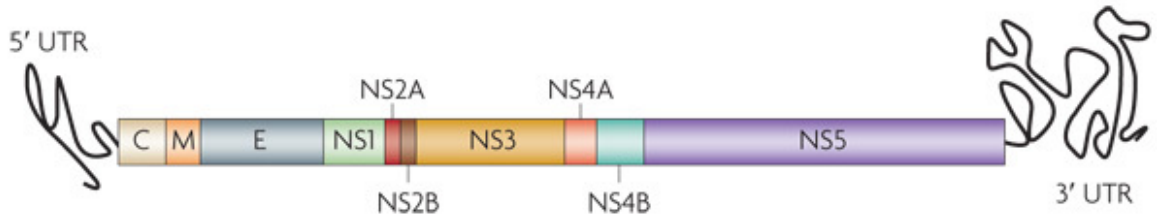
Dengue serotype

พ.ญ. พักต์เพ็ญ ศิริคุตต์
พ.ญ. ปิยรัชต์ สันตะรัตติวงศ์
หน่วยโรคติดเชื้อ กลุ่มงานกุมารเวชกรรม
สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

ในปัจจุบันโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีมีรายงานพบได้ทั่วโลก เกิดจากเชื้อ Dengue virus (DENV) ได้ทั้ง 4 ซีโรทัยพ์ คือ DENV1, DENV2, DENV3 และ DENV4 หลังจากการติดเชื้อแต่ละซีโรทัยพ์ จะเกิดภูมิคุ้มกันระยะยาวเฉพาะต่อซีโรทัยพ์ นั้นๆ แต่จะเกิดภูมิคุ้มกันต่อซีโรทัยพ์อื่นๆ ได้เพียงชั่วคราวหรือไม่มีเลย นอกจากนี้การติดเชื้อซีโรทัยพ์อื่นในครั้งต่อไป (secondary dengue infection) จะเกิดภาวะ antibody-dependent enhancement (ADE) คือ กระตุ้นให้เกิด virus antibody complexes จับกับ Fc receptor bearing cells ทำให้มี viremia เพิ่มขึ้น และเกิด cross reactivity กับ memory CD4+ และ CD8+ ทำให้เกิดการหลั่ง pro-inflammatory cytokine เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้มีการรั่วของ plasma ที่เป็นสาเหตุของ dengue hemorrhagic fever หรือ dengue shock syndrome[1]

ลักษณะของไวรัสเดงกี

DENV อยู่ใน genus *Flavivirus*, family *Flaviviridae* มี genome เป็น single stranded RNA ประกอบด้วย 5' และ 3' untranslated regions (UTRs) translate RNA เป็น single polyprotein ซึ่งประกอบด้วย 3 structural proteins ได้แก่ capsid [C], premembrane [M], envelope [E] และ 7 nonstructural proteins (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5)[2] (รูปที่ 1) ในขณะที่มีการติดเชื้อ ไวรัสจะเข้าไปเกาะติดกับ cell surface receptors ได้แก่ DC-SIGN, heparan sulfated และ เชื่อม virus particle กับ endosomal membrane หลังจากนั้นจะปล่อย RNA genome เข้าสู่ cell cytosol ต่อไป[3]



รูปที่ 1 Dengue virus genome

Dengue virus transmission cycles

วงจรการถ่ายทอดของ DENV จำแนกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ 1) **Endemic cycle** คือ วงจรของสายพันธุ์ endemic DENV เป็นสายพันธุ์ที่ติดเชื้อและแพร่กระจายอยู่ในมนุษย์ โดยมีพาหะนำโรคคือ ยุง *Ae. aegypti* เป็นสำคัญ นอกจากนั้นอาจจะเป็นยุง *Ae. albopictus* หรือ *Aedes* spp. อื่นๆ ได้ 2) **Sylvatic cycle** คือ วงจรของสายพันธุ์ sylvatic DENV ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แพร่กระจายอยู่ใน non-human primate reservoir hosts โดยมีพาหะนำโรคเป็นยุง *Aedes* ชนิดต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในป่าแถบแอฟริกาตะวันตกและประเทศมาเลเซีย วิวัฒนาการและนิเวศวิทยาของ endemic cycle และ sylvatic cycle ไม่ได้มีความเกี่ยวข้องกัน[2]

