บทที่ 2
ทบทวนเอกสาร

ไวรัส เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น อนุภาคของไวรัสประกอบด้วยกรดนิวคลิอิกซึ่งเป็น DNA (deoxyribonucleic acid) หรือ RNA (ribonucleic acid) ลักษณะโครงสร้างของไวรัสเป็นอนุภาคที่ไม่จัดว่าเป็นเซลล์ ภายในอนุภาคไม่มีไรโบโซม ไม่มีส่วนประกอบย่อยอื่นๆ ที่จะสร้างโปรตีนและสารสำคัญในการดำรงพันธุ์ จำเป็นต้องอาศัยกลไกของเซลล์มีชีวิตในการเพิ่มจำนวน (obligate intracellular parasite) ในสภาพนอกเซลล์ ไวรัสจะมีชีวิตอยู่ในระยะเวลาหนึ่งแต่ไม่เพิ่มจำนวน ดังนั้นจึงไม่สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ต้องเพาะเลี้ยงในเซลล์สิ่งมีชีวิต (จันทพงษ์, 2540)

Herpes simplex virus (HSV)

Herpes simplex virus (HSV) เป็นเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคเริม จัดอยู่ใน Family *Herpesviridae* Subfamily *Alphaherpesvirinae* Genus *Simplexvirus* เชื้อใน Family *Herpesviridae* เป็นเชื้อที่รู้จักกันมานานมีสมาชิกมากกว่า 100 ชนิด การติดเชื้อ herpes simplex virus มีลักษณะพิเศษ คือ เมื่อติดเชื้อครั้งแรกแล้ว จะยังคงมีการติดเชื้อคงอยู่ในโฮสต์ไปตลอด (persistent infection) ยีโนมของไวรัสจะอยู่ในสภาพ episome ในนิวเคลียสของเซลล์ในสภาพการติดเชื้อแอบแฝง (latent infection) โดยมีการแสดงออกของยีนเพียงบางชุด และเชื้ออาจเพิ่มจำนวนเป็นครั้งคราว (productive infection) (จันทพงษ์, 2540)

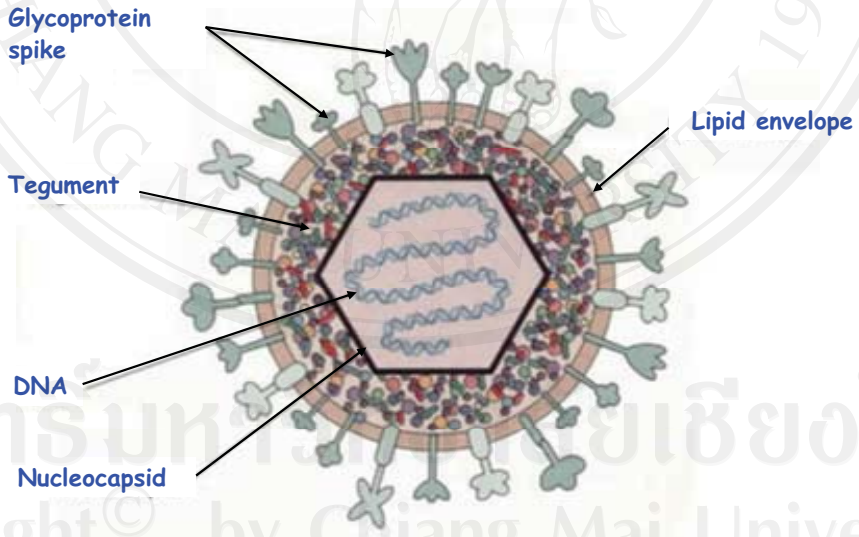
เชื้อ Herpes simplex virus แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ Herpes simplex virus 1(HSV-1) และ Herpes simplex virus 2 (HSV-2) ไวรัสทั้ง 2 ชนิดมีแอนติเจนบางส่วนที่คล้ายกันและทำปฏิกิริยา cross-react ซึ่งกันและกัน เนื่องจากมีกรดนิวคลีอิกเหมือนกันประมาณ 50% แต่อย่างไรก็ตาม ไวรัสทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุลของ DNA ปริมาณของ guanine-cytosine และคุณสมบัติทางชีวภาพอื่นๆ (ปราณี, 2542)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณสมบัติทั่วไปของ Herpes simplex virus

เชื้อไวรัสก่อโรคเริมชนิดที่ 1 (HSV-1, oral หรือ non genital type) และชนิดที่ 2 (HSV-2 หรือ genital type) มีคุณสมบัติทั่วไป ดังนี้

1. เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน มีรูปร่างทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 120-200 nm
2. มี icosahedral nucleocapsid ล้อมรอบด้วย tegument ซึ่งเป็น matrix protein ประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 15-20 ชนิด (Carter and Saunders, 2007; Wagner *et al*., 2006)
3. โครงสร้างชั้นนอกสุดเป็น lipid envelope ที่มี glycoprotein ยื่นออกจาก envelope เป็น spike จำนวน 600-750 spikes ซึ่งประกอบมาจาก glycoprotein มากกว่า 10 ชนิด ดังนั้นจึงพบว่ามี spike หลายขนาดแตกต่างกัน เช่น gB, gC, gD
4. ยีโนมเป็น DNA สายคู่ เส้นตรง ยาวประมาณ 125-240 kbp น้ำหนักโมเลกุล 80-150 x 10^6 ดัลตัน ปริมาณของเบส guanine+cytosine 31-75% เชื้อไวรัส HSV-1 และ HSV-2 มี DNA homology ถึง 50% (ภาพ 1)



ภาพ 1 โครงสร้างไวรัสก่อโรคเริม (ที่มา: Flint *et al*., 2004)

5. การเพิ่มจำนวนของ viral DNA และการประกอบกันเป็น nucleocapsid เกิดขึ้นภายในนิวเคลียส

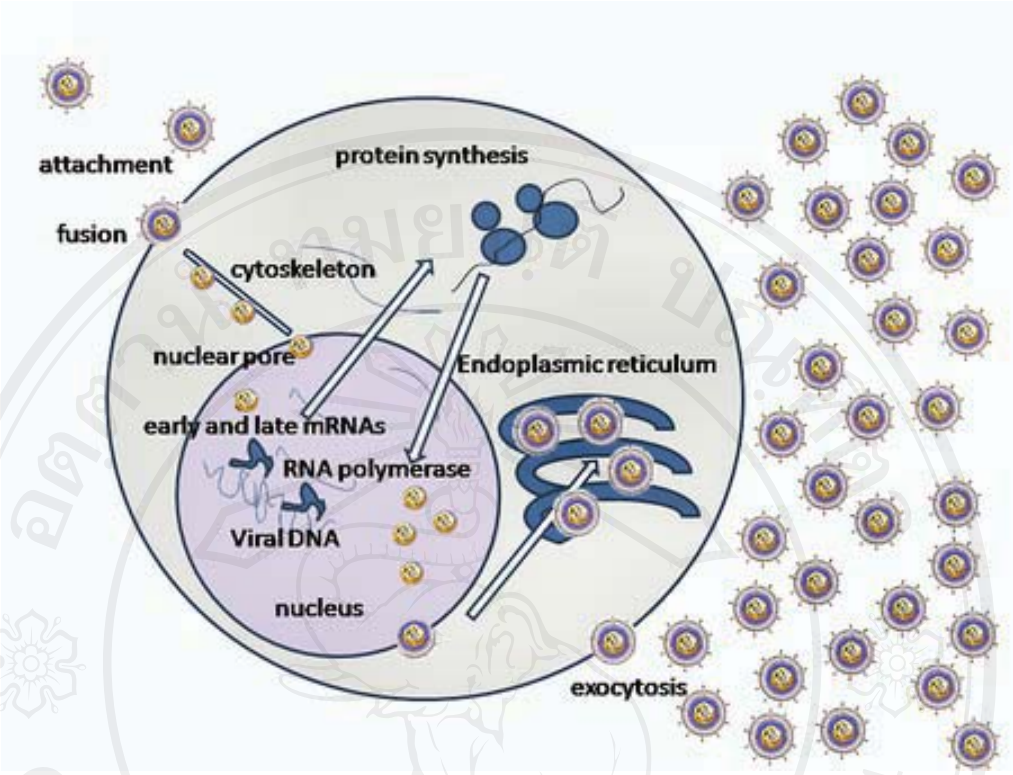
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. ไวรัสออกจากเซลล์โดยการ budding โดยได้ส่วน envelope จาก nuclear membrane ของโฮสต์
7. ไวรัสจะติดเชื้อเพิ่มจำนวนในเซลล์ที่มี receptor ที่จำเพาะ (permissive cell) โดยเป็นการติดเชื้อทำลายเซลล์ และพบ intranuclear inclusion body ขนาดใหญ่ที่เรียกว่า cowdry type A inclusion body ที่สามารถติดสี acidophilic ได้
8. อนุภาคไวรัสไม่ทนทานต่อสภาพแวดล้อม ถูกทำลายโดยกรด สารละลายไขมัน เช่น อีเทอร์ แอลกอฮอล์ และยาฆ่าเชื้อ เช่น 0.1% เมอร์ไธโอเลต 1% ฟีนอล และ 1.5% ฟอร์มาลิน
9. เชื้อไวรัสสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อแอบแฝง (latent infection) หลังจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสครั้งแรกสิ้นสุดลง หรือสิ้นสุดสภาวการณ์ดำเนินโรคแล้ว อาจเป็นการติดเชื้อโดยไม่มีอาการของโรคก็ตาม เชื้อไวรัสจะไม่ถูกกำจัดให้หมดไปจากร่างกาย แต่จะยังคงแฝงอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์บางชนิดในรูปของ DNA สายคู่ที่เป็นวงกลมปิด เชื้อไวรัส HSV-1 ส่วนใหญ่จะแฝงตัวอยู่ที่ trigeminal nerve ganglion มีรายงานว่าพบที่ superior cervical และ vagus ganglion ด้วย ส่วน HSV-2 มักติดเชื้อแอบแฝงที่ sacral nerve ganglion ซึ่งในระยะนี้จะตรวจไม่พบเชื้อ เนื่องจากมียีนบางส่วนเท่านั้นที่สามารถแสดงออกได้ และหากถูกกระตุ้น (reactivate) ด้วยสิ่งเร้าบางอย่าง เช่น แสงแดด แสงอัลตราไวโอเลต เซลล์ประสาทได้รับอันตราย การตัดเส้นประสาท (neurectomy) การมีรอบเดือน การมีเพศสัมพันธ์ ความเครียดและวิตกกังวล ได้รับยาระงับประสาท มีภาวะติดเชื้อ อาการไข้ หรือภาวะที่ร่างกายอ่อนแอ เชื้อไวรัสก็จะสามารถเพิ่มจำนวนได้อีก โดยอาจทำให้เกิดอาการของโรคหรือไม่ก็ได้ ไวรัสจะออกจากปมประสาทมาตาม sensory nerve ไปยังบริเวณที่เลี้ยงด้วยเส้นประสาทแขนงนั้น โดยรอยโรคมักเกิดซ้ำที่ตำแหน่งเดิม ภาวะที่ทำให้เกิดโรคอีกครั้งนี้เรียกว่า การติดเชื้อซ้ำ (recurrent infection) ซึ่งภาวะนี้จะเกิดขึ้นบ่อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณไวรัสและประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (จันทพงษ์, 2540; พิไลพันธ์และสมศักดิ์, 2540; Carter and Saunders, 2007)

