

อุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสซิกาในผู้ป่วยที่สงสัยไข้เดงกี (ผลการรายงานเบื้องต้น)

จุไร วงศ์สวัสดิ์*

ปฐมา สุภรา*

สมนมาลย์ อุกยมกุล*

สุมาลี ชะนะมา[†]

กุลกัญญา โชคไพบูลย์กิจ[‡]

ผู้รับผิดชอบบทความ: จุไร วงศ์สวัสดิ์

บทคัดย่อ

บทนำ การติดเชื้อไวรัสซิกาที่เกี่ยวข้องกับโอกาสการเกิดภาวะศีรษะเล็กแต่กำเนิด เป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่ทั่วโลกให้ความสำคัญในช่วงทศวรรษนี้ เชื้อซิกาเป็นเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสเช่นเดียวกับเชื้อไวรัสเดงกี และมีอาการทางคลินิกในระยะเฉียบพลันคล้ายคลึงกับไข้เดงกี (dengue fever) ด้วย ข้อมูลอุบัติการณ์ของการติดเชื้อซิกาในประเทศไทยยังมีจำกัด และเป็นที่ยังสงสัยว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อซิกาอาจไม่ได้รับการวินิจฉัยเนื่องจากอาการไม่จำเพาะ รวมถึงไม่ได้มีการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นประจำ การวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสซิกาในผู้ป่วยที่มีอาการคล้ายไข้เดงกี **ระเบียบวิธีศึกษา** เป็นการศึกษาเชิงระบาดวิทยา แบบไปข้างหน้า ในช่วงระหว่างวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2559 – วันที่ 31 สิงหาคม พ.ศ. 2560 โดยผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยไข้เดงกี ทั้งผู้ป่วยนอกและผู้ป่วยใน ทุกช่วงอายุ ที่สถาบันบำราศนราดูร ที่ยินดีเข้าร่วมวิจัย จะได้รับการตรวจปัสสาวะเพื่อหาสารพันธุกรรมของไวรัสซิกา และหลังป่วยประมาณ 2 สัปดาห์จะได้รับการตรวจซีโรโลยีเพื่อหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสซิกาและเดงกี โดยวิธี ELISA **ผลการศึกษา** ผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยไข้เดงกีเข้าร่วมโครงการ 73 ราย เป็นผู้ป่วยใน 64 ราย ผู้ป่วยนอก 9 ราย เป็นเด็ก (อายุน้อยกว่า 15 ปี) 46 ราย ผู้ใหญ่ 27 ราย (เด็ก:ผู้ใหญ่ 1.7:1) พบการติดเชื้อไวรัสซิกา 3 ราย ซึ่งยืนยันโดยการพบสารพันธุกรรมของไวรัสซิกาในปัสสาวะ ทั้งหมดเป็นผู้ใหญ่และเป็นผู้ป่วยนอก คิดเป็นอุบัติการณ์ร้อยละ 4.1 โดยพบในช่วงเดือนมิถุนายน-สิงหาคม ผลการตรวจพบระดับ anti-zika IgG ที่ 2 สัปดาห์หลังป่วย พบว่าเป็นบวกทั้ง 3 ราย (ค่าเฉลี่ย cutoff titer = 4.43 unit, range 2.6–6.9 unit) ส่วนระดับ anti-zika IgM เป็นบวก (titer 2.9 unit), ก้ำกึ่ง (titer 0.9 unit) และเป็นลบ (titer 0.4 unit) อย่างละ 1 รายตามลำดับ และผล anti-dengue IgG และ IgM titer เป็นลบทั้งสามราย **สรุป** ผู้ป่วยที่มีอาการคล้ายไข้เดงกี แท้จริงแล้วอาจเป็นการติดเชื้อไวรัสซิกา แม้อัตราที่ไม่สูง และ anti-zika IgM มีความไวในการวินิจฉัยโรคต่ำ ผู้ป่วยในกลุ่มเสี่ยงเช่นหญิงตั้งครรภ์ที่มีอาการคล้ายไข้เดงกีควรได้รับการตรวจหาเชื้อไวรัสซิกา

คำสำคัญ: การติดเชื้อไวรัสซิกา, ไข้เดงกี

*สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

[†]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

[‡]ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

**Abstract Zika Incidence among Patients with Suspected Dengue Fever (Preliminary Report)**

Jurai Wongsawat*, Patama Suttha*, Sumonmal Utayamakul*, Sumalee Chanama†, Kulkanya Chokephaibulkit‡

* Bamrasnaradura Infectious Diseases Institute, Department of Diseases Control, Ministry of Public Health

