย่างรวดเร็วและถูกต้องให้ได้ว่าผู้ป่วยเป็นไข้เลือดออกเดงกีก่อนเข้าระยะวิกฤต
- ให้สารน้ำชดเชยเท่าที่จำเป็นเมื่อมีการรั่วของพลาสมา
- เฝ้าระวังภาวะเลือดออกภายในหรือการให้สารน้ำมากเกินไป
- หลีกเลี่ยงการใช้ยาที่ไม่จำเป็นทุกชนิด
- หลีกเลี่ยงการรักษาที่เป็น invasive procedure

สาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของผู้ป่วยไข้เลือดออกเดงกี [77]

- ภาวะน้ำเกิน (Fluid overload)
- อาการช็อกนาน (Prolonged shock)
- มีเลือดออกมาก (Massive bleeding)
- อาการแทรกซ้อนด้วยการติดเชื้อชนิดอื่นร่วมกับการติดเชื้อไวรัสเดงกี

วัคซีนป้องกันไวรัสไข้เลือดออกเดงกี

การพัฒนาวัคซีนป้องกันไวรัสเดงกีนั้นเริ่มมีการพัฒนาดังแต่ปี พ.ศ. 2487 โดย Sabin และ Schlesinger [79] เริ่มต้น

จากไวรัสเดงกีชนิดที่ 1 “Hawaiian strain” โดยวิธีการเตรียมในสมองหนู เมื่อนำวัคซีนที่ได้มาทำการทดสอบในคนจำนวนน้อย พบว่าได้ผลดี มีอาการข้างเคียงเพียงเล็กน้อยแต่สามารถปลูกสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านเชื้อไวรัสที่ฉีดเข้าไปได้ ต่อมาได้หยุดดำเนินการเนื่องจากตรวจพบมีอาการอัมพาตของลิ้นภายหลังได้รับวัคซีน [79,80]

ต่อมาในปี พ.ศ. 2515 ทีมนักวิจัยมหาวิทยาลัยมหิดลได้พัฒนา วัคซีนโดยใช้ purified virus ที่ clone ใน animal tissue culture พบว่าไวรัสเดงกีซีโรทัยปีที่ 1, 2 และ 4 สามารถเจริญเติบโตได้ดีใน primary dog kidney (PDK) cells แต่สำหรับไวรัสเดงกีซีโรทัยปีที่ 3 ต้องใช้ primary green monkey kidney (PGMK) cells หลังจากนั้นได้ทำให้ไวรัสเดงกีอ่อนกำลังในการก่อพยาธิสภาพ พบว่าไวรัสเดงกีมีความจำเพาะแตกต่างกันในการทำให้อ่อนกำลังลงในแต่ละซีโรทัยปีคือ DEN-1, 2, 3 และ 4 จะสามารถทำให้อ่อนกำลังลงได้ใน passage ที่ 43, 53, 50, และ 60 ตามลำดับ เรียกวัคซีนดังกล่าวว่า Live attenuate vaccine ในช่วงแรกนั้นวัคซีนชนิดนี้จะยังไม่สามารถควบคุมไวรัสเดงกีได้ครบทั้ง 4 ซีโรทัยปีในการฉีดเพียงครั้งเดียว ซึ่งทีมนักวิจัยจากมหาวิทยาลัยมหิดลได้พัฒนาวัคซีนเรื่อยมาจนได้วัคซีนรวมที่สามารถครอบคลุมไวรัสได้ครบทั้ง 4 ชนิด (Live attenuate tetravalent vaccine) ในปี 2535 [81,82]

หลังจากนั้นได้มีกลุ่มนักวิจัยและพัฒนาวัคซีนป้องกันไวรัสเดงกีพยายามที่จะพัฒนาวัคซีนป้องกันไวรัสเดงกีเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ มีการนำเทคนิคทางอนุพันธุวิทยาเข้ามามีส่วนร่วมในการพัฒนาวัคซีนเพิ่มมากขึ้นได้แก่ :