กระบวนการเพิ่มจำนวนของ Herpes simplex virus

โดยทั่วไปกระบวนการเพิ่มจำนวนของไวรัส HSV สามารถเกิดขึ้นได้ในเซลล์ที่มีชีวิตของมนุษย์ นอกจากนั้นยังสามารถทำการเพิ่มจำนวนของไวรัสนี้ได้ในเซลล์เพาะเลี้ยงที่เหมาะสมภายในห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย โดยมีขั้นตอนต่างๆ ในการเพิ่มจำนวนดังนี้ (นงลักษณ์และปรีชา, 2544; พิไลพันธ์, 2540) (ภาพ 2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 2 กระบวนการเพิ่มจำนวนของ Herpes simplex virus (ที่มา : Graham, 2007)

1. การเกาะติด (Attachment)

ไวรัส HSV ใช้ส่วนเกาะติด (attachment site) คือ glycoprotein B หรือ C ซึ่งอยู่นอกสุดของอนุภาคเกาะกับ receptor ที่มีความจำเพาะกันบนผิวเซลล์ คือ Heparan sulphate เป็นหลัก ต่อจากนั้นจะจับกับ receptor อื่นของเซลล์ เช่น nectins บางชนิด ที่ทำหน้าที่เป็น adhesion molecules

2. การเข้าสู่เซลล์ (Penetration)

ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นภายในระยะเวลาอันสั้น หลังจากที่ไวรัส HSV เข้าเกาะกับ receptor แล้วจะทำการเข้าสู่เซลล์โดยการหลอมเชื่อม (fusion) กับส่วนของ envelope ของไวรัส โดยไวรัสจะอาศัย fusion protein หลอมเชื่อม envelope กับ plasma membrane ซึ่งพบว่ามี glycoprotein เช่น glycoprotein B, H/L complex ที่มีบทบาทในขั้นตอนนี้ จากนั้น nucleocapsid และ โปรตีน tegument ก็จะถูกปล่อยเข้าสู่ไซโตพลาสซึม โดย nucleocapsid จะถูกเคลื่อนย้าย ไปยังบริเวณที่อยู่ใกล้กับ nuclear pore อย่างรวดเร็ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การปล่อยยีโนมออกจากแคปซิด (Uncoating)

ไวรัสจะปล่อยยีโนม ซึ่งมีลักษณะเป็น DNA สายตรงเส้นคู่ ซึ่งอยู่ภายใน nucleocapsid เข้าสู่ nucleus โดยผ่านทาง nuclear pore บริเวณ nuclear membrane พบว่าในขั้นตอนนี้มี VP16 ซึ่งเป็น tegument protein ผ่านเข้าสู่นิวเคลียสด้วย

4. การสังเคราะห์ mRNA และโปรตีน (Transcription และ Translation)

เมื่อ DNA ของไวรัสเข้าสู่ nucleus ของเซลล์แล้ว จะเปลี่ยนรูปร่างจากสายตรงเป็นรูปร่างวงกลมปิดทันที (covalently closed circular molecule) ในระยะนี้จะมีการสังเคราะห์ mRNA (transcription) และการสังเคราะห์โปรตีน (translation) สามารถแบ่งส่วนยีนของ Herpesvirus ที่มีการแสดงออก (expression) ได้เป็น 3 ระยะ ดังนี้

4.1 Immediate early gene (IE gene หรือ α gene) พบส่วนของ introns เพียงเล็กน้อยใน IE genes ในการแสดงออกของยีนนี้เริ่มจาก VP 16 ทำการกระตุ้น IE genes ซึ่ง VP16 ทำหน้าที่เป็น transcription factor จับกับโปรตีนของเซลล์คือ Oct-1 ซึ่งจับอยู่ตรงตำแหน่ง promoter ของแต่ละ IE genes และเมื่อถอดรหัส (translation) ได้ IE proteins 5 ชนิด ที่มีบทบาทเป็น transcription factor เพื่อทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (switching) การแสดงออกของยีน ไปเป็น E และ L genes ต่อไป

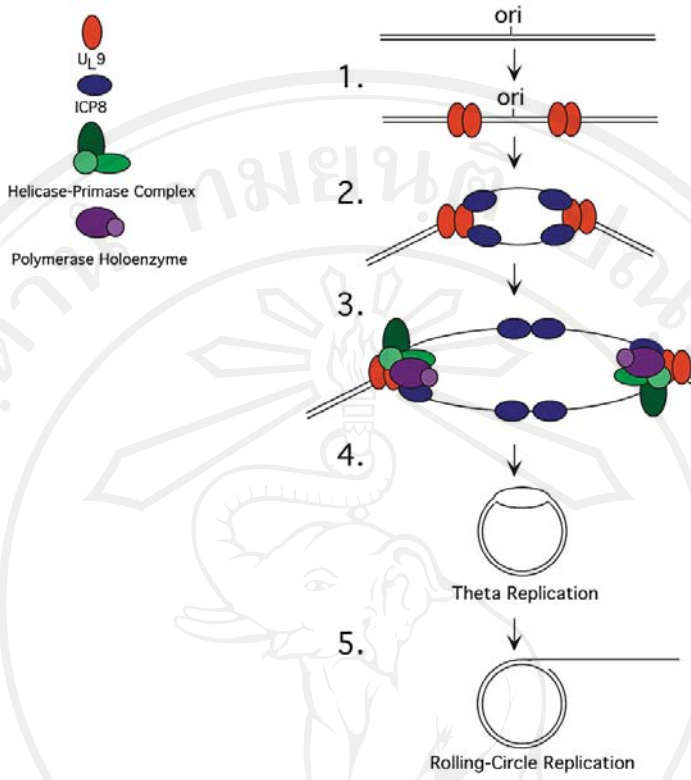
4.2 Early gene (E gene หรือ β gene) เป็นยีนที่มีการแสดงออกเป็น E proteins ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มจำนวนของ DNA ของไวรัส (replication)

4.3 Late gene (L gene หรือ γ gene) เมื่อมีการถอดรหัส (transcribes) เป็น L mRNAs และแปลรหัส (translation) เพื่อสร้างเป็น L proteins ซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรตีนโครงสร้างของไวรัส ได้เป็นส่วนของแคปซิด

5. การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกหรือการเพิ่มจำนวนของยีโนม (Replication)

กระบวนการเพิ่มจำนวนของ DNA ของไวรัส HSV นั้น แบ่งออกเป็น 2 กระบวนการหลักๆ คือการสังเคราะห์แบบ Theta replication แล้วจึงทำการสังเคราะห์แบบ Rolling circle replication โดยเริ่มจาก โปรตีน UL9 (The origin binding protein) จะเข้าไปจับอย่างจำเพาะกับบริเวณ origin of replication (ori_L หรือ ori_S) เพื่อเริ่มคลายสายของ DNA จากนั้นโปรตีน ICP8 (The single-stranded binding protein) เข้ามาช่วยจับเพื่อไม่ให้สาย DNA พันเกลียวกลับคืน นอกจากนี้ในขั้น replication forks ยังมีโปรตีนอีก 5 ชนิดที่เข้ามาช่วย จากนั้นจึงเริ่มการสังเคราะห์ DNA โดยเริ่มจากกระบวนการ Theta replication แล้วจึงเปลี่ยนไปสังเคราะห์ แบบ Rolling circle replication (ภาพ 3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3 การเพิ่มจำนวน DNA ของ HSV (ที่มา: Taylor *et al*, 2002)

6. การประกอบเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ (Maturation)

การประกอบตัวและการเจริญเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ (Assembly and maturation) เริ่มจาก DNA ของไวรัส HSV จะประกอบเข้าไปอยู่ภายในส่วน procapsid ตามแนวตั้งตรงของ icosahedral capsid เมื่อมีการรวมกันของยีโนม capsid protein และ internal protein เข้ากันเป็น nucleocapsid จากนั้น HSV จะได้ envelope โดยการ budding จาก nuclear membrane

7. การออกสู่ภายนอกเซลล์ (Release)

ส่วน envelope glycoproteins ของ HSV จะถูกสร้างจาก nuclear membrane และออกจากเซลล์ผ่านทาง endoplasmic reticulum และ golgi complex

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การติดเชื้อและพยาธิกำเนิดของไวรัส

เชื้อไวรัสเริมเข้าสู่ร่างกายโดยการสัมผัสอย่างใกล้ชิด ทางการหายใจ ปาก เพศสัมพันธ์ หรือเชื้อเข้าทางเยื่อบุ ทางรอยถลอกของผิวหนัง หรือติดต่อจากมารดาที่มีเชื้อสู่ทารก แต่ทารกที่ติดเชื้อผ่านรกขณะอยู่ในครรภ์พบได้น้อยมาก ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อขณะคลอด (พิไลพันธ์, 2538)

การติดเชื้อ HSV-1 พบบ่อยในบริเวณส่วนบนของร่างกาย พบเชื้ออยู่ใน vesicle หรือน้ำลาย สามารถติดต่อทางการสัมผัสใกล้ชิดโดยตรง หรือทางน้ำลาย ส่วนการติดเชื้อ HSV-2 พบบ่อยที่บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ แต่ก็อาจพบการติดเชื้อ HSV-1 ที่อวัยวะสืบพันธุ์ และการติดเชื้อ HSV-2 ที่ปากและลำคอได้ (จันทพงษ์, 2540)