ความแตกต่างของแต่ละซีโรทัยพ์

DENV แต่ละซีโรทัยพ์ จะมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน แต่ความแตกต่างที่สำคัญและช่วยในการจำแนกซีโรทัยพ์คือ ลักษณะทางพันธุกรรม หรือ genome sequences ลักษณะของ phylogenies ของแต่ละซีโรทัยพ์ ที่จำแนกโดยวิธีการ reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ด้วยการตรวจ complete genome sequences ส่วน E gene (รูป 2)[2] พบว่าแต่ละซีโรทัยพ์ สามารถจำแนกจีโนทัยพ์ และมีการกระจายของเชื้อจากภูมิภาคต่างๆ ดังนี้

1. DENV1 มี 5 จีโนทัยพ์ คือ 1) genotype I เป็นสายพันธุ์จากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน และแอฟริกาตะวันออก 2) genotype II เป็นสายพันธุ์จากประเทศไทย ปี 1950 – 1969 3) genotype III เป็นสายพันธุ์ sylvatic จากประเทศมาเลเซีย 4) genotype IV เป็นสายพันธุ์จากหมู่เกาะแปซิฟิกตะวันตก และทวีปออสเตรเลีย และ 5) genotype V คือทุกสายพันธุ์จากทวีปอเมริกา สายพันธุ์จากแอฟริกาตะวันตก และสายพันธุ์ส่วนน้อยจากทวีปเอเชีย[2]