† National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

‡ Department of Pediatrics, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

Corresponding author: Jurai Wongsawat, Juraiw@hotmail.com

Introduction: Zika virus infection and its consequences have become increasingly concerned recently. As a member of Flaviviruses, zika virus shares some clinical dengue fever manifestations. The actual burden of zika virus infection in Thailand is unclear, and could be underestimated due to non-specific clinical pictures and the diagnostic testing has not been routinely available. We aim to study the zika incidence among the suspected dengue fever patients. **Methodology:** From December 2016 to August 2017, adult and children who had clinical diagnosis of dengue fever at Bamrasnaradura Infectious Diseases Institute were prospectively enrolled. After informed consent, a urine sample would be collected for zika molecular testing by polymerase chain reaction (PCR). At 2 weeks later, a blood sample was collected for zika and dengue serologic tests by ELISA. **Results:** A total of 73 suspected dengue fever patients were enrolled; 64 were hospitalized, 46 cases were children (< 15 years of age). The ratio of children to adult was 1.7:1. There were 3 confirmed zika-infected cases by urine PCR, a 4.1% incidence. All were adult treated as outpatients. The cases were found during June–August. All 3 cases had positive anti zika IgG (mean titer of 4.43 unit, range: 2.6–6.9 unit), but anti-zika IgM was found to be positive (titer 2.9 unit), indeterminate (titer 0.9 unit) and negative (0.4 unit), one case each. All had negative anti-dengue IgG or IgM titer. **Conclusions:** The patients presented with dengue fever may actually had zika infection, although at low rate. The anti-zika IgM was not useful in making diagnosis. High risk group such as pregnant women who presented with dengue fever should be tested for zika infection.

*Keywords: Zika virus, dengue fever***บทคัดย่อและเหตุผล**

โรคติดเชื้อไวรัส Zika (Zika virus disease) เกิดจากการติดเชื้อไวรัส Zika (ZIKV) ซึ่งเป็นไวรัสในตระกูลฟลาวิไวรัส (flavivirus) จำพวกเดียวกับไวรัสเดงกี ไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี ไวรัสเวสต์ไนล์ และไวรัสไข้เหลือง ถูกแยกเชื้อได้ครั้งแรกจากน้ำเหลืองของลิงริซัส (Rhesus) เมื่อปี พ.ศ. 2490 ในปาซิกา ประเทศยูกันดา⁽¹⁾ หลังจากนั้นมียุทธศาสตร์การติดเชื้อไวรัสซิกาแพร่จากทวีปเอเชียและแอฟริกา จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2550 ที่เกิดการระบาดใหญ่ที่ Yap, Micronesia⁽²⁾ และต่อเนื่องมาที่หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิกใต้⁽³⁾ จากนั้นจึงลามมาถึงทวีปอเมริกาใต้ในปลายปี พ.ศ. 2557⁽⁴⁾ และต่อมาก็ระบาดไปทั่วอเมริกาใต้และอเมริกากลาง องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ประกาศว่า การติดเชื้อไวรัสซิกาที่

สัมพันธ์กับความผิดปกติของทารกในครรภ์แบบ microcephaly และความผิดปกติทางระบบประสาทในคนเป็นภาวะฉุกเฉินทางสาธารณสุขระหว่างประเทศเมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559⁽⁵⁾ ซึ่งข้อมูลในระยะต่อมายืนยันว่าการติดเชื้อไวรัสซิกาในหญิงตั้งครรภ์ก่อให้เกิดภาวะ congenital microcephaly ในทารก⁽⁶⁻⁸⁾ และสัมพันธ์กับการเกิดความผิดปกติทางระบบประสาทที่รุนแรงในคน ได้แก่ โรค GBS และความผิดปกติทางระบบประสาทอื่นๆ ได้⁽⁹⁻¹⁰⁾ ล่าสุดเมื่อวันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ. 2559 องค์การอนามัยโลกได้ประกาศให้การติดเชื้อไวรัสซิกาและการเกิดผลกระทบที่ตามมา ยังคงเป็นภาวะที่มีความสำคัญทางสาธารณสุขและควรมีการบริหารจัดการในระยะยาวอย่างต่อเนื่องต่อไป⁽¹¹⁾ ทั้งนี้เป็นที่ทราบกันดีว่าประเทศในแถบอเมริกาใต้เป็นดินแดนที่มีโรคไข้เลือดออกและโรคซิกุนคุนยาเป็นโรค

ประจำถิ่นอยู่แต่เดิม⁽¹²⁾ ไวรัสซิกาจึงถือเป็นเรื่องสำคัญบริเวณพื้นที่ควรจะมีระบบการเฝ้าระวังที่ดี โดยเฉพาะประเทศในภูมิภาคที่เป็นพื้นที่ระบาดของไวรัสเดงกีที่มีอยู่กลายเป็นพาหะเช่นกัน

สำหรับในทวีปเอเชีย ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่มีรายงานการติดเชื้อไวรัสซิกาเป็น sporadic cases ได้แก่ อินโดนีเซีย⁽¹³⁾ กัมพูชา⁽¹⁴⁾ ฟิลิปปินส์⁽¹⁵⁾ และประเทศไทย⁽¹⁶⁾ ซึ่งเรายังไม่สามารถทราบอุบัติการณ์ที่แท้จริงของโรคได้ โดยรายงานจากอินโดนีเซียระบุว่าการติดเชื้อไวรัสซิกาล่าคล้ายคลึงกับการติดเชื้อไวรัสเดงกีมาก⁽¹³⁾ ล่าสุดมีรายงานการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสซิกาในประเทศสิงคโปร์⁽¹⁷⁾ แสดงให้เห็นว่า ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความเสี่ยงสูงต่อการระบาดของไวรัสซิกา