ความรุนแรงของการติดเชื้อไวรัส โดยทั่วไปขึ้นอยู่กับ อายุ และเพศของผู้ติดเชื้อ ภาวะภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนของไวรัส นอกจากนี้คุณสมบัติของเซลล์ที่ติดเชื้อและปฏิกิริยาโต้ตอบของ host cell ทั้งที่จำเพาะและไม่จำเพาะต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ยังมีบทบาทสำคัญในการกำหนดความรุนแรงของโรคด้วย (จันทพงษ์, 2540)

ลักษณะการติดเชื้อของไวรัสก่อโรคเริม

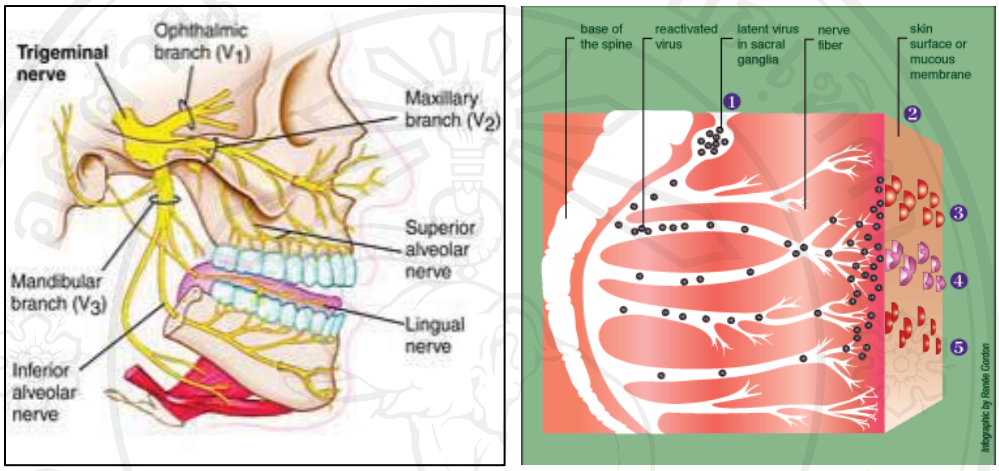
1. การติดเชื้อครั้งแรก (primary infection) มักจะมีอาการแสบและคัน นำมาก่อนเล็กน้อย แล้วมีตุ่มน้ำใสขนาด 2 – 3 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กันเป็นกลุ่ม โดยรอบจะเป็นผื่นแดง ต่อมาตุ่มน้ำใสนี้จะกลายเป็นสีเหลืองขุ่น แล้วแตกกลายเป็นสะเก็ด หายไปเองภายใน 1 – 2 สัปดาห์ โดยทั่วไประยะฟักตัวประมาณ 2-12 วัน การติดเชื้อแบบเฉียบพลันของ HSV-1 มักเกิดขึ้นที่บริเวณผิวหนังและเยื่อเมือกบริเวณปากหรือเยื่อบุผิวบริเวณกระจกตา เมื่อเชื้อเพิ่มจำนวนแล้วจะเดินทางเข้าสู่ปมประสาทรับความรู้สึกแบบ retrograde axonal transport ซึ่งเป็นไปตามการเคลื่อนไหวของ microtubule และ membrane-bound organelles ภายใน axon ส่วน HSV-2 มักพบบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งในเยื่อเมือกและผิวหนัง หลังการติดเชื้อสิ้นสุดลงร่างกายจะแสดงอาการหรือไม่ก็ตาม ไวรัสก็จะยังมีการแฝงตัวอยู่ในปมประสาท (บุญยศ, 2538)

2. การติดเชื้อซ้ำ (recurrent infection) ภายหลังจากการติดเชื้อครั้งแรก ไวรัสเริมจะเข้าไปอยู่ในเซลล์ประสาทที่ควบคุมบริเวณนั้น ไวรัสสามารถอยู่ได้ทั้งที่มีภูมิคุ้มกัน เมื่อร่างกายถูกกระตุ้น ไวรัสจะออกมาจากปมประสาททาง sensory nerve ไปยังบริเวณที่เลี้ยงด้วยเส้นประสาทแขนงนั้น รอยโรคมักเกิดซ้ำที่ตำแหน่งเดิม ซึ่งอาจมีสาเหตุจากไวรัสที่แอบแฝงอยู่ในร่างกาย(endogenous infection) ถูกกระตุ้นให้ปรากฏตัวออกมา มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น หรือเกิดจากการได้รับเชื้อจากภายนอกเข้าไปใหม่ (exogenous infection) ซึ่งภาวการณ์ติดเชื้อซ้ำนี้ สามารถเกิดได้แม้ขณะร่างกายมีระดับ neutralizing antibody ค่อนข้างสูง โดยร้อยละ 25 ของผู้มีไวรัสแอบแฝง ถ้าร่างกายถูกกระตุ้น ไวรัสที่อยู่ในปมประสาทจะเพิ่มจำนวน โดยการติดเชื้อซ้ำนี้จะทำให้เกิดอาการของโรคหรือไม่ก็ได้

การติดเชื้อแอบแฝงของ HSV-1 มักพบการติดเชื้อแอบแฝงที่ trigeminal nerve ganglion (ภาพ 4), superior cervical และ vagus ganglion โดยแบ่งได้ 3 ระยะ ได้แก่ ระยะ Establishment เป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเริ่มต้นติดเชื้อ, ระยะ Maintenance ซึ่งกรดนิวคลิอิกของไวรัสถูกเก็บไว้ภายใน host cells และระยะ Reactivation ยีนของไวรัสที่เกี่ยวข้องกับ replication จะแสดงออกอย่างสมบูรณ์และการติดเชื้อจะเข้าสู่ lytic cycle ในขั้นตอนนี้ด้วย โดยในระหว่างการติดเชื้อแอบแฝง ยีนต่างๆของ HSV-1 ประมาณ 70% จะไม่แสดงออก ยกเว้น Latency-Associated Transcript (LAT)



ภาพ 4 การติดเชื้อแอบแฝงของ HSV ที่บริเวณปมประสาท trigeminal nerve ganglion (ซ้าย) และ sacral nerve ganglion (ขวา) (ที่มา: Anonymous, 2008)

ส่วน HSV-2 มักพบบริเวณ sacral nerve ganglion หรือ lumbosacral dorsal root ganglion (ภาพ 4) เชื้อไวรัสจะออกจากปมประสาทมาตามเส้นประสาทรับความรู้สึก ไปยังบริเวณที่เลี้ยงด้วยปมประสาทแขนงนั้นและรอยโรคมักเกิดซ้ำที่ตำแหน่งเดิม เช่น ที่ผิวหนังหรืออวัยวะสืบพันธุ์ การเกิดรอยโรคซ้ำนี้ อาจมีปัจจัยเกี่ยวข้อง เช่น ความอ่อนล้า มีอาการไข้ ได้รับรังสีอุลตร้าไวโอเลต การบาดเจ็บจากการทำฟัน แปรงฟัน การติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร การมีประจำเดือน การตั้งครรภ์ ความผิดปกติที่เกี่ยวกับระบบเลือดซึ่งถ่ายทอดทางพันธุกรรม รวมทั้งความเครียดทางอารมณ์และความวิตกกังวล ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เชื้อไวรัสออกจากปมประสาทมายังบริเวณดังกล่าวได้ (บุญยศ , 2538)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะอาการทางคลินิก (ปราณี, 2542)

1. เหงือกและปากอักเสบ (acute gingivostomatitis) เป็นการติดเชื้อครั้งแรก และเป็นอาการที่พบได้บ่อย เกิดจาก HSV-1 พบมากในเด็กเล็กอายุระหว่าง 1-6 ปี โรคนี้เกิดได้ตลอดปี ระยะฟักตัว (incubation period) ประมาณ 2-12 วัน จะพบรอยโรคเป็น vesicle และแผลฝ้าขาวในบริเวณ

เยื่อบุข้างช่องปาก เหงือก เยื่อบุลำคอ และเพดานอ่อน อาจเกิดการอักเสบทั่วปาก มีไข้ เจ็บคอ มีต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอโต ในบางรายอาจลุกลามทำให้เกิด pharyngitis และ tonsillitis

2. เริมที่ริมฝีปาก (herpes labialis) หรือ fever blister หรือ cold sore เป็นการติดเชื้อซ้ำ เกิดจาก HSV-1 เนื่องจากมีการกระตุ้นเซลล์ประสาทของ trigeminal nerve ganglia ทำให้เชื้อไวรัสที่แฝงในปมประสาทถูกกระตุ้นให้เดินออกมาตามเส้นประสาท และเพิ่มจำนวนในเซลล์บริเวณที่เลี้ยงโดยเซลล์ประสาทนั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ริมฝีปาก และที่บริเวณรอยต่อระหว่างริมฝีปากกับผิวหนัง (mucocutaneous junction) พบ vesicles อยู่เป็นกลุ่ม และจะแตกภายใน 2-3 วัน เกิดเป็นแผลตกสะเก็ด จะหายเป็นปกติภายใน 8-10 วัน (ภาพ 5)

ภาพ 5 การติดเชื้อโรคเริมที่ริมฝีปาก (ที่มา : Whitley and Roizman, 2001)

3. กระจกตาและเยื่อบุตาอักเสบ (keratoconjunctivitis) เกิดจากการติดเชื้อ HSV-1 โดยมีการอักเสบที่เยื่อบุตา (conjunctivitis) ในกรณีที่เป็นการติดเชื้อครั้งแรก อาจพบ vesicles ที่เปลือกตาหรือที่ผิวหนังใกล้เคียงร่วมด้วยถ้ามีอาการเฉพาะที่เยื่อบุตาจะหายเร็ว ในบางรายเชื้อไวรัสอาจทำให้เกิดกระจกตาอักเสบ (keratitis) ซึ่งจะมีลักษณะของรอยโรคที่เฉพาะเป็นเส้นแตกแขนงคล้ายตัวอมีบา เรียก dendritic ulcer ผู้ป่วยมีอาการเจ็บปวด เคืองตา น้ำตาไหล มีต่อมน้ำเหลืองบริเวณหน้าหูโต ถ้าไม่มีการติดเชื้อแบคทีเรียซ้ำ อาการดังกล่าวจะหายภายใน 2-3 สัปดาห์ ประมาณ 25-50% ของผู้ป่วยที่เคยได้รับเชื้อ HSV-1 ที่ตามาแล้ว จะมีการติดเชื้อซ้ำภายใน 2 ปี ซึ่งมักจะพบรอยโรคที่กระจกตาเป็นส่วนใหญ่ ในรายที่มีอาการรุนแรง หรือมีการติดเชื้อซ้ำบ่อยอาจทำให้ตาบอดได้