1. Recombinant vaccine

วัคซีนชนิดนี้จะมีการใช้อนุพันธุวิศวกรรม (Molecular cloning) และชีวสารสนเทศ (Bioinformatics) เข้ามาร่วมในการสร้างอนุภาคไวรัสที่มีคุณลักษณะของการเป็นวัคซีนที่ดีในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งสามารถใช้ไวรัสเพียงชนิดเดียว หรือชนิดเดียวกันแต่ต่างซีโรทัยปี หรือไวรัสคนละชนิดอยู่ในยีนโอมเดียวกันเรียกว่า Chimeric vaccine

วัคซีนชนิดนี้ที่อยู่ในช่วงการพัฒนาในปัจจุบันจะเป็นการนำ Live attenuated vaccine หรือ Live attenuated virus มาเป็นแกนกลางแล้วเติมส่วนของไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยปีที่

ทำให้หมดฤทธิ์ในการก่อโรคเข้าไปโดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม หวังผลว่าวัคซีนนี้จะสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเดงกีได้ทั้ง 4 ซีโรทัยป์ สำหรับวัคซีนชนิดนี้เริ่มต้นศึกษาในไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ 4 โดยการ deletion นิวคลีโอไทด์ออกไป 30 ตัว ที่ตำแหน่ง untranslated region เพื่อนำมาเป็นแกนหลักของโครงสร้างวัคซีนแล้วนำส่วน capsid, envelope และ pre-membrane จากไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ 1-3 เข้ามาประกอบเป็นโครงสร้างวัคซีน เรียกวัคซีนชนิดนี้ว่า Chimera vaccine [83] นอกจากนั้นยังมีอีกกลุ่มนักวิจัยที่ทำการพัฒนาโดยใช้วัคซีนป้องกันไวรัสไข้เหลือง (Yellow fever) ชื่อ 17D yellow fever เป็นแกนหลักแล้วนำส่วน envelope proteins ของไวรัสเดงกีทั้งสี่โรทัยป์เข้ามาประกอบเป็นโครงสร้างวัคซีน เรียกวัคซีนชนิดนี้ว่า ChimeriVax-Den1-4 tetravalent vaccine [84]

2. Subunit vaccine

วัคซีนชนิดนี้จะทำการสร้างโปรตีนของไวรัสเดงกีด้วยเทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม โดยเลือกส่วนของโปรตีนบางส่วนจากโครงสร้างของไวรัสที่สนใจและสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ ที่นิยมในปัจจุบันคือ ส่วน E-protein และ NS1 [80,81,85] วัคซีนรูปแบบนี้ยังอยู่ในช่วงพัฒนาในห้องปฏิบัติการ

3. DNA vaccine

วัคซีนชนิดนี้จะมีการสร้าง plasmid ที่มียีนของไวรัสเดงกีที่คาดว่ามีส่วนต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ดี ซึ่งชนิดนี้จะมีผลดีกว่า Subunit vaccine สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งแบบเซลล์ (Cellular immune response) และแบบสารน้ำ (Humoral immune response) ได้ดีกว่า Subunit vaccine [85] วัคซีนรูปแบบนี้ยังอยู่ในช่วงพัฒนาในห้องปฏิบัติการ

บทสรุป

เชื้อไวรัสเดงกี จัดเป็นเชื้อไวรัสเกิดใหม่ ที่มีความสำคัญทางสาธารณสุขอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากการระบาดของไวรัสเดงกีมีการแพร่กระจายไปทั่วโลก มีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นและเสียชีวิตจากไวรัสเดงกีมากขึ้นเรื่อยๆ แต่ยังไม่มีการรักษาที่จำเพาะเจาะจง เนื่องจากพยาธิกำเนิดที่จำเพาะของโรคไข้เลือดออกเดงกีก็ยังไม่ชัดเจนทางวิทยาศาสตร์ที่แน่ชัด พบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อความรุนแรงของโรคไข้เลือดออกเดงกีเกิดได้ทั้งจากตัวไวรัสเดงกีและระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเดงกีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูงจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถช่วยลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้ ซึ่งวิธีการตรวจวินิจฉัยอาจทำได้โดยการตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกี หรือ antibody ต่อเชื้อไวรัส ซึ่งการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว จะนำไปสู่การรักษาที่เหมาะสม รวดเร็ว ส่งผลให้อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกเดงกีลดลงได้ สำหรับวัคซีนป้องกันไวรัสเดงกีนั้นยังอยู่ระหว่างการพัฒนาและทดสอบความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน การยับยั้งการเจริญเติบโตของไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์ รวมถึงความปลอดภัยและผลข้างเคียงต่อผู้รับวัคซีน ในปัจจุบันยังไม่มี