โรคติดเชื้อไวรัสซิกานี้ นอกจากมียุงลาย (Aedes) เป็นพาหะนำโรคที่สามารถแพร่ติดต่อได้โดยการถูกยุงลายที่มีเชื้อไวรัส Zika กัด และมีการแพร่เชื้อจากแม่สู่ลูก (ที่เกี่ยวข้องกับภาวะศีรษะเล็กแต่กำเนิด) ได้แล้ว ยังสามารถแพร่ทางเพศสัมพันธ์ ทางกาให้เลือด และการติดเชื้อในสถานพยาบาล⁽¹⁸⁾ อีกด้วย

องค์การอนามัยโลก รายงานสถานการณ์โรคติดเชื้อไวรัส Zika ทั่วโลกในขณะนี้ เมื่อวันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2560 ว่า มีประเทศที่พบผู้ติดเชื้อไวรัส Zika ทั้งหมดจำนวน 148 ประเทศ WHO ได้จัดประเทศไทยอยู่ในกลุ่มที่ 2 คือ เป็นพื้นที่ที่มีหลักฐานว่าพบเชื้อไวรัสนี้ ก่อนปี พ.ศ. 2558 (ค.ศ. 2015) และยังมีพบเชื้ออย่างต่อเนื่อง (Category 2: Area either with evidence of virus circulation before 2015 or area with ongoing transmission that is no longer in the new or reintroduction phase, but where there is no evidence of interruption)⁽¹⁹⁾

สำหรับสถานการณ์ในประเทศไทยนั้น ในภาพรวมในปี พ.ศ. 2560 (สัปดาห์ที่ 33, 18 สิงหาคม พ.ศ. 2560) พบผู้ติดเชื้อรวมทั้งสิ้น 324 ราย จาก 32 จังหวัด พบผู้ป่วยเพิ่มขึ้นในกรุงเทพมหานครและกระจายหลายเขตรวมทั้งปริมณฑล ซึ่งมีความเสี่ยงที่โรคจะแพร่กระจายไปยัง

จังหวัดต่างๆ จากการเดินทางของประชาชนเข้าออกกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จึงถือว่าทุกจังหวัดในประเทศไทยมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค⁽²⁰⁾

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสซิกาโดยทั่วไปจะมีอาการคล้ายไข้เลือดออกที่ไม่รุนแรงหรือไข้เดงกี (แต่จะมีสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีผื่น เยื่อบุตาอักเสบ ปวดข้อ มากกว่า) ตามระบบเฝ้าระวังโรค (รายงาน 506) ของประเทศไทย จะมีการรายงานไข้เลือดออก เป็น 3 กลุ่ม ตามอาการทางคลินิก ได้แก่ 1. Dengue Fever (ไข้เดงกี) ซึ่งอาจมีอาการไม่รุนแรง 2. Dengue Haemorrhagic Fever (DHF, ไข้เลือดออกเดงกี) และ 3. Dengue Shock Syndrome (DSS, เดงกีช็อก) โดยในกลุ่ม DHF และ DSS นี้ จะมีลักษณะเฉพาะของโรคคือ มีการรั่วของพลาสมา ซึ่งไม่พบในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสซิกา และเนื่องจากทั้งไวรัสซิกาและไวรัสเดงกีเป็นเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสเหมือนกันทำให้ยากต่อการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการตรวจระดับภูมิคุ้มกันจะมีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกัน (cross reaction) รวมถึงอาจพบผลบวกปลอมจากการเกิดปฏิกิริยาข้ามกับเชื้อฟลาวิไวรัสอื่นด้วย การตรวจยืนยันโรคติดเชื้อไวรัสซิกาทางห้องปฏิบัติการที่เป็นมาตรฐานสากลในปัจจุบันคือ การตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสซิกาด้วยเทคนิค Real-time RT-PCR ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง^(21,22)

ในหลายประเทศที่การติดเชื้อไวรัสเดงกีเป็นการติดเชื้อประจำถิ่น (endemic area) ผู้ป่วยที่มีอาการคล้ายไข้เดงกี (dengue fever) ไม่ได้รับการตรวจทางห้องปฏิบัติการทุกราย ทำให้อาจมีการวินิจฉัยไวรัสซิกาเป็นไวรัสเดงกีหรือไวรัสซิกุนกุนยาได้ เช่นเดียวกับประเทศไทยซึ่งเป็นแหล่งการระบาดของไวรัสเดงกีและไม่ได้มีการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการทุกราย สถานการณ์ความชุกที่แท้จริงของการติดเชื้อไวรัสซิกาในประเทศไทยจึงเป็นเรื่องสำคัญ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสซิกาในผู้ป่วยที่มีอาการไข้เดงกี (dengue fever) ซึ่งข้อมูลส่วนนี้จะทำให้เราสามารถประเมินสถานการณ์การติดเชื้อไวรัสซิกาในประเทศไทยได้อย่างเหมาะสมยิ่งขึ้น และ