4. การติดเชื้อของระบบประสาทกลาง อาการที่พบได้แก่ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (aseptic meningitis) และสมองอักเสบ (encephalitis) อาจเกิดจากการติดเชื้อครั้งแรก หรือติดเชื้อซ้ำ ซึ่งในกรณีที่ติดเชื้อซ้ำ ผู้ป่วยมักมีประวัติการเป็น herpes labialis และ herpes genitalis มาก่อน พบได้ทุกอายุ ในเด็กแรกเกิดและเด็กเล็ก การติดเชื้อเกิดจาก HSV-2 ส่วนเด็กโตและผู้สูงอายุ มักเกิดจาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

HSV-1 การติดเชื้อ HSV จะเกิดเฉพาะที่คือ ที่ temporal และ temporo-parietal lobe ข้างใดข้างหนึ่ง โดยเกิด hemorrhagic necrosis การเกิดโรคอย่างรวดเร็ว ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ไข้สูงลอย อาจคงอยู่นานถึง 2 สัปดาห์ ปวดศีรษะ ชัก มีอัมพาตครึ่งซีก และไม่รู้สึกตัว อัตราตายพบได้สูงถึงร้อยละ 60-80 และมากกว่าร้อยละ 90 ของผู้ป่วยที่รอดชีวิตมักมีอาการพิการทางสมอง

5. เริมที่อวัยวะสืบพันธุ์ (genital herpes) การติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจาก HSV-2 บางส่วนอาจเกิดจาก HSV-1 เกิดจากการติดต่อทางเพศสัมพันธ์ การติดเชื้อครั้งแรกในผู้ป่วยที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ HSV มาก่อน หรือในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติในระบบภูมิคุ้มกัน จะพบอาการที่รุนแรง เกิด vesicles ที่ลุกลามทั้งในบริเวณเยื่อบุและที่บริเวณอวัยวะเพศภายนอก ผู้ป่วยมีอาการไข้ เจ็บปวด ต่อมน้ำเหลืองบริเวณขาหนีบโต ปัสสาวะขัด การติดเชื้อ genital herpes โดยทั่วไปมักมีอาการไม่รุนแรง เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่เคยได้รับการติดเชื้อ HSV-1 มาแล้วในวัยเด็ก ประมาณร้อยละ 80 ของประชากรทั่วไปมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ HSV ตำแหน่งที่พบมีการติดเชื้อได้บ่อยในผู้หญิงคือ บริเวณปากมดลูก (cervix) ทำให้เกิด cervicitis ในผู้ชายจะพบการติดเชื้อที่บริเวณปลายอวัยวะเพศและบริเวณผิวหนังโดยรอบ โดยจะพบ vesicles เป็นกลุ่ม ต่อมาจะแตกและตกสะเก็ด โรคหายภายใน 2-3 สัปดาห์ ไวรัสส่วนหนึ่งจะแพร่ไปตาม sensory nerve สู่ปมประสาทโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ sacral nerve ganglia และทำให้เกิดการติดเชื้อซ้ำในบริเวณเดิมได้ การติดเชื้อซ้ำมักมีอาการไม่รุนแรงหรืออาจไม่แสดงอาการ ระยะเวลาดำเนินโรคสั้น การติดเชื้อ HSV-2 ที่บริเวณอวัยวะเพศจะทำให้เกิดการติดเชื้อซ้ำได้บ่อยกว่าการติดเชื้อโดย HSV-1 และอาจพบบ่อยถึง 5-8 ครั้งต่อปี ในผู้หญิงการติดเชื้อซ้ำมักไม่แสดงอาการ ทำให้ไม่สามารถทราบถึงอัตราการเกิดการติดเชื้อซ้ำที่แน่นอนได้

6. เริมในทารกแรกเกิด (neonatal herpes) หมายถึง การติดเชื้อเริมในทารกที่มีอายุไม่เกิน 4 สัปดาห์ มักทำให้เกิดอาการที่รุนแรงและมีอัตราตายสูง แต่พบได้ไม่บ่อยนัก ประมาณ 1 : 3,000 ถึง 1 : 30,000 ของทารกคลอดมีชีวิต การติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการพบได้น้อย ร้อยละ 90 เกิดจาก HSV-2 โดยได้รับเชื้อจากมารดา ทารกได้รับเชื้อจากมารดาได้หลายทาง คือ

6.1 ascending infection เกิดจากเชื้อไวรัสย้อนขึ้นไปจากทางคลอดสู่ทารกในครรภ์ มักเกิดในระยะใกล้คลอด ซึ่งถุงน้ำคร่ำมีรอยฉีกก่อนการคลอด

6.2 intrapartum infection พบได้บ่อยกว่าทางอื่น โดยทารกได้รับเชื้อไวรัสขณะคลอดผ่านทางคลอดที่ติดเชื้อ

6.3 transplacental infection เชื้อไวรัสจากมารดาผ่านรกมาสู่ทารกในครรภ์ วิธีนี้พบได้น้อยมาก และทารกมักจะแท้งเสียก่อน

6.4 ติดเชื้อในระยะเลี้ยงดู มีรายงานการระบาดของเชื้อเริมในห้องเลี้ยงเด็กอ่อนหลังคลอดในต่างประเทศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะอาการของเริมในทารกแรกคลอด มีได้ 3 แบบ คือ (พิไลพันธ์และชโลบล, 2538)

1. ติดเชื้อกระจายทั่วร่างกาย (disseminated herpes หรือ generalized neonatal herpes) ทารกแสดงอาการไข้ หรือตัวเย็นกว่าปกติ ซึม ไม่กินนม อาเจียน ตับม้ามโต หายใจลำบาก อัตราตายสูง มีบางรายที่พบตุ่มพองใสที่ผิวหนังหรือเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ทารกหลายรายถึงแก่กรรมจากการติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ซ้ำเติม

2. แสดงอาการเฉพาะที่ภายนอก เช่น พบตุ่มพองใส หรือการอักเสบที่ผิวหนัง ตา ปาก ทารกกลุ่มนี้มักมีอาการไม่รุนแรง

3. แสดงอาการเฉพาะระบบประสาทกลาง ผู้ป่วยอาจถึงแก่กรรม หรือหายจากโรค แต่สติปัญญาไม่สมประกอบเมื่อโต

7. การติดเชื้อเริมในผู้ป่วยโรคผิวหนัง (eczema herpeticum หรือ Kaposi's varicelliform eruption) และเริมในบาดแผล (traumatic herpes) พบได้ในผู้ป่วยโรคผิวหนังบางชนิด เช่น โรคผิวหนังอักเสบที่มีน้ำเหลืองแฉะ หรือผิวหนังอักเสบจากภูมิแพ้ ถ้าติดเชื้อครั้งแรกจะมีอาการไข้สูง กระสับกระส่าย มีตุ่มน้ำพองใส กระจายอยู่บนผิวหนังที่อักเสบอยู่เดิมส่วนการติดเชื้อในบาดแผลมักเกิดจากมีรอยถลอกแล้วได้รับเชื้อโดยตรงทำให้มีอาการอักเสบบวมแดงและมีตุ่มน้ำพองใสขึ้นเป็นแนว ต่อมน้ำเหลืองบริเวณนั้นโต พบได้ในรายที่ถูกไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ในรายที่มีแผลบริเวณเล็บและติดเชื้อ HSV จะพบอาการบวม อักเสบ และเจ็บปวดเรียกว่า herpetic whitlow

8. การติดเชื้อในผู้ที่ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง มักพบในผู้ป่วยมะเร็งหรือปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยเอดส์ ผู้ป่วยขาดสารอาหาร หรือมีบาดแผลไฟไหม้ ในเด็กแผลเริมจะลามไปถึงหลอดอาหารส่วนต้นและลงไปกล่องเสียง อาจแพร่กระจายลงไปก่อให้เกิดการอักเสบของตับ ต่อมหมวกไต และทำให้สมองอักเสบ

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

1. ตรวจจากตัวอย่างตรวจโดยตรง (ปราณี, 2542; พิไลพันธ์และชโลบล, 2538)

1.1 Tzanck test เป็นการตรวจหาเซลล์ที่ติดเชื้อ HSV และจัดเป็นวิธีการวินิจฉัยโดยรวดเร็ว (rapid diagnosis) วิธีหนึ่ง ตัวอย่างตรวจได้แก่เซลล์ที่ขูดจากฐานของตุ่มน้ำใส (vesicular scrape) ป้ายลงบนกระจกสไลด์แล้วนำไปย้อมสี เช่น Giemsa หรือ Wright ในระยะแรกของการติดเชื้อ ทั้งไซโตพลาสมและนิวเคลียสจะบวมพองมีขนาดใหญ่ขึ้น โครมาตินกลายเป็นเม็ดละเอียดกระจายทั่วไปในนิวเคลียส ซึ่งจะติดสี hematoxylin จางๆ การติดสีสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) ในบางครั้งโครมาตินอาจติดสีด้านๆ ทำให้มองเห็นนิวเคลียสมีลักษณะคล้ายกระจกฝ้า ในระยะหลังของการติดเชื้อเซลล์หลายเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกัน จะเชื่อมหลอมกลายเป็นเซลล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขนาดใหญ่ (multinucleated giant cell) นิวเคลียสจะค่อนข้างอัดตัวกันแน่น (Whitley and Roizman, 2001) วิธี Tzanck smear มีความไวเพียง 40-60% เท่านั้น เมื่อเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงแยกเชื้อซึ่งถือเป็นวิธีมาตรฐาน ความไวของการทดสอบขึ้นอยู่กับระยะของรอยโรคด้วย ในระยะที่เป็น vesicle วิธีทดสอบทั้งสองจะให้ผลบวกสูงกว่ารอยโรคในระยะ pustule การเก็บตัวอย่างตรวจจากบริเวณขอบของ vesicle จะมีโอกาสพบ multinucleated giant cell มากกว่าบริเวณตรงกลางของ vesicle ซึ่งเซลล์ที่พบในบริเวณนี้มักจะเป็นเซลล์ที่ตายแล้ว