วัคซีนที่ได้ประกาศอย่างเป็นทางการที่สามารถป้องกันไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์

เอกสารอ้างอิง

1. Thomas SJ, Strickman D, Vaughn DW. Dengue epidemiology: virus epidemiology, ecology, and emergence. *Adv Virus Res.* 2003;61: 235-89.
2. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:480-96.
3. Lindenbach BD, Rice CM. Molecular biology of flaviviruses. *Adv Virus Res.* 2003;59:23-61.
4. Harris E, Holden KL, Edgil D, Polacek C, Clyde K. Molecular biology of flaviviruses. *Novartis Found Symp.* 2006;277:23-39.
5. Clyde K, Kyle JL, Harris E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *J Virol.* 2006;80:11418-31.
6. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol.* 1998;72:73-83.
7. Courageot MP, Catteau A, Desprès P. Mechanisms of dengue virus-induced cell death. *Adv Virus Res.* 2003;60:157-86.
8. Kou Z, Quinn M, Chen H, Rodrigo WW, Rose RC, Schlesinger JJ, *et al.* Monocytes, but not T or B cells, are the principal target cells for dengue virus (DV) infection among human peripheral blood mononuclear cells. *J Med Virol.* 2008;80:134-46.
9. King AD, Nisalak A, Kalayanrooj S, Myint KS, Pattanapanyasat K, Nimmannitya S, *et al.* B cells are the principal circulating mononuclear cells infected by dengue virus. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999;30:718-28.
10. Navarro-Sanchez E, Despres P, Cedillo-Barron L. Innate immune responses to dengue virus. *Arch Med Res.* 2005;36:425-35.
11. Scott RM, Nisalak A, Cheamudon U, Seridhoranakul S, Nimmannitya S. Isolation of dengue viruses from peripheral blood leukocytes of patients with hemorrhagic fever. *J Infect Dis.* 1980;141:1-6.
12. Wu SJ, Grouard-Vogel G, Sun W, Mascola JR, Brachtel E, Putvatana R, *et al.* Human skin