ส่งผลให้สามารถกำหนดมาตรการการป้องกันและควบคุมได้อย่างทันสถานการณ์ เพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อไวรัสซิกาที่รุนแรงต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

การศึกษานี้เป็นการวิจัยแบบ prospective observational study ประชากรเป้าหมายคือผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยเป็นไข้เดงกี ทั้งผู้ป่วยนอกและผู้ป่วยใน ทุกช่วงอายุ ที่สถาบันบำราศนราดูร ในช่วงระหว่างวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2559 – 31 กรกฎาคม พ.ศ. 2561 (1 ปี 8 เดือน) โดยนิยามของผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยเป็นไข้เดงกีในการศึกษานี้ จะต้อง มีอย่างน้อย 1 ข้อ จาก 2 ข้อนี้ คือ 1. อาการทางคลินิก ได้แก่ ไข้ร่วมกับอาการอย่างน้อย 1 ใน 3 อาการ คือ ปวดศีรษะหรือปวดเมื่อยตามตัว ปวดข้อ และผื่น หรือ 2. ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ Dengue NS1 antigen, Anti Dengue IgM, Anti Dengue IgG เป็นบวก อย่างใดอย่างหนึ่ง ผู้ป่วยจะไม่ถูกคัดเข้าโครงการวิจัย ในกรณีที่อาการทางคลินิกหรือผลตรวจทางห้องปฏิบัติการยืนยันเป็นไข้เลือดออก ได้แก่ 1. ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ Dengue NS1 Ag, Dengue IgM และ Dengue IgG เป็นบวก ทั้ง 3 รายการ หรือ 2. แพทย์ให้การวินิจฉัยสุดท้ายเป็นไข้เลือดออกเดงกี (Dengue Hemorrhagic Fever – DHF at any grade of severity) หรือไข้เลือดออกเดงกีที่ช็อค (Dengue Shock Syndrome - DSS) โดยมีหลักฐานการรั่วของพลาสมา (เช่น การเพิ่มขึ้นของ Hct หรือมีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด) นอกจากนี้ผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเป็นภูมิคุ้มกันบกพร่อง ที่อาจมีความผิดปกติในการสร้าง antibody ก็จะไม่ได้รับเข้าในโครงการวิจัย

อาสาสมัครที่เข้าโครงการวิจัยนั้น หลังได้รับการชี้แจงโครงการวิจัยและเซ็นเอกสารยินดียอมรับเข้าร่วมวิจัยแล้ว จะต้องเก็บปัสสาวะ (spot urine) ประมาณ 10-15 มิลลิลิตร ใส่ในภาชนะปลอดเชื้อ (sterile) นำส่งห้องปฏิบัติการโดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส จากนั้นจะมีการเตรียมตัวอย่างและปั่นไวรัสด้วยเทคนิค ultrasensitive ตามด้วย

การสกัดสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอด้วยน้ำยาสกัด viral RNA kit แล้วนำไปตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสซิกา ด้วยน้ำยาสำเร็จรูป Zika virus (RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0) (Altona, Hamburg, Germany) ด้วยเทคนิค real-time PCR ได้รับมาตรฐานเครื่องหมาย CE และ IVD (in vitro diagnostic use) โดยเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมจำนวน 45 รอบ ตามวิธีการที่ระบุไว้ในชุดทดสอบ โดยใช้เครื่อง Bio-Rad CFX96 ที่ห้องปฏิบัติการของสถาบันบำราศนราดูร กรณีที่ real-time RT-PCR ตรวจพบ zika virus specific RNA คือ มีค่า Ct ก็สามารถแปลผลได้เลย เนื่องจากในชุดทดสอบมี internal control ที่ใช้ทดสอบว่าปฏิกิริยา PCR มี inhibitor หรือไม่ และในการแปลผลตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างควบคุมลบต้องได้ผลตามที่กำหนด (ทั้งนี้ ไม่ได้มีการทำ conventional RT-PCR และ/หรือ genome sequencing)

อาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม จะได้รับการนัดติดตามของโครงการวิจัยเพื่อตรวจเลือดหา anti-zika IgM และ anti-dengue IgG/IgM 1 ครั้ง ในวันที่ 18 ± 2 วัน นับจากวันที่เริ่มป่วย ส่งตัวอย่างตรวจที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายอิมมูโนวิทยาไวรัส กลุ่มงานไวรัสวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ การตรวจ Anti-Zika IgM และ IgG ใช้ชุดทดสอบ EUROIMMUN Anti Zika IgM/IgG enzyme-linked immunosorbent assay ซึ่งเป็นของ Luebeck, Germany การรายงานผล คำนวณเป็นอัตราส่วน และแปลผลดังนี้ $< 0.8 = \text{negative}$, > 0.8 และ $< 1.1 = \text{borderline}$, $\geq 1.1 = \text{positive}$ (ข้อมูลชุดทดสอบ Euroimmun IgM/IgG มีความจำเพาะเจาะจงสูงที่ 92.5% และความไว [sensitivity against PRNT] ที่ 83-92%)⁽²³⁾