1.2 Papanicolaou stain หรือ Pap stain ตัวอย่างตรวจสำหรับการทดสอบวิธีคือ epithelial cell ที่ขูดจากปากมดลูก (cervix) และคอมดลูก (endocervix) วัตถุประสงค์หลักของ Pap stain คือใช้เป็นวิธีตรวจกรองหาเซลล์ที่มีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็ง เพื่อจะได้ให้การดูแลรักษาได้ทันท่วงที นับแต่การนำเอาวิธีตรวจกรองนี้เข้ามาใช้ทำให้อุบัติการณ์ของมะเร็งปากมดลูกลดลงไปมาก

นอกจากตรวจกรองหาเซลล์ผิดปกติแล้ว วิธี Pap stain ยังสามารถตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในอวัยวะสืบพันธุ์สตรีได้อีกด้วย ได้แก่ human papillomavirus ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคหูดและหูดหงอนไก่ และวินิจฉัยโรคเริมที่อวัยวะเพศด้วย เชื่อว่าเซลล์เป้าหมายของ HSV คือ immature squamous epithelial cell และ columnar epithelial cell

การทำ Pap stain ในผู้ติดเชื้อเริมที่อวัยวะเพศจะตรวจพบ multinucleated giant cell เช่นเดียวกับการทำ Tzanck smear จาก vesicles แต่ในการย้อมสี Giemsa หรือสี Wright มักไม่พบ inclusion body ซึ่งอยู่ภายในนิวเคลียส แต่การทำ Pap stain จะพบได้

Inclusion body ที่พบในโรคเริมมีลักษณะเป็นก้อนติดสีสม่ำเสมอ (homogeneous mass) รูปร่างกลม มีขนาดใหญ่มากจะดันโครมาตินไปจนชิดขอบผนังนิวเคลียสเรียก inclusion body ลักษณะนี้ว่า Cowdry type A inclusion body และจะไม่พบ inclusion body ในทุกเซลล์ที่ติดเชื้อ การตรวจพบ multinucleated giant cell โดยลำพังด้วยวิธี Pap stain อาจไม่พอเพียงสำหรับการวินิจฉัยโรคเริมที่อวัยวะเพศ จะต้องดูลักษณะของนิวเคลียสและ inclusion body มาประกอบด้วย เพราะในหลายกรณีการทำ Pap stain อาจตรวจพบ multinucleated giant cell ได้ เช่น เป็นเซลล์ที่เกิดขึ้นภายหลังการผ่าตัด หรือเป็นตัวอย่างตรวจที่มาจากผู้หญิงในระยะหมดประจำเดือน (postmenopausal smear) ผู้ป่วยปากมดลูกอักเสบ หรือเป็นเซลล์ trophoblast

Multinucleated giant cell และ inclusion body ลักษณะเช่นนี้นอกจากพบได้ในการติดเชื้อเริมแล้ว ยังพบได้ในผู้ป่วยโรคอีสุกอีใส และงูสวัด ซึ่งเป็นโรคไข้ออกผื่นชนิดตุ่มน้ำพองใส (papulovesicular rash) เช่นเดียวกับโรคเริมอีกด้วย ทั้งอีสุกอีใสและงูสวัด เป็นโรคที่มีสาเหตุเกิดจาก varicella-zoster virus (VZV) เหมือนกัน VZV เป็นไวรัสใน family *Herpesviridae* เช่นเดียวกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อเริม แต่ VZV และ HSV ไม่มีแอนติเจนที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นถ้าตัวอย่างตรวจเป็นเซลล์ที่ขูดจากฐานของตุ่มน้ำพองใส การย้อมด้วยแอนติบอดีย์จำเพาะโดยใช้ปฏิกิริยาอิมมูนเพื่อตรวจหาแอนติเจนของไวรัสแต่ละชนิด จะเป็นวิธีวินิจฉัยแยกการติดเชื้อจากไวรัสทั้งสองชนิดนี้

1.3 การตรวจหาแอนติเจนของไวรัส เป็นการใช้แอนติบอดีจำเพาะ ซึ่งอาจเป็น polyclonal antibody หรือ monoclonal antibody ก็ได้ เพื่อตรวจหาแอนติเจนจำเพาะ ซึ่งอยู่ในเซลล์ติดเชื้อที่ละเลงไว้บนกระจกสไลด์ หรือเป็นแอนติเจนที่อยู่ในสภาพของเหลว (solubilized infected cell หรือ น้ำไขสันหลัง) การตรวจหาแอนติเจนของไวรัสในเซลล์ติดเชื้อโดยวิธีอิมมูนเรืองแสง (immunofluorescence) และวิธี immunoperoxidase เป็นวิธีที่มีความไวสูงประมาณ 80-90% ของวิธีการแยกเชื้อ แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือ background ของสไลด์จะค่อนข้างสูง ต้องอ่านสไลด์ด้วยความระมัดระวัง และในกรณีของ immunoperoxidase staining อาจต้องระวังผลบวกปลอมจาก endogenous peroxidase ภายในเซลล์ด้วย

2. การแยกเชื้อและพิสูจน์เชื้อ การแยกเชื้อไวรัส HSV และทำการเพาะเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยง จัดเป็นวิธีที่มีความไว (sensitive) ที่สุดสำหรับการวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ (Ustaçelebi, 2001) เนื่องจาก HSV เป็นไวรัสที่ทำการเพาะเลี้ยงได้ง่าย เพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยงได้หลายประเภท เซลล์ที่ติดเชื้อจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (cytopathic effect, CPE) เห็นได้ชัดเจนภายในเวลาไม่นาน วิธีแยกเชื้อนี้ถือเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ที่ใช้อ้างอิงเปรียบเทียบกับการทดสอบชนิดใหม่ (Riley, 1998)

ตัวอย่างที่ใช้ในการแยกเชื้อไวรัสได้แก่ น้ำจาก vesicles, swab จากรอยโรค, น้ำไขสันหลัง หรือ throat swab นำมาเพาะเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยง ดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ หรือ CPE ซึ่งสามารถตรวจพบภายใน 1-2 วัน เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้ในการแยกเชื้อและได้ผลดี ได้แก่ primary cell culture เช่น เซลล์จากไตกระต่าย (rabbit kidney cells), human embryonic kidney cells, human foreskin fibroblast และ cell lines ที่ใช้ได้ดีเช่นกัน คือ Vero cell ซึ่งมีต้นกำเนิดจาก African green monkey kidney cell และ HeLa cell ซึ่งมีต้นกำเนิดจากมะเร็งปากมดลูก และเซลล์ human fibroblast เช่น MRC-5 และ WI-38 เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถเพาะเลี้ยงบนเยื่อ chorioallantoic membrane ของไข่ไก่ฟัก สังเกตการเกิด pock หรือฉีดลงในสมองหนูขาว นำเชื้อที่แยกได้ไปพิสูจน์ต่อไป (พิไลพันธ์และชโลบล, 2538)

3. การตรวจหาแอนติบอดี วิธีนี้ใช้ได้เฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการติดเชื้อครั้งแรก และยังไม่มีภูมิคุ้มกันมาก่อน โดยการเจาะเลือดสองครั้งในระยะ acute phase และ convalescent phase ดูการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี ซึ่งต่างกันอย่างน้อย 4 เท่า หรือตรวจหาระดับ IgM ต่อไวรัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การตรวจหายีโนมของไวรัสด้วยวิธี polymerase chain reaction เป็นวิธีที่มีความไวสูงกว่าวิธีการแยกเชื้อ ตัวอย่างตรวจเช่น สิ่งป้ายจากรอยโรค (lesion swab) หรือเซลล์จากเนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งน้ำไขสันหลัง ในกรณีที่วินิจฉัยโรคสมองอักเสบจากเชื้อเริม

อาจเลือก primer ที่สามารถขยายจำนวนยีนได้ทั้งยีนของ HSV-1 และ HSV-2 ที่พบว่าได้ผลดีคือ primer จาก thymidine kinase gene หรือจาก glycoprotein B gene (gB)

การนำ PCR มาใช้เพื่อวินิจฉัยโรคเริมที่อวัยวะเพศยังไม่ค่อยมีความจำเป็นมากนัก ถ้าห้องปฏิบัติการสามารถทำการแยกเชื้อไวรัสได้ แต่ PCR ถูกนำมาใช้ค่อนข้างมากในการวินิจฉัยโรคสมองอักเสบจากเชื้อเริม โดยใช้น้ำไขสันหลังเป็นตัวอย่างตรวจ ทั้งนี้เพราะมีไวรัสอยู่ในตัวอย่างตรวจน้อยมาก

5. การตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน น้ำที่อยู่ในตุ่มน้ำใส (vesicular fluid) จะมีอนุภาคไวรัสอยู่เป็นจำนวนมาก อาจสูงถึง 3×10^9 อนุภาคต่อมิลลิลิตรของ fluid ตรวจหาได้โดยนำไปย้อม negative stain และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะต่ำ ต้องการเครื่องมือ และผู้ทำการทดสอบที่ชำนาญ และไม่สามารถบอกชนิดของไวรัสเพราะไวรัสในกลุ่ม herpesviruses มีรูปร่างเหมือนกันและมีขนาดใกล้เคียงกันมาก โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 150-200 นาโนเมตร

ระบาดวิทยาและการรักษาด้วยยาต้านไวรัส

การติดเชื้อโรคเริมของไวรัส HSV-1 และ HSV-2 พบได้ทั่วโลก การติดเชื้อ HSV-1 เริ่มตั้งแต่วัยเด็ก ส่วนการติดเชื้อ HSV-2 พบเมื่อเข้าสู่วัยหนุ่มสาว แสดงถึงการติดต่อทางเพศสัมพันธ์เป็นสำคัญ การติดเชื้อเนื่องจากสัมผัสเชื้อจากผู้ป่วยโดยตรงหลังการติดเชื้อครั้งแรกแล้ว จะตรวจพบไวรัสในน้ำลายได้เป็นครั้งคราว จึงสามารถแพร่เชื้อได้โดยไม่มีอาการของโรค ในปัจจุบันพบว่ามีการติดเชื้อไวรัสก่อโรคเริมเพิ่มมากขึ้น (จันทพงษ์, 2540)

ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนป้องกันโรคเริม และเป้าหมายในการรักษาโรคเริมนั้น เพื่อช่วยบรรเทาอาการ ทำให้รอยโรคหายเร็วขึ้นและป้องกันมิให้เป็นซ้ำอีก ดังนั้นจึงไม่สามารถรักษาโรคเริมให้หายขาดได้ เนื่องจากยาที่มีใช้อยู่นั้นไม่สามารถทำลายเชื้อไวรัสซึ่งแฝงอยู่ในปมประสาทได้ (สุรางค์, 2540)

ผู้ที่ติดเชื้อครั้งแรก ถ้าได้รับการรักษาด้วยยาจำเพาะจะช่วยให้อาการดีขึ้น และระยะเวลาแพร่เชื้อสั้นลง ผู้ที่ติดเชื้อซ้ำ ส่วนใหญ่มักหายได้เองในเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ (จันทพงษ์, 2540) โดยมียาที่นิยมใช้รักษาโรคเริม ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. 0.1% Idoxuridine [5-ido-2'-deoxy-uridine, IUDR] เป็นยาตัวแรกที่ให้ผลดีในการรักษาการอักเสบ และแผลที่กระจกตาอักเสบเนื่องจากเชื้อเริมได้ผล แต่มีอาการข้างเคียงสูง จึงไม่นิยมใช้รักษาโรคเริมที่มีอาการอื่น และไม่ควรใช้ในหญิงมีครรภ์

2. Trifluridine (trifluorothymidine, TFT) ใช้รักษากระจกตาอักเสบเช่นกัน ใช้ในรูปของขี้ผึ้งป้ายตา ยานี้มีอาการข้างเคียงสูง ไม่ใช้รักษาโรคเริมที่มีการติดเชื้อแบบแพร่กระจาย

3. Vidarabine (ara-A หรือ adenine arabinoside) ใช้รักษาโรคกระจกตาอักเสบ รายที่มีการติดเชื้อทั้งตัว อาการรุนแรงโดยเฉพาะในทารกแรกเกิดและในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง และให้ผลดีมากในรายที่สมองอักเสบจากเชื้อไวรัสก่อโรคเริม พบว่ามีผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับ idoxuridine ใช้ฉีดเข้าหลอดเลือดรักษาโรคสมองอักเสบจากเชื้อเริม อย่างไรก็ดียาชนิดฉีดเข้าหลอดเลือด ไม่ควรใช้กับหญิงมีครรภ์และผู้ป่วยที่มีกรดยูริคสูง เช่น ผู้ป่วยโรคเก๊าท์

4. Bromovinydeoxyuridine ยานี้ให้ผลในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัส HSV-1 ได้ดีกว่า HSV-2 สามารถให้โดยการรับประทานได้

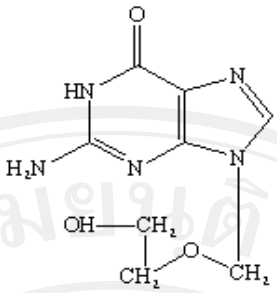
5. Phosphonoformic acid, PPA ยานี้ออกฤทธิ์ได้กว้างขวางต่อเชื้อไวรัสก่อโรคเริม ใช้ได้ผลทั้งในกรณีผู้ป่วยสมองอักเสบ ตาอักเสบ แผลเริมที่ผิวหนังและอวัยวะสืบพันธุ์ แต่พบว่าสารนี้จะค้างอยู่ในกระดูก เป็นเวลานาน แล้วค่อยๆ สลายไป

6. Acyclovir [acycloguanosine, 9-2-(hydroxyethoxy methyl) guanine] ใช้ได้ผลดีที่สุดในการรักษาโรคเริมในปัจจุบัน โดยลดอาการและระยะเวลาดำเนินโรค ใช้ได้ทั้งในรูปยากิน ยาฉีด ยาเฉพาะที่ ยาฉีดแนะนำให้ใช้ในรายที่อาการรุนแรง เช่น สมองอักเสบหรือผู้ป่วยที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง (จันทพงษ์, 2540)

ยาอะไซโคลเวียร์หรืออะซัยโคลกัวโนซีน และกลไกการออกฤทธิ์

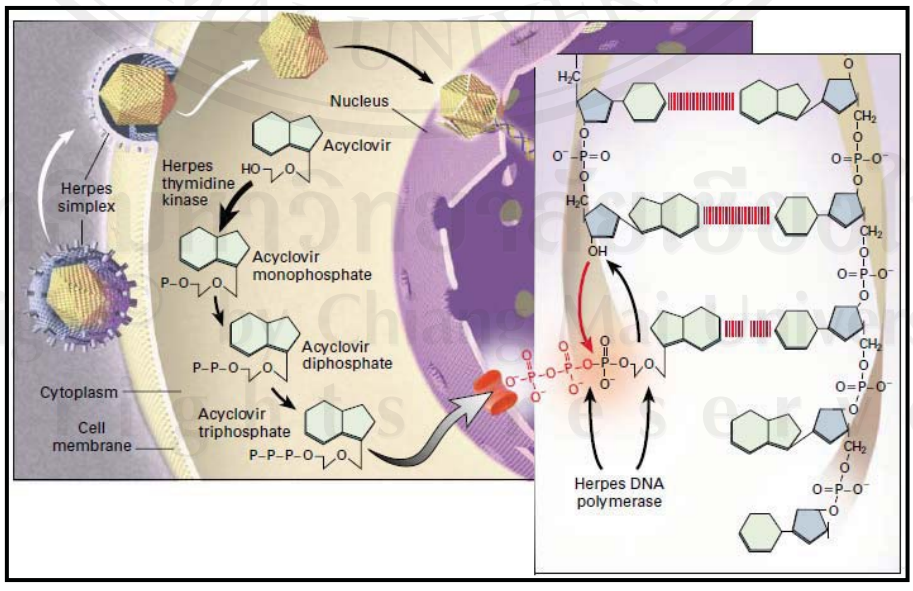
ยาอะไซโคลเวียร์ (Acyclovir; ACV หรือ Acycloguanosine, ACG) เป็นกลุ่มยาที่ใช้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ DNA polymerase ค้นพบโดย Elion ในปีพ.ศ. 2520 โดยมีโครงสร้างทางเคมีเป็น acyclic analog ของ deoxyguanosine (ภาพ 6)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 6 สูตรโครงสร้างของยา Acyclovir (ที่มา: Heritage, 2006)

จากสูตรโครงสร้างของ Acyclovir ซึ่งเป็น deoxyguanosine analogue ที่ไม่มี 3′- OH ยาออกฤทธิ์โดยการผ่านเข้าเซลล์ที่ติดเชื้อ แล้วถูกเปลี่ยนเป็น ACV-monophosphate โดยเอนไซม์ thymidine kinase ของไวรัส หลังจากนั้นถูกเปลี่ยนเป็น ACV-diphosphate และ ACV-triphosphate โดย thymidine kinase ของเซลล์เจ้าบ้าน ดังนั้นความเข้มข้นในเซลล์ที่ติดเชื้อจะสูงกว่าเซลล์ไม่ติดเชื้อ 40-100 เท่า (นงลักษณ์, 2542) ACV-triphosphate ทำหน้าที่ยับยั้งการสร้าง DNA ของไวรัส โดย ACV-triphosphate จับกับ DNA polymerase โดยตรง จึงยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสได้ รวมทั้งมีการแข่งขันกับ deoxyguanosine triphosphate (dGTP) ในการเป็นสารตั้งต้นสำหรับเอนไซม์ DNA polymerases ของไวรัส ซึ่งมีความจำเพาะกับเอนไซม์ของไวรัสมากกว่าเซลล์โฮสต์ ทำให้การสร้าง DNA สายใหม่ของไวรัสถูกยับยั้ง (Snoeck, 2000) (ภาพ 7)



ภาพ 7 กลไกการออกฤทธิ์ของยา Acyclovir ที่มีผลต่อ HSV (ที่มา : Balfour, 1999)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ยา ACV นิยมใช้ 4 รูปแบบ คือ ขี้ผึ้ง 3% ป้ายตา ขนาดบรรจุหลอดละ 4.5 กรัม ผงแห้งสำหรับละลายน้ำผสมน้ำเกลือ ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ขนาดหลอดละ 250 มิลลิกรัม ยาเม็ดสำหรับรับประทาน เม็ดละ 200 มิลลิกรัม และครีม 5% ทาผิวหนัง ขนาดบรรจุหลอดละ 1, 2, 5 และ 10 กรัม

การดื้อยา Acyclovir

การดื้อยา Acyclovir ของไวรัสก่อโรคเริม HSV-1 และ HSV-2 เกิดได้จากทั้งการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ thymidine kinase หรือ DNA polymerase ของไวรัส โดยมักพบได้ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง และในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก ไวรัสที่ดื้อต่อยา ACV นี้ พบว่ามีการกลายพันธุ์ในยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ 2 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของ ACV คือ thymidine Kinase (TK) และ DNA polymerase ส่วนมากพบว่าการกลายพันธุ์ของไวรัสที่มีการกลายพันธุ์บริเวณ TK gene มักมีการแทรกหรือหายไปของ codon ที่ 92 และ 146 ของ TK gene หรือมีการแทนที่ใน codon ที่ 176-177 และ 336 ของ TK gene ส่วนการกลายพันธุ์ของ DNA polymerase gene นั้น พบได้ในบริเวณ conserve gene ของเอนไซม์เป็นหลัก (Snoeck, 2000; Morfin and Thouvenot, 2003)

การกลายพันธุ์ที่บริเวณ thymidine kinase gene ทำให้ไวรัสขาดเอนไซม์นี้ ซึ่งปกติมีบทบาทในการเปลี่ยน ACV เป็น ACV-monophosphate ก่อนที่จะถูกสร้างเป็น ACV-triphosphate ซึ่งเป็นสารที่สำคัญในการยับยั้งการสร้าง DNA สายใหม่ของไวรัส ส่วนการกลายพันธุ์ในยีน DNA polymerase ของไวรัสนั้น ทำให้เอนไซม์ DNA polymerase ของไวรัส ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ จึงไม่ไปจับกับ ACV-triphosphate ในเซลล์ที่ติดเชื้อ HSV ดังนั้นผลที่ได้จึงไม่เกิดการยับยั้งการทำงานของ viral DNA polymerase จึงยังคงมีการสังเคราะห์สาย DNA ของไวรัสได้ต่อไป ทำให้เกิดการดื้อต่อยา ACV (นงลักษณ์, 2542; อนวัช, 2538)