- Langerhans cells are targets of dengue virus infection. *Nat Med.* 2000;6:816-20.
13. Hase T, Summers PL, Eckels KH. Flavivirus entry into cultured mosquito cells and human peripheral blood monocytes. *Arch Virol.* 1989;104:129-43.
14. Germe R, Crance JM, Garin D, Guimet J, Lortat-Jacob H, Ruigrok RW, *et al.* Heparan sulfate-mediated binding of infectious dengue virus type 2 and yellow fever virus. *Virology.* 2002;292:162-8.
15. Hilgard P, Stockert R. Heparan sulfate proteoglycans initiate dengue virus infection of hepatocytes. *Hepatology.* 2000;32:1069-77.
16. Avirutnan P, Zhang L, Punyadee N, Manuyakorn A, Puttikhunt C, Kasinrerak W, *et al.* Secreted NS1 of dengue virus attaches to the surface of cells via interactions with heparan sulfate and chondroitin sulfate E. *PLoS Pathog.* 2007;3:e183.
17. Lin YL, Lei HY, Lin YS, Yeh TM, Chen SH, Liu HS. Heparin inhibits dengue-2 virus infection of five human liver cell lines. *Antivir Res.* 2002;56:93-6.
18. Cabrera-Hernandez A, Thepparit C, Suksanpaisan L, Smith DR. Dengue virus entry into liver (HepG2) cells is independent of hsp90 and hsp70. *J Med Virol.* 2007;79:386-92.
19. Jindadamrongwech S, Thepparit C, Smith DR. Identification of GRP 78 (BiP) as a liver cell expressed receptor element for dengue virus serotype 2. *Arch Virol.* 2004;149:915-27.
20. Thepparit C, Smith DR. Serotype-specific entry of dengue virus into liver cells: identification of the 37-kilodalton/67-kilodalton high-affinity laminin receptor as a dengue virus serotype 1 receptor. *J Virol.* 2004;78:12647-56.
21. Chen YC, Wang SY, King CC. Bacterial lipopolysaccharide inhibits dengue virus infection of primary human monocytes/macrophages by blockade of virus entry via a CD14-dependent mechanism. *J Virol.* 1999;73:2650-7.
22. Lozach PY, Burleigh L, Staropoli I, Navarro-Sanchez E, Harriague J, Virelizier JL, *et al.* Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin (DC-SIGN)-mediated enhancement of dengue virus infection is independent of DC-SIGN internalization signals. *J Biol Chem.* 2005;280:23698-708.
23. Navarro-Sanchez E, Altmeyer R, Amara A, Schwartz O, Fieschi F, Virelizier JL, *et al.* Dendritic-cell-specific ICAM3-grabbing non-integrin is essential for the productive infection of human dendritic cells by mosquito-cell-derived dengue viruses. *EMBO Rep.* 2003;4:723-8.
24. Tassaneetrithep B, Burgess TH, Granelli-Piperno A, Trumpfherer C, Finke J, Sun W, *et al.* DC-SIGN (CD209) mediates dengue virus infection of human dendritic cells. *J Exp Med.* 2003;197:823-9.
25. Mosso C, Galván-Mendoza IJ, Ludert JE, Del Angel RM. Endocytic pathway followed by dengue virus to infect the mosquito cell line C6/36 HT. *Virology.* 2008;378:193-9.
26. Acosta EG, Castilla V, Damonte EB. Functional entry of dengue virus into *Aedes albopictus* mosquito cells is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *J Gen Virol.* 2008;89(Pt 2):474-84.
27. Chaturvedi UC, Nagar R, Mathur A. Effect of dengue virus infection on Fc-receptor functions of mouse macrophages. *J Gen Virol.* 1983;64(Pt 11):2399-407.
28. Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007;30:329-40.
29. Chareonsirisuthigul T, Kalayanarooj S, Ubol S. Dengue virus (DENV) antibody-dependent enhancement of infection upregulates the production of anti-inflammatory cytokines, but suppresses anti-DENV free radical and pro-inflammatory cytokine production, in THP-1 cells. *Gen Virol.* 2007;88(Pt 2):365-75.
30. Kawaguchi I, Sasaki A, Boots M. Why are dengue virus serotypes so distantly related? Enhancement and limiting serotype similarity between dengue virus strains. *Proc Biol Sci.*