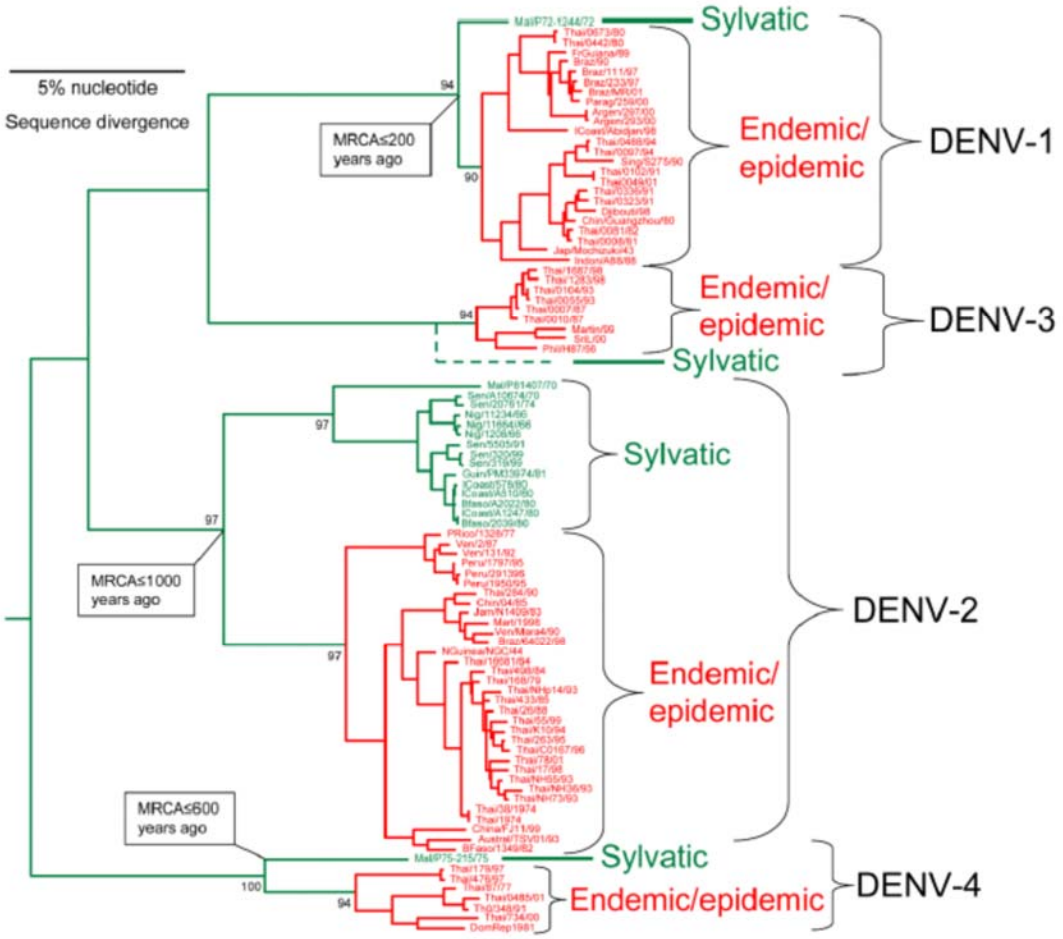
2. DENV2 มี 5 จีโนทัยพ์ คือ 1) Asian genotype I เป็นสายพันธุ์จากประเทศไทย และมาเลเซีย และ Asian genotype II เป็นสายพันธุ์จากประเทศเวียดนาม จีน ไต้หวัน ศรีลังกา และฟิลิปปินส์ 2) Cosmopolitan genotype เป็นสายพันธุ์ที่มีการกระจายกว้างทั่วโลก ได้แก่ ทวีปออสเตรเลีย แอฟริกาตะวันออกและตะวันตก หมู่เกาะแปซิฟิค และหมู่เกาะในมหาสมุทรอินเดีย อนุทวีปอินเดีย และ ภูมิภาคตะวันออกกลาง 3) American genotype เป็นสายพันธุ์จากประเทศในลาตินอเมริกา และเป็นสายพันธุ์ที่พบในทศวรรษ 1950 และ 1960 จากประเทศในแถบแคริเบียน อนุทวีปอินเดีย และหมู่เกาะแปซิฟิค 4) Southeast Asian/ American genotype เป็นสายพันธุ์จากประเทศไทย เวียดนาม และสายพันธุ์ที่พบในทวีปอเมริกาในระยะ 20 ปีหลัง 5) Sylvatic genotype เป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากคน ยุงป่า และการสำรวจลิงป่าในแถบแอฟริกาตะวันตกและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้[2]

3. DENV3 มี 4 จีโนทัยพ์ คือ 1) genotype I เป็นสายพันธุ์จากประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และสายพันธุ์ที่เพิ่งพบจากหมู่เกาะแปซิฟิคใต้ 2) genotype II เป็นสายพันธุ์จากประเทศไทย เวียดนาม และบังคลาเทศ 3)

genotype III เป็นสายพันธุ์จากประเทศศรีลังกา อินเดีย แอฟริกา ซามัว และสายพันธุ์จากประเทศไทยในปี 1962 4) genotype IV เป็นสายพันธุ์จากประเทศเปอร์โตริโก ประเทศในลาตินอเมริกาและอเมริกากลาง และหมู่เกาะตาฮีติ[2]

4. DENV4 มี 4 จีโนทัยพ์ คือ 1) genotype I เป็นสายพันธุ์จากประเทศไทย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา ญี่ปุ่น 2) genotype II เป็นสายพันธุ์จากประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย เกาะตาฮีติ ประเทศในแถบแคริเบียน และทวีปอเมริกา 3) genotype III เป็นสายพันธุ์อื่นๆ จากประเทศไทย 4) genotype IV เป็นสายพันธุ์ sylvatic จากประเทศมาเลเซีย[2]