รายงานการดื้อต่อยา acyclovir (ACV) ของไวรัสก่อโรคเริม ที่มีการกลายพันธุ์ของ thymidine kinase gene (TK) พบว่าในปี ค.ศ. 1997 Sasadeusz และคณะ ได้ศึกษาการเกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน TK ของเชื้อไวรัส HSV ที่ทำให้มีผลการดื้อต่อยา ACV (Sasadeusz *et al*., 1997) จากนั้น ปี ค.ศ. 1998 Gaudeau และคณะ รายงานการศึกษาการดื้อต่อยา ACV ของเชื้อไวรัส HSV ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ TK gene (Gaudeau *et al*., 1998)

การศึกษา DNA polymerase gene ของไวรัส HSV ที่มีคุณสมบัติ 3′-5′exonuclease activity ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ใช้ในการตรวจสอบความผิดพลาด (proofreading) ในกระบวนการเติม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นิวคลีโอไทด์ของยีน DNA polymerase ของเชื้อไวรัส มีรายงานพบว่ายีนของไวรัส HSV-1 สายพันธุ์ ANG บริเวณ ExoI, II, III ของ DNA polymerase gene มีการกลายพันธุ์ และทำให้มีการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโน ซึ่งมีผลให้เกิดความผิดปกติในหน้าที่การตรวจสอบความผิดพลาด (proofreading) ในการเติมนิวคลีโอไทด์ขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของไวรัส (Kuhn and Knopf, 1996)

ต่อมาได้มีการสำรวจการดื้อต่อยา ACV ของไวรัส HSV พบว่ามีการดื้อต่อยา ACV เพิ่มมากขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง และมีอาการรุนแรง ดังนั้นจึงได้เลือกใช้ยา Penciclovir (PCV) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม guanosine nucleoside และเป็นอนุพันธ์ของยา ACV แต่ผลวิจัยพบว่า การจับ (affinity) ระหว่าง PCV-triphosphate (PCV-TP) กับเอนไซม์ TK เกิดได้มากกว่า ACV-TP 10 เท่า แต่ตรงกันข้ามกับกรณีการจับ (affinity) ระหว่าง PCV-TP กับ DNA polymerase ของ HSV เกิดได้น้อยกว่า ACV-TP จับกับ DNA polymerase ของ HSV ถึง 10 เท่า ดังนั้นหากมีการกลายพันธุ์ที่ DNA polymerase gene ของ HSV จะทำให้การดื้อยามีผลรุนแรงได้ (Field, 2001)

Chibo และคณะ ได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ของ TK gene และ DNA polymerase gene ของ HSV ที่ก่อโรคเริมในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีการติดเชื้อที่รุนแรงกว่าผู้ป่วยปกติ และใช้ยา ACV และ foscarnet ในการรักษาพบว่าไวรัส HSV-1 และ HSV-2 ที่ดื้อต่อยา ACV บริเวณ TK gene มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับในสายพันธุ์เดิมที่ไม่ดื้อต่อยา ACV ส่วนผลการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA polymerase gene พบว่าเกิดการกลายพันธุ์ที่กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 725 เปลี่ยนจาก serine เป็น glycine (S725G) ทำให้ไวรัสดื้อต่อยา ACV และ foscarnet (Chibo *et al.*, 2002) ต่อมาในปี ค.ศ. 2004 Chibo และคณะ จึงได้ศึกษาไวรัส HSV ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่ดื้อต่อยา ACV พบว่า ค่าของ ACV Inhibitory concentration (IC_{90}) ≥ 10 μg/ml และไวรัสมีการกลายพันธุ์ ในยีน TK และยีน DNA polymerase โดยพบว่ากรดอะมิโนตำแหน่งที่ 171 เปลี่ยนจาก phenylalanine เป็น serine (F725S) กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 908 เปลี่ยนจาก glutamine เป็น arginine (K908R) และกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 1203 เปลี่ยนจาก alanine เป็น threonine (A1203T) (Chibo *et al.*, 2004)

เชื้อไวรัส HSV สายพันธุ์ที่มีการดื้อยา acyclovir ในปัจจุบันพบว่ามีรายงานเพิ่มมากขึ้น (Chilukuri and Rosen, 2003; Field, 2001; Frobert *et al.* 2008; Morfin and Thouvenot, 2003) โดยพบว่าบริเวณที่มีการกลายพันธุ์เป็นส่วนมากคือ บริเวณ conserve region ของ thymidine kinase gene ที่กรดอะมิโนลำดับที่ 92 และ 146 และในบริเวณ conserve region ของ DNA polymerase gene ซึ่งมีขนาด 3705 bp ประกอบด้วย 1235 amino acids ซึ่งภายใน DNA polymerase gene ประกอบด้วย 8 regions (Hwang *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 1988) คือ region I-VII และ region A มักเกิดการกลายพันธุ์ในบริเวณ region II และ region III ของ DNA polymerase gene (Gilbert *et*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

al., 2002; Morfin and Thouvenot, 2003) ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่กรดอะมิโนลำดับที่ 715, 719, 724-729, 815 และ 841 มีผลทำให้ไวรัสดื้อต่อยา acyclovir (Frobert *et al*. 2008; Gilbert *et al*., 2002; Larder *et al*., 1987) แต่ก็ยังพบว่ามีการกลายพันธุ์ได้อีกในบริเวณ region I และ region A คือ ตำแหน่งของกรดอะมิโนลำดับที่ 597, 891 และ 910 ส่วนการกลายพันธุ์ที่มีรายงานว่าอยู่นอกบริเวณ conserve region คือ ตำแหน่งของกรดอะมิโนลำดับที่ 355, 605, 645, 671 และ 1904 (Frobert *et al*. 2008; Larder *et al*., 1987; Morfin and Thouvenot, 2003) ดังนั้นเมื่อ DNA polymerase ของไวรัสเกิดการกลายพันธุ์ ทำให้ไวรัสไม่ตอบสนองต่อยา acyclovir ไวรัสจึงสามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์โฮสต์ต่อไปได้แม้ทำการรักษาด้วยยา acyclovir ในปริมาณเท่าเดิม

สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

การจัดจำแนกสาหร่าย *Spirulina platensis*

การจัดจำแนกสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ในแง่ของอนุกรมวิธานได้ยึดตามหลักของ Komarek and Anagnostidis (2005) ซึ่งได้จัดไว้ดังนี้

Kingdom Monera

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Pseudanabaenaceae

Genus *Spirulina*

Species *Spirulina platensis* (Gomont.) Geitler

ลักษณะทั่วไปและสัณฐานวิทยา (ยุวดี, 2546)

สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง หรืออาจจะเรียกได้ว่าเป็นแบคทีเรียประเภทไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) เนื่องจากเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทโพรแคริโอท (Prokaryotes) คือ นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม บางครั้งการที่มีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง จึงคิดว่าเป็นพืช ซึ่งโดยแท้จริงแล้วสาหร่ายชนิดนี้ยังมีคุณสมบัติต่างจากพืชมาก สาหร่ายเกลียวทองมีเยื่อหุ้มเซลล์เป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์ ต่างกับพืชชั้นสูงหรือแม้กระทั่งสาหร่ายสีเขียว เช่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* spp.) ใน Division Chlorophyta ซึ่งมีผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส คุณสมบัติเด่นของสาหร่ายเกลียวทอง คือ จะพบในแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีความเป็นด่างสูง โดยมี pH 10 ± 1 ซึ่งสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นเจริญอยู่ได้ค่อนข้างยาก จึงเท่ากับว่าเกือบจะเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวในแหล่งน้ำที่พบสาหร่ายชนิดนี้ หรือถ้านำไปเพาะเลี้ยงก็จะมีการปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตอื่นได้น้อย

สาหร่าย Spirulina spp. มีอยู่ด้วยกันประมาณ 42 ชนิด (species) เช่น *Spirulina platensis, S. major, S. princes, S. laxissima, S. subtilissima* เป็นต้น แต่ละชนิดก็มีความแตกต่างกันทั้งขนาด ความยาวและลักษณะของเกลียว *Spirulina platensis* มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อนำมาเป็นอาหารมนุษย์หรือสัตว์ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะปริมาณโปรตีนซึ่งมีถึง 60-70 % ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนั้นยังมีองค์ประกอบที่มีประโยชน์ เช่น รงควัตถุ กรดไขมัน และสารที่มีสรรพคุณทางยารักษาโรค นอกจากนี้ *Spirulina platensis* มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงระดับอุตสาหกรรมหรืออุตสาหกรรมขนาดย่อมอีกด้วย

สาหร่าย *Spirulina* sp. มีลักษณะเป็นเส้นสาย ประกอบด้วยเซลล์รูปทรงกระบอกหลายเซลล์เรียงต่อกัน ไม่แตกแขนง เรียกเส้นสายนี้ว่า trichome เส้นสายบิดเป็นเกลียว ขนาดความยาวประมาณ 300-500 ไมโครเมตร ความกว้างประมาณ 8 ไมโครเมตร เดิมนักวิทยาศาสตร์ที่สนใจเกี่ยวกับสาหร่ายจัดให้สาหร่ายชนิดนี้เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว เนื่องจากมองเห็นผนังเซลล์ของแต่ละเซลล์ที่มารวมกันเป็นเส้นสายไม่ชัด แต่ต่อมาการใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงขึ้นสามารถเห็นว่า trichome ของสาหร่ายชนิดนี้ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์มาต่อกัน (ภาพ 8)

ภาพ 8 สาหร่าย *S. platensis* (ยุวดี, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผนังเซลล์ของสาหร่าย *Spirulina* sp. มีลักษณะเป็นผนังหลายชั้น ประกอบด้วยสารมิวโคโปรตีนและเพคติน ชั้นนอกเป็น สารโพลีแซคคาไรด์ มีแวคคิวโอล (vacuole) ขนาดใหญ่ ทำให้ลอยน้ำได้ นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้ม กรดนิวคลีอิกกระจายอยู่ทั่วเซลล์ ตัวเซลล์ไม่ได้ปกคลุมด้วยเยื่อเมือก (mucous membrane) เหมือนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั่วไป ผิวของเซลล์ไม่มีจุลินทรีย์มาเกาะ มีความสามารถในการต้านทาน จุลินทรีย์สูง และยังทนต่อรังสีอุลตราไวโอเลต การเคลื่อนที่เป็นแบบควงสว่านและเป็นคลื่น