- 2003;270:2241-7.
31. Morens DM. Antibody-dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease. *Clin Infect Dis*. 1994;19:500-12.
 32. 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;305:330-8.
 33. Rosen L. Dengue in Greece in 1927 and 1928 and the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever: new data and a different conclusion. *Am J Trop Med Hyg*. 1986;35:642-53.
 34. 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.
 35. Pryor MJ, Carr JM, Hocking H, Davidson AD, Li P, Wright PJ. Replication of dengue virus type 2 in human monocyte-derived macrophages: comparisons of isolates and recombinant viruses with substitutions at amino acid 390 in the envelope glycoprotein. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;65:427-34.
 36. Rico-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, Tovar D, Nisalak A. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology*. 1997;230:244-51.
 37. Diaz FJ, Black WC, Farfan-Ale JA, Lorono-Pino MA, Olson KE, Beaty BJ. Dengue virus circulation and evolution in Mexico: a phylogenetic perspective. *Arch Med Res*. 2006;37:760-73.
 38. Cologna R, Rico-Hesse R. American genotype structures decrease dengue virus output from human monocytes and dendritic cells. *J Virol*. 2003;77:3929-38.
 39. Kyle JL, Harris E. Global spread and persistence of dengue. *Annu Rev Microbiol*. 2008;62:71-92.
 40. Noisakran S, Perng GC. Alternate hypothesis on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever (DHF)/dengue shock syndrome (DSS) in dengue virus infection. *Exp Biol Med* (Maywood). 2008;233:401-8.
 41. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet*. 2008;371:500-9.
 42. Qi RF, Zhang L, Chi CW. Biological characteristics of dengue virus and potential targets for drug design. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2008;40:91-101.
 43. Leong AS, Wong KT, Leong TY, Tan PH, Wannakrairot P. The pathology of dengue hemorrhagic fever. *Semin Diagn Pathol*. 2007;24:227-36.
 44. Green S, Rothman A. Immunopathological mechanisms in dengue and dengue hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis*. 2006;19:429-36.
 45. Roehrig JT. Antigenic structure of flavivirus proteins. *Adv Virus Res*. 2003;59:141-75.
 46. Wu SF, Liao CL, Lin YL, Yeh CT, Chen LK, Huang YF, *et al*. Evaluation of protective efficacy and immune mechanisms of using a non-structural protein NS1 in DNA vaccine against dengue 2 virus in mice. *Vaccine*. 2003;21:3919-29.
 47. Basu A, Chaturvedi UC. Vascular endothelium: the battlefield of dengue viruses. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008;53:287-99.
 48. Pang T, Cardoso MJ, Guzman MG. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Immunol Cell Biol*. 2007;85:43-5.
 49. Chaturvedi UC, Agarwal R, Elbishbishi EA, Mustafa AS. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000;28:183-8.
 50. Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC. Immunopathogenesis of dengue virus infection. *J Biomed Sci*. 2001;8:377-88.
 51. Luplertlop N, Missé D, Bray D, Deleuze V, Gonzalez JP, Leardkamolkarn V, *et al*. Dengue-virus-infected dendritic cells trigger vascular leakage through metalloproteinase overproduction. *EMBO Rep*. 2006;7:1176-81.
 52. Luplertlop N, Misse D. MMP cellular responses to dengue virus infection-induced vascular leakage. *Jpn J Infect Dis*. 2008;61:298-301.

53. Liu CC, Huang KJ, Lin YS, Yeh TM, Liu HS, Lei HY. Transient CD4/CD8 ratio inversion and aberrant immune activation during dengue virus infection. *J Med Virol.* 2002;68:241-52.
54. Mabalirajan U, Kadiravan T, Sharma SK, Banga A, Ghosh B. Th(2) immune response in patients with dengue during defervescence: preliminary evidence. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72:783-5.
55. Placheril JG. Dengue fever: diagnosis, prevention & control. *Nurs J India.* 2004;95:281-4.
56. De Paula SO, Fonseca BA. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Braz J Infect Dis.* 2004;8:390-8.
57. Yu L, Nomaguchi M, Padmanabhan R, Markoff L. Specific requirements for elements of the 5' and 3' terminal regions in flavivirus RNA synthesis and viral replication. *Virology.* 2008;374:170-85.
58. Sadon N, Delers A, Jarman RG, Klungthong C, Nisalak A, Gibbons RV, *et al.* A new quantitative RT-PCR method for sensitive detection of dengue virus in serum samples. *J Virol Methods.* 2008;153:1-6.
59. Li Z, Khaliq M, Zhou Z, Post CB, Kuhn RJ, Cushman M. Design, synthesis, and biological evaluation of antiviral agents targeting flavivirus envelope proteins. *J Med Chem.* 2008;51:4660-71.
60. Lapphra K, Sangcharaswichai A, Chokeyhaibulkit K, Tiengrim S, Piriakarnsakul W, Chakorn T, *et al.* Evaluation of an NS1 antigen detection for diagnosis of acute dengue infection in patients with acute febrile illness. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60:387-91.
61. Perera R, Kuhn RJ. Structural proteomics of dengue virus. *Curr Opin Microbiol.* 2008;11:369-77.
62. Jessie K, Fong MY, Devi S, Lam SK, Wong KT. Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and *in situ* hybridization. *J Infect Dis.* 2004;189:1411-8.
63. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1992;30:545-51.
64. Lewis JG, Chang GJ, Lanciotti RS, Trent DW. Direct sequencing of large flavivirus PCR products for analysis of genome variation and molecular epidemiological investigations. *J Virol Methods.* 1992;38:11-23.
65. Saxena P, Dash PK, Santhosh SR, Shrivastava A, Parida M, Rao PL. Development and evaluation of one step single tube multiplex RT-PCR for rapid detection and typing of dengue viruses. *Virol J.* 2008;5:20-5.
66. Dos Santos HW, Poloni TR, Souza KP, Muller VD, Tremeschin F, Nali LC, *et al.* A simple one-step real-time RT-PCR for diagnosis of dengue virus infection. *J Med Virol.* 2008;80:1426-33.
67. Yong YK, Thayan R, Chong HT, Tan CT, Sekaran SD. Rapid detection and serotyping of dengue virus by multiplex RT-PCR and real-time SYBR green RT-PCR. *Singapore Med J.* 2007;48:662-8.
68. Gomes AL, Silva AM, Cordeiro MT, Guimarães GF, Marques ET Jr, Abath FG. Single-tube nested PCR using immobilized internal primers for the identification of dengue virus serotypes. *J Virol Methods.* 2007;145:76-9.
69. Kumarasamy V, Chua SK, Hassan Z, Wahab AH, Chem YK, Mohamad M, *et al.* Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. *Singapore Med J.* 2007;48:669-73.
70. Putnak JR, de la Barrera R, Burgess T, Pardo J, Dessy F, Gheysen D, *et al.* Comparative evaluation of three assays for measurement of dengue virus neutralizing antibodies. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;79:115-22.
71. Roehrig JT, Hombach J, Barrett AD. Guidelines for plaque-reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses. *Viral Immunol.* 2008;21:123-32.
72. Hapugoda MD, Batra G, Abeyewickreme W, Swaminathan S, Khanna N. Single antigen