ลักษณะทาง genome sequences ของแต่ละซีโรทัยพ์ จะถูกรวบรวมอยู่ในฐานข้อมูลของ NIH genetic sequence database หรือ GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)



รูป 2 ลักษณะของ phylogenetic tree ของ dengue virus strains จำแนกตาม dengue serotypes[2]

ในทางคลินิกและในการศึกษาวิจัยด้านไวรัสวิทยา การแยกซีโรทัยพ์ของ DENV มีหลายวิธี ได้แก่

1. Virus isolation และแยกซีโรทัยพ์โดยวิธีการ type specific monoclonal antibody immunofluorescence staining หรือ reverse transcriptase PCR (RT-PCR)

2. RT-PCR และ/หรือ nucleotide sequencing

3. Serotype specific antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

4. Plaque reduction neutralization test

5. Envelope/ membrane (E/M) specific capture IgM ELISA

6. NS1 serotype specific IgM & IgG ELISA

7. Recombinant antigens based immunoblot strips dotted with the B domains of dengue virus serotype 1 to 4

วิธีที่ 1 และ 2 เป็นการ identify serotype specific antigenic determinant หรือ nucleotide sequences ใน acute phase serum samples ส่วนวิธีที่ 3-7 เป็นการ identify dengue virus serotype specific IgM หรือ IgG antibodies ใน acute และ convalescent phase serum samples วิธีที่มักจะใช้อ้างอิงในการศึกษาวิจัยต่างๆ คือวิธี RT-PCR

จากการศึกษาของ Xu H และคณะ ศึกษาการจำแนก DENV1 โดยวิธีตรวจ serotype specific antigen capture ELISA โดยใช้ monoclonal antibodies ที่จำเพาะต่อ NS1 protein ของ DENV1 จาก 462 serum specimens พบว่า มีความไว (sensitivity) เมื่อเทียบกับวิธี RT-PCR อยู่ที่ร้อยละ 82 และมีความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 98.9 โดยที่ไม่มี cross reactivity กับ DENV ซีโรทัยพ์อื่น Japanese encephalitis virus และ Yellow fever virus[4]

จากการศึกษาของ Shu PY และคณะ ศึกษาวิธีการตรวจ E/M capture IgM ELISA และ NS1 capture IgM ELISA พบว่า การทดสอบนี้มี cross reaction ระหว่างซีโรทัยพ์ได้ โดยที่มีค่าความจำเพาะของการทดสอบสำหรับ primary infection มากกว่า secondary infection กล่าวคือ ค่าความจำเพาะของ E/M capture IgM ELISA ใน primary infection อยู่ที่ร้อยละ 86.1 ขณะที่ใน secondary infection อยู่ที่ร้อยละ 47.6 และ NS1 capture IgM ELISA ใน primary infection อยู่ที่ร้อยละ 83.3 ส่วนใน secondary infection มีค่าความจำเพาะร้อยละ 42.9 หากถ้าใช้ทั้ง 2 tests ร่วมกัน จะมีค่าความจำเพาะใน primary infection อยู่ที่ร้อยละ 98.6 ส่วนใน secondary infection อยู่ที่ร้อยละ 61.9[5]

จากการศึกษาของ Ludolfs D และคณะ ศึกษาวิธีการตรวจ dengue antibody IgM และ IgG ต่อ B domain ของ glycoprotein E ของ DENV แต่ละซีโรทัยพ์ สำหรับ IgM antibody ซึ่งตรวจด้วยวิธี μ-capture enzyme linked immunosorbent assay และ IgG antibody ตรวจด้วยวิธี indirect immunofluorescence test พบว่า มีค่าความไวร้อยละ 89.4 และมีความจำเพาะร้อยละ 96.5 ของการตรวจแต่ละซีโรทัยพ์ แต่มีข้อเสียคือ มี cross reactivity ระหว่าง DENV แต่ละซีโรทัยพ์ได้[6]