การตรวจ Anti Dengue IgM/IgG ใช้ Anti Dengue IgM/IgG antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay และใช้ tissue cultured antigen รายงานผลเป็นค่า ELISA unit ของ IgM และ IgG ซึ่งกำหนดค่า cutoff ของ IgM เท่ากับ 40 unit และ IgG เท่ากับ 100

unit การแปลผลการติดเชื้อไวรัสเดงกี จะพิจารณาจากค่า ELISA unit ร่วมกับวันที่เริ่มป่วย/มีไข้ ในกรณีมีตัวอย่างเดียว จะมีแนวทางการแปลผลดังในตารางที่ 1 (ซึ่งผล validation การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสเดงกี กรณีตัวอย่างเดียวของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสเดงกีดังกล่าว พบความไวร้อยละ 95.8 ความจำเพาะร้อยละ 100)⁽²⁴⁾

การศึกษานี้ ได้ผ่านการพิจารณาให้ดำเนินการได้โดย คณะกรรมการจริยธรรมงานวิจัย สถาบันบำราศนราดูร

ผลการศึกษาเบื้องต้น

ผลจากการดำเนินการศึกษาระหว่างวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2559 – 31 สิงหาคม พ.ศ. 2560 มีผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยไข้เดงกีเข้าร่วมโครงการ 73 ราย เป็นผู้ป่วยเด็ก (อายุน้อยกว่า 15 ปี) 46 ราย ผู้ป่วยผู้ใหญ่ 27 ราย ในเด็ก 46 ราย นั้นเป็นเด็กชาย:เด็กหญิง เท่ากับ 1.4:1 อายุเฉลี่ย 4.9 ± 6.1 ปี ในผู้ใหญ่ 27 รายเป็นชาย:หญิง เท่ากับ 0.9:1 อายุเฉลี่ย 41.8 ± 18.5 ปี ระยะเวลาป่วยเฉลี่ยที่ผู้ป่วยมาพบ

Table 1 Interpretation of dengue antibody test results (modified from 24)

IgM(units)	IgG(units)	Interval between clinical onset and blood collection (day)	Interpretation of dengue antibody test results
< 40	> 100	-	Flavivirus infection
	50 – 99	-	Uninterpretable
	< 50	< 10 or > 30	Uninterpretable
			10 – 30

Table 2 Clinical characteristics of confirmed Zika cases (positive urine PCR for Zika)

No.	Gender	Age (yrs.)	D*; Clinical presentations	Clinical resolved (D*) and laboratory results (D*)	RDT** for Dengue (D*)	Anti Zika IgM [†] (D*)	Anti Zika IgG [†] (D*)	Anti Dengue IgM [†] (D*)	Anti Dengue IgG [†] (D*)
1	Female	23	D2; fever (38.3 ⁰ C), headache, myalgia, rash, conjunctival injection	Fever (D3), conjunctival injection (D5), rash (D6), arthralgia (ankle) (D3 – D6): Hct 37%, WBC 5,500/mm ³ , N 64%, L 24%, platelet 280,000/mm ³ (D4)	NS1 – Neg (D2)	2.9 unit (D18)	3.8 unit (D18)	5 unit (D18)	42 unit (D18)
2	Male	24	D2; no fever, headache, rash	rash (D8): Hct 49%, WBC 5,600/mm ³ , N 58%, L 31%, platelet 142,000/mm ³ (D2)	NS1 – Neg IgM – Neg IgG – Neg (D2)	0.9 unit (D18)	2.6 unit (D18)	4 unit (D18)	3 unit (D18)
3	Male	57	D1; no fever, headache, rash, arthralgia (knee, ankle), conjunctival injection	rash (D7), arthralgia (D7) : Hct 47%, WBC 4,300/mm ³ , N 47%, L 33%, platelet 199,000/mm ³ (D1)	NS1 – Neg IgM – Neg IgG – Pos (D1)	0.4 unit (D17)	6.9 unit (D17)	3 unit (D17)	59 unit (D17)

D* = Day of illness RDT ** = Rapid diagnostic tests [†]ratio < 0.8 = negative, ≥ 0.8 และ < 1.1 = borderline, ≥ 1.1 = positive [‡]cutoff IgM เท่ากับ 40 unit และ IgG เท่ากับ 100 unit

แพทย์ = 3.5 ± 2.3 วัน

ในจำนวนนี้ พบการติดเชื้อไวรัสซิกา 3 ราย (ร้อยละ 4.1) เป็นผู้ใหญ่อายุทั้งหมด ลักษณะอาการทางคลินิกและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 2

จากตาราง จะเห็นว่า ผล anti-dengue IgG และ IgM cut off titer เป็นลบ (IgM < 40 unit และ IgG < 100 unit ทั้งสามราย (เป็นการเจาะเลือดหลังจากเริ่มป่วยแล้ว 18 วัน) ส่วนใน 70 รายที่ไม่พบว่าติดเชื้อไวรัสซิกา มีค่า cutoff ratio ของ anti-zika IgM เป็นลบ 69 ราย (ค่าเฉลี่ย ratio = 0.18 ± 0.13 unit) และมี 1 รายที่ระดับ anti-zika IgM เป็น borderline (ratio = 0.8)