- detects both immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies elicited by all four dengue virus serotypes. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14:1505-14
73. Anantapreecha S, A-Nuegoonpipat A, Prakrong S, Chanama S, Sa-Ngasang A, Sawanpanyalert P, Kurane I. Dengue virus cross-reactive hemagglutination inhibition antibody responses in patients with primary dengue virus infection. *Jpn J Infect Dis.* 2007;60:267-70.
 74. Berlioz-Arthaud A, Gurusamy A. Comparison of PanBio dengue IgM ELISA assay with pentax dengue IgM particle agglutination assay to evaluate factors affecting false positive results. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2008;39:55-61.
 75. De Souza VA, Tateno AF, Oliveira RR, Domingues RB, Araújo ES, Kuster GW, *et al.* Sensitivity and specificity of three ELISA-based assays for discriminating primary from secondary acute dengue virus infection. *J Clin Virol.* 2007;39:230-3.
 76. Kao CL, King CC, Chao DY, Wu HL, Chang GJ. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. *J Microbiol Immunol Infect.* 2005;38:5-16.
 77. Kalayanaroop S, Nimmannitya S. DHF case management. WHO Collaborating Centre for Case Management of Dengue/DHF/DSS. Bangkok: Bangkok Medical Publisher;2004.
 78. Kalayanaroop S, Chansiriwongs V, Nimmannitya S. Dengue patients at the Children's Hospital, Bangkok: a 5-year review. *Dengue Bulletin.* 2002;26:33-43.
 79. Edelman R. Dengue vaccines approach the finish line. *Clin Infect Dis.* 2007;45 Suppl 1: S56-60.
 80. Innis BL, Eckels KH. Progress in development of a live-attenuated, tetravalent dengue virus vaccine by the United States Army Medical Research and Materiel Command. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69(6 Suppl):1-4.
 81. Hatch S, Mathew A, Rothman A. Dengue vaccine: opportunities and challenges. *IDrugs.* 2008;11:42-5.
 82. Hombach J. Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advanced development stages. *Rev Panam Salud Publica.* 2007;21:254-60.
 83. Durbin AP, Karron RA, Sun W, Vaughn DW, Reynolds MJ, Perreault JR, *et al.* Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'-untranslated region. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65:405-13.
 84. Lai CJ, Monath TP. Chimeric flaviviruses: novel vaccines against dengue fever, tick-borne encephalitis, and Japanese encephalitis. *Adv Virus Res.* 2003;61:469-509.
 85. Ray D, Shi PY. Recent advances in flavivirus antiviral drug discovery and vaccine development. *Recent Patents Anti-Infect Drug Disc.* 2006;1:45-55.