ในเดือนตุลาคม ปีค.ศ. 2013 มีรายงานพบ Dengue serotype 5 จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยอายุ 37 ปี อาชีพชาวนา ที่โรงพยาบาลในรัฐ Sarawak ประเทศมาเลเซีย ในปีค.ศ. 2007 ในตอนแรกนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการติดเชื้อ

น่าจะมีสาเหตุมาจาก sylvatic dengue virus serotype 4 แต่หลังจากที่ตรวจพบว่า สิ่งส่งตรวจดังกล่าวไม่ตอบสนองต่อ dengue 4 diagnostic test จึงทำการตรวจ genetic sequence ใหม่ พบว่ามีลักษณะแตกต่างจาก sylvatic dengue virus serotype 4[7]

รายงานการพบดังกล่าวทำให้มีการอภิปรายอย่างกว้างขวาง นักวิทยาศาสตร์บางส่วนยังมีข้อสงสัยว่าจะเป็นซีโรทัยพ์ใหม่หรือเป็นเพียง variant ของ 1 ใน 4 serotype เดิม[8] และแม้ว่าการทำ genetic sequence จะพบความแตกต่างจนอาจจะนับเป็น DENV ซีโรทัยพ์ 5 แต่ลักษณะของ transmission เป็น sylvatic cycle คือ แพร่กระจายอยู่ใน non-human primate reservoir มีการติดต่อและพบในคนเพียง 1 รายงานเท่านั้น ซึ่งยังไม่สามารถเข้ามาสู่คนอย่างต่อเนื่องจนมีการถ่ายทอดแบบ endemic cycle คือติดเชื้อและแพร่กระจายต่อเนื่องในมนุษย์ได้

ในปัจจุบันการติดเชื้อ DENV ในคนจึงยังคงได้รับการยอมรับว่ามีเพียง 4 ซีโรทัยพ์เท่านั้น แต่การรายงานของ DENV ซีโรทัยพ์ 5 จะยังเป็นข้อมูลที่สำคัญและควรติดตามเฝ้าระวัง โดยเฉพาะรายงานการแยกเชื้อได้ในมนุษย์ ซึ่งหากสามารถมีวงจรการถ่ายทอดในคนได้อย่างต่อเนื่อง ก็อาจจะมีความสำคัญในการสร้างวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อชนิดนี้ต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Guzman MG. Dengue. The lancet. 2015; 385:453-65.

2. Weaver SC, Vasilakis N. Molecular evolution of dengue viruses: contributions of phylogenetics to understanding the history and epidemiology of the preeminent arboviral disease. Infect Genet Evol. 2009; 9:523-40.

3. Kostyuchenko VA, Chew PL, Ng TS, Lok SM. Near-atomic resolution cryo-electron microscopic structure of dengue serotype 4 virus. J Virol. 2014; 88:477-82.

4. Xu H, Di B, Pan YX, Qiu LW, Wang YD, Hao W, et al. Serotype 1-specific monoclonal antibody-based antigen capture immunoassay for detection of circulating nonstructural protein NS1: Implications for early diagnosis and serotyping of dengue virus infections. J Clin Microbiol. 2006; 44:2872-8.

5. Shu PY, Chen LK, Chang SF, Su CL, Chien LJ, Chin C, et al. Dengue virus serotyping based on envelope and membrane and nonstructural protein NS1 serotype-specific capture immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays. J Clin Microbiol. 2004; 42:2489-94.

6. Ludolfs D, Schilling S, Altenschmidt J, Schmitz H. Serological differentiation of infections with dengue virus serotypes 1 to 4 by using recombinant antigens. J Clin Microbiol. 2002; 40:4317-20.

7. **Mustafa MS, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. Med J Armed Forces India. 2015; 71:67-70.**

8. **da Silva Voorham JM. A possible fifth dengue virus serotype. Ned Tijdschr Geneeskd. 2014; 158: A7946. [Article in Dutch]**