วิจารณ์และข้อยุติ

ผลจากการศึกษานี้ พบว่า อุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสซิกาในผู้ป่วยที่มีอาการไข้แดงที่มีอยู่ประมาณร้อยละ 4 ซึ่งน้อยกว่าที่เคยมีรายงาน ทั้งนี้ มีรายงานจากประเทศบราซิลว่า ในการตรวจหาเชื้อที่ก่อให้เกิดการระบาดในผู้ป่วยที่มีอาการคล้ายไข้เลือดออก (dengue like illness) เมื่อเดือนเมษายน 2558 โดยการตรวจเลือดผู้ป่วย 77 ราย พบว่า มีการติดเชื้อไวรัสแดงที่ไวรัสซิกาและไวรัสซิกุนกุนยาจำนวน 9, 31 และ 1 ราย ตามลำดับ หรือคิดเป็นร้อยละ 11.7, 40.2 และ 1.3 ตามลำดับ และพบการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อไวรัสแดงที่และเชื้อไวรัสซิกาจำนวน 2 ราย (ร้อยละ 2.6)⁽²⁵⁾ และอีกรายงานจากบราซิลเช่นกัน มีการตรวจเลือดผู้ป่วยผู้ใหญ่ 100 ราย ที่สงสัยติดเชื้อแดงที่ โดยมาด้วยอาการไข้น้อยกว่า 5 วัน ในช่วงเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ 2559 พบติดเชื้อซิกา 13 ราย อาการหลักคือไข้และปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ มีเพียง 2 รายที่มีผื่น ไม่มีรายใดมี conjunctivitis⁽²⁶⁾

สำหรับอาการทางคลินิกนั้น จากผลการศึกษานี้พบว่า คล้ายคลึงกับที่เคยมีรายงานมาก่อน^(2,16) กล่าวคือ มีผื่น ไข้ต่ำและปวดข้อเป็นอาการหลัก (พบได้มากกว่าร้อยละ 50) พบอาการตาแดงรองลงมา และในการศึกษานี้ ทั้ง 3 ราย มีปวดศีรษะ จากการติดตามอาการพบว่ามิใช่แค่ช่วงสั้นๆ

ประมาณ 1–3 วัน อาการผื่นและปวดข้อจะหายไปช้าที่สุด (ประมาณ 7 วัน) อาการปวดข้อจะปวดที่ข้อใหญ่ๆ เช่น ข้อเข่า ข้อเท้า ส่วนผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการนั้น มีลักษณะคล้ายคลึงกับการติดเชื้อไวรัสทั่วไป ทั้ง 3 รายมีผลการตรวจ Dengue NS1 แอนติเจนเป็นลบ ซึ่ง Dengue NS1 ค่อนข้างมีความไวที่ต่ำมากสำหรับการติดเชื้อแดงที่

จากการศึกษานี้ พบว่า ทั้ง 3 รายนี้มีผลการตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสซิกาชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA (EUROIMMUN) เป็นบวกทั้ง 3 ราย (หลังป่วยประมาณ 18 วัน) ส่วนผลการตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสซิกาชนิด IgM พบว่าเป็นบวกเพียง 1 ราย และพบว่าระดับ Anti-Zika IgG สูงกว่า Anti-Zika IgM ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลงานวิจัยที่เปรียบเทียบชุดทดสอบการตรวจหาเชื้อไวรัสซิกาที่เป็น commercial 5 ชนิด และพบว่า Anti-Zika IgM ของ EUROIMMUN มีความไวเพียง 37% อย่างไรก็ตามถ้าพิจารณาร่วมกับ Anti-Zika IgG ก็พบว่า ความไวเพิ่มขึ้นเป็น 82%⁽²⁷⁾ ซึ่งคงต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไป

มีรายงานที่พบว่าการตรวจทางระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสซิกา (Zika virus IgM) มีค่าเฉลี่ยของวันที่ตรวจพบหลังจากเริ่มมีอาการป่วยอยู่ที่ประมาณ 15 วัน และร้อยละ 95 ของผู้ป่วยมีการตรวจพบ Zika virus IgM ภายในระยะเวลาประมาณ 30 วัน⁽²⁸⁾ ทางศูนย์ควบคุมโรคแห่งสหรัฐอเมริกา (US CDC) แนะนำเกี่ยวกับการตรวจระดับภูมิคุ้มกัน IgM ในเลือด (ซีรัม) ต่อเชื้อไวรัสซิกา เดงที่และซิกุนกุนยา ว่า ในกรณีที่ไม่มีตัวอย่างเลือดที่เก็บในระยะวันแรกๆ ที่เริ่มป่วย อาจพิจารณาตรวจระดับภูมิคุ้มกันในเลือดที่หลังจากเริ่มป่วยนานกว่าหรือเท่ากับ 14 วัน และคาดว่า ระดับภูมิคุ้มกัน IgM ในเลือดต่อเชื้อไวรัสซิกาจะตรวจพบในช่วงหลังจากเริ่มมีอาการแล้วประมาณ 2-12 สัปดาห์ และแนะนำให้ส่งตรวจ Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT) เพื่อยืนยันการวินิจฉัยต่อไป⁽²⁹⁾

ผู้ป่วยทั้ง 3 รายที่ได้รับการยืนยันการติดเชื้อไวรัสซิกาในการศึกษานี้ มีผล Dengue IgM และ IgG cut off titer เป็นลบ (IgM < 40 unit และ IgG < 100 unit) ทั้งสามราย



(ซึ่งเป็นการเจาะเลือดหลังจากเริ่มป่วยแล้ว 18 วัน) อย่างไรก็ตาม ถ้าพิจารณาการแปลผลการติดเชื้อไวรัสเดงกีในกรณีมีตัวอย่างเดียวที่ดูค่า ELISA unit ร่วมกับวันที่เริ่มป่วย/มิใช่ตามแนวทางการแปลผลในตารางที่ 1 พบว่า สามารถสรุปผู้ป่วยรายที่ 1 และรายที่ 2 ได้ว่า ไม่ติดเชื้อเดงกี แต่ผู้ป่วยรายที่ 3 (ค่า Dengue IgG = 59 unit) ไม่สามารถระบุได้ว่าไม่ติดเชื้อเดงกี และเป็นข้อจำกัดของการตรวจทางซีโรโลยีในการศึกษานี้เพียง 1 ครั้ง โดยเฉพาะกรณีถ้าเป็นการติดเชื้อเดงกีครั้งแรก อาจมี Dengue IgM/IgG ขึ้นมาได้ โดยพบว่า สำหรับการติดเชื้อเดงกีครั้งแรก Dengue IgM จะมีระดับสูงสุดประมาณสัปดาห์ที่ 2 หลังการติดเชื้อและลดลงจนไม่สามารถตรวจเจอในช่วง 2-3 เดือน ส่วน Dengue IgG นั้น จะตรวจพบภายหลังในระดับต่ำๆ⁽³⁰⁾

ประเด็นเรื่อง การตรวจทางซีโรโลยีที่อาจพบผลบวกปลอม อันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาข้ามกับเชื้อฟลาวิไวรัสอื่น เช่น ไวรัสเดงกี นั้น จากการศึกษาไม่พบว่าเกิดปฏิกิริยาข้ามกับไวรัสเดงกี (ตรวจโดยวิธี reference ELISA โดยใช้ Tissue cultured antigen) อย่างไรก็ตาม จากการทบทวนเอกสารทางวิชาการ พบว่า การเกิดปฏิกิริยาข้ามกันระหว่างไวรัสซิกาและไวรัสเดงกีนั้น ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ ซึ่งมีทั้งข้อมูลที่สนับสนุนและคัดค้าน และควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป^(31,32)

ข้อมูลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ผู้ป่วยในเวชปฏิบัติทั่วไปที่แพทย์ให้การวินิจฉัยไข้เดงกีนั้น มีโอกาสเป็นการติดเชื้อซิกาไม่มาก (ประมาณร้อยละ 4) ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือ ไม่ได้มีการทำ genome sequencing ของไวรัสซิกา ไม่ได้มีการตรวจหาฟลาวิไวรัสตัวอื่น และมีการตรวจซีโรโลยีเพียง 1 ครั้ง

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข ขอขอบคุณทีมงานวิจัยที่สถาบันบาราศนราดูลที่ให้การสนับสนุนในกระบวนการงานวิจัย รวมถึงผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ที่สถาบันบาราศนราดูลที่เข้าร่วมในงานวิจัย

References

1. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 1952;46(5):509-20.
2. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med 2009 Jun 11;360(24):2536-43.
3. Cao-Lormeau VM, Musso D. Emerging arboviruses in the Pacific. Lancet 2014 Nov 1;384(9954):1571-2.
4. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. Emerg Infect Dis 2015 Oct;21(10):1885-6.
5. WHO Director-General summarizes the outcome of the Emergency Committee regarding clusters of microcephaly and Guillain-Barré syndrome, 1 February 2016. <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2016/emergency-committee-zika-microcephaly/en/>
6. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. N Engl J Med 2016 Dec 15;375(24):2321-34.
7. Calvet G, Aguiar RS, Melo ASO, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. Lancet Infect Dis 2016 Jun;16(6):653-60. doi:10.1016/S1473-3099(16)00095-5.
8. Martines RB, Bhatnagar J, Keating MK, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Gary J, et al. Notes from the field: Evidence of Zika virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal losses--Brazil, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2016 Feb 19;65(6):159-60. doi: 10.15585/mmwr.mm6506e1.
9. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastere S, Roche C, Vanhomwegen J, et al. Guillain-Barre Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. Lancet 2016;387(10027):1531-9
10. Carteaux G, Maquart M, Bedet A, Contou D, Brugieres P, Fourati S, et al. Zika Virus Associated with Meningoencephalitis. N Engl J Med 2016;374(16):1595-6.
11. World Health Organization. Fifth meeting of the Emergency Committee under the International Health Regulations (2005) regarding microcephaly, other neurological disorders and Zika virus. 18 November 2016. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2016/zika-fifth-ec/en/>



12. PAHO. Epidemiological alert: Chikungunya and Dengue fever in the Americas. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=1&Itemid=40734.
13. Perkasa A, Yudhaputri F, Haryanto S, Hayati RF, Ma'roef CN, Antonjaya U, et al. Isolation of Zika virus from febrile patient, Indonesia. *Emerg Infect Dis* 2016;22:924-5.
14. Heang V, Yasuda CY, Sovann L, Haddow AD, Travassos da Rosa AP, Tesh RB, et al. Zika virus infection, Cambodia, 2010. *Emerg Infect Dis* 2012;18(2):349-51.
15. Alera MT, Hermann L, Tac-An IA, Klungthong C, Rutvisuttinunt W, Manasatienkij W, et al. Zika virus infection, Philippines, 2012. *Emerging Infectious Diseases* 2015;21(4):722-4.
16. Buathong R, Hermann L, Thaisomboonsuk B, Rutvisuttinunt W, Klungthong C, Chinnawirotpisan P, et al. Detection of Zika virus infection in Thailand, 2012-2014. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2015;93(2):380-3.
17. Singapore Zika Study Group. Outbreak of Zika virus infection in Singapore: an epidemiological, entomological, virological, and clinical analysis. *Lancet Infect Dis* 2017 Aug;17(8):813-21.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Transmission. Available from: <https://www.cdc.gov/zika/transmission/index.html>.
19. World Health Organization. Zika virus classification tables. 31 August 2017. Available from: <http://www.who.int/emergencies/zika-virus/classification-tables/en/>.
20. Bureau of Vector Borne Diseases, Bureau of Epidemiology, Ministry of Public Health, Thailand. Situation of Zika virus infection, Thailand, 33rd wk, 18 August 2017. http://www.thaivbd.org/n/uploads/file/file_PDF/Zika%20virus%20disease/2560/week%2033.pdf. (in Thai)
21. World Health Organization. Laboratory testing for Zika virus infection. Interim guidance 23 March 2016. Available from: WHO/ZIKV/LAB/16.1. <http://www.who.int/csr/resources/publications/zika/laboratory-testing/en/>.
22. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Interim Guidance for Health Care Providers Caring for Pregnant Women with Possible Zika Virus Exposure - United States (Including U.S. Territories), July 2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017 Jul 28;66(29):781-793. Available from: https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/66/wr/mm6629e1.htm?s_cid=mm6629e1_w.
23. L'Huillier AG, Hamid-Allie A, Kristjanson E, Papageorgiou L, Hung S, Wong CF, et al. Evaluation of Euroimmun Anti-Zika Virus IgM and IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Zika Virus Serologic Testing. *J Clin Microbiol* 2017 Aug;55(8):2462-71.
24. National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. SOP detection of Dengue antibody by ELISA using Tissue cultured antigen. 26 October 2016. (in Thai)
25. Pessôa R, Patriota JV, Lourdes de Souza Md, Felix AC, Mamede N, Sanabani SS. Investigation into an outbreak of dengue-like illness in Pernambuco, Brazil, revealed a co-circulation of Zika, Chikungunya, and Dengue Virus Type 1. *Medicine (Baltimore)* 2016 Mar;95(12):e3201. doi: 10.1097/MD.00000000000003201.
26. Fernanda Estofolete C, Terzian AC, et al. Clinical and laboratory profile of Zika virus infection in dengue suspected patients: A case series. *J Clin Virol* 2016 Aug;81:25-30. doi: 10.1016/j.jcv.2016.05.012.
27. Safronetz D, Sloan A, Stein DR, Mendoza E, Barairo N, Ranadheera C, et al. Evaluation of 5 commercially available Zika Virus Immunoassays. *Emerg Infect Dis* 2017 Sep;23(9):1577-80.
28. Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Doyle K, Munoz-Jordan J, Santiago GA, Klein L, et al. Persistence of Zika Virus in body fluids - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2017 Feb 14. doi: 10.1056/NEJMoa1613108. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28195756.
29. Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic tests for Zika Virus. Available from: <https://www.cdc.gov/zika/hc-providers/types-of-tests.html>. Accessed 14 April 2017.
30. Nisalak A. Laboratory diagnosis of Dengue Virus infections. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2015;46 Suppl 1:55-76.
31. Christofferson RC. Zika Virus emergence and expansion: Lessons learned from Dengue and Chikungunya may not provide all the answers. *Am J Trop Med Hyg* 2016 Jul 6;95(1):15-8.
32. Huzly D, Hanselmann I, Schmidt-Chanasit J, Panning M. High specificity of a novel Zika virus ELISA in European patients after exposure to different flaviviruses. *Euro Surveill* 2016 Apr 21;21(16). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.16.30203. PubMed PMID: 27126052.