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายชนิดนี้จะมีเฉพาะแบบไม่อาศัยเพศ โดยการขาดออกเป็นท่อน (fragmentation) และท่อนที่ขาดไปนี้สามารถแบ่งเซลล์ใหม่ทำให้ trichome ยืดยาวออกได้ เส้นสายของสาหร่ายชนิดนี้อาจยาวบ้าง สั้นบ้าง ขึ้นอยู่กับอายุและความอุดมสมบูรณ์ ลักษณะเกลียวบางครั้งไม่คงที่อาจเป็นเกลียวบิดชัดเจนสวยงาม หรือบางครั้งเกลียวจะคลายออกเป็นเส้นตรง ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยของการเพาะเลี้ยง อาจจะเป็นความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร แสง อุณหภูมิ หรือ pH

องค์ประกอบที่พบในสาหร่าย *Spirulina platensis* (Falquet, 2006; ยุวดี, 2546)

สาหร่าย *Spirulina platensis* สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ทั้งทางการแพทย์และทางอุตสาหกรรม นอกจากนี้ สาหร่ายเกลียวทองยังมีคุณค่าทางอาหารสูง จึงได้มีการศึกษาสารชีวโมเลกุลและวิตามินที่พบในสาหร่ายชนิดนี้ (ตาราง 1-3) เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ต่อไป

ตาราง 1 สารชีวโมเลกุลพื้นฐานที่พบในสาหร่าย *Spirulina platensis*

สารชีวโมเลกุลพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ย (%)
โปรตีน	71.0
คาร์โบไฮเดรต	15.0
ไขมัน	7.0
เส้นใยธรรมชาติ	0.9
พลังงาน	-
ความชื้น	7.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 สารชีวโมเลกุลอื่นๆ ที่พบในสาหร่าย *Spirulina platensis*

สารชีวโมเลกุลอื่นๆ	ค่าเฉลี่ย (%)
Nucleic acid	4.5
แคโรทีนอยด์	0.4
คลอโรฟิลด์	0.8

ตาราง 3 วิตามินที่พบ ในสาหร่าย *Spirulina platensis*

วิตามิน	ค่าเฉลี่ย (mg/kg)
วิตามิน บี 1	55.0
วิตามิน บี 2	40.0
วิตามิน บี 6	3.0
วิตามิน บี 12	2.0
วิตามิน อี	190.0
กรดโฟลิก	0.5
กรดนิโคทินิก	118.0
ไอโนซิโทล	350.0
Biotin	0.4

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* (ยุวดี, 2546)

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* มีองค์ประกอบหลายอย่างที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยง ได้แก่ สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ปัจจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณแสง อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) แหล่งคาร์บอน ปริมาณฝน และการระเหยของน้ำ ลักษณะของบ่อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และการกวนในช่วงของการเพาะเลี้ยง เป็นต้น

1. สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* มีด้วยกันมากมายหลายชนิด ซึ่งสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เป็นต้นแบบมาตรฐานหรือผลิตเพื่อการค้าที่ต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูง คือ อาหารสูตร Zarrouk (Zarrouk's medium : traditional and international medium) เนื่องจากสารอาหารสูตรมาตรฐาน มีราคาค่อนข้างสูง จึงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยสารอาหารดังกล่าวมีราคาสูงตามไปด้วย จึงมีความพยายามที่จะดัดแปลงสารอาหารที่ใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการเพาะเลี้ยงให้มีต้นทุนที่ถูกลง หรือตัดสารอาหารบางตัวที่มีความจำเป็นน้อยมากออกไป แล้วเสริมด้วยสารอาหารที่มาจากธรรมชาติลงไปแทน เช่น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยน้ำทิ้งจากชุมชน การเลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมบางประเภท การเพาะเลี้ยงจากน้ำหมักจากมูลสัตว์ และน้ำจากเมล็ดธัญพืช เป็นต้น

2. ปริมาณแสงแดด

สาหร่าย *Spirulina platensis* เจริญเติบโตด้วยการสังเคราะห์แสง แสงแดดจึงเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งในการเจริญของสาหร่าย ประเทศไทยถือเป็นประเทศหนึ่งที่มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะแก่การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อน มีฤดูฝนสั้น และมีฤดูแล้ง คือ ฤดูหนาวและฤดูร้อนที่ยาวนาน โอกาสที่จะได้รับแสงแดดตลอดทั้งปีจึงมีมากกว่าในประเทศที่อยู่ในภูมิภาคอื่นๆ ประกอบกับประเทศไทย มีช่วงของการมีแสงในเวลากลางวันยาวนานโดยเฉลี่ยตลอดปี ทำให้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ยกเว้น ภาคใต้ เนื่องจากมี ฤดูฝน ยาวนานกว่าภาคอื่นๆ ทำให้ได้รับปริมาณแสงแดดน้อยลง ปริมาณแสงแดดที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* คือ 35-45 กิโลลักซ์ แต่เนื่องจากปริมาณแสงแดดในประเทศไทยมีปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่งปริมาณแสงที่มากเกินไปก็มีส่วนให้กระบวนการสังเคราะห์แสงลดลง ดังนั้นบางฟาร์มหรือบางโรงงานจึงต้องสร้างวัสดุที่บดบังแสง (shade) บริเวณเหนือบ่อที่เพาะเลี้ยง ส่วนใหญ่จะใช้ตาข่ายพลาสติก ที่เรียกว่า ไซแรน ซึ่งสามารถจะบังแสงได้อย่างพอเหมาะ มีคุณภาพดีและราคาไม่แพง

3. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมักจะเปลี่ยนแปลงไปตามความแรงของแสงแดด อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* จะต้องไม่ต่ำกว่า 20° C และไม่สูงกว่า 37° C อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30-35 ° C ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยในประเทศไทย

4. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายมาจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยปกติปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่พบในอากาศมีประมาณ 0.4 % ซึ่งในปริมาณนี้ก็ถือว่าเพียงพอต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirulina platensis* ในสภาพธรรมชาติ แต่ในสภาพที่ต้องการผลผลิตปริมาณมากในระดับอุตสาหกรรม จึงต้องมีการเพิ่มก๊าซเหล่านี้ลงในอาหารที่เลี้ยง วิธีที่ใช้กันโดยทั่วไปก็คือการเติม $NaHCO_3$ ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำจะได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สาหร่ายนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยตรง ปริมาณ $NaHCO_3$ ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายควรอยู่ในช่วง 4.5-8.5 กรัม/ลิตร บางฟาร์มหรือบางโรงงาน อาจใช้วิธีเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในบ่อเพาะเลี้ยงโดยตรง ซึ่งก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สาหร่ายนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้สังเคราะห์แสงได้อย่างรวดเร็ว แต่วิธีการนี้มีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง

5. ความเป็นกรดด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) มีผลต่อการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเกลือแร่อื่นๆ และมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมในเซลล์สาหร่ายโดยตรง pH ที่เหมาะสม ควรอยู่ในช่วง 9-11 และควรอยู่ในระดับ 9.5 จึงจะเหมาะสมที่สุด จะเห็นได้ว่า สาหร่าย *Spirulina platensis* เจริญได้ดีในสภาวะที่มี pH ค่อนข้างสูง ทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นน้อยมาก

6. ปริมาณฝนและการระเหยของน้ำ

ฤดูฝนเป็นฤดูที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายชนิดนี้ มีการวิจัยพบว่าฤดูร้อนเป็นฤดูที่สาหร่ายให้ผลผลิตสูงสุด ส่วนฤดูฝนให้ผลผลิตต่ำสุด ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณแสงแดดลดลงจากการบดบังของเมฆที่ก่อตัวในช่วงที่ฝนใกล้จะตกนั่นเอง บางครั้งปริมาณฝนที่ตกลงมามากเกินไปก็มีผลทำให้สารอาหารในบ่อเพาะเลี้ยงเจือจาง ส่งผลให้สาหร่ายไม่เจริญเติบโตและอาจมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญปนเปื้อนในบ่อเพาะเลี้ยง สำหรับการระเหยของน้ำมักเกิดขึ้นรวดเร็วในฤดูร้อน และส่งผลกระทบต่อสาหร่ายในทางตรงข้าม ถ้าน้ำระเหยไปมาก สารอาหารในบ่อเพาะเลี้ยงอาจเข้มข้นมากเกินไป หรือ pH อาจจะสูงไป ส่งผลกระทบต่อการเจริญของสาหร่ายเช่นเดียวกัน

7. การกวน

การกวนหรือ agitation เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* การกวนมีผลให้เซลล์สาหร่ายที่อยู่ด้านล่างของบ่อเพาะเลี้ยงได้มีโอกาสขึ้นมารับแสง ซึ่งทำให้สาหร่ายที่อยู่ด้านล่างไม่ตาย นอกจากนั้น ยังทำให้สารอาหารซึ่งอาจจะมีการเติมลงไปใหม่ในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้ละลายไปทั่วทั้งบ่อหรือภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และมีผลให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศละลายลงในสารอาหารได้บ้าง

8. บ่อเพาะเลี้ยงและความสูงของระดับสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

บ่อที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* มีความหลากหลายขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยง เช่น ใช้ถังซีเมนต์กลมที่มีขายทั่วไป โดยมีด้านเปิดด้านเดียว และปรับให้ผิวของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถังซีเมนต์นั้นเรียบโดยการใช้ปูนซีเมนต์โบกแบบขัดเรียบ เนื่องจากเซลล์สาหร่ายจะไปเกาะและทำความสะอาดยาก อาจใช้ถัง PVC ที่ใช้เก็บน้ำ มีลักษณะเป็นถังกลม แต่มักจะมีราคาค่อนข้างสูง หรืออาจใช้วิธีขุดดินให้มีลักษณะเป็นคูยาวแล้วอัดดินให้แน่นปูพื้นด้วยพลาสติก ซึ่งทำให้ทำความสะอาดได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือ ไม่แข็งแรง สิ่งสำคัญคือ บ่อเพาะเลี้ยงควรมีความสูงไม่เกิน 40-50 เซนติเมตร เนื่องจากว่าความสูงของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงควรไม่เกิน 20-25 เซนติเมตร

ประโยชน์ของสาหร่าย *Spirulina platensis*

สาหร่าย *Spirulina platensis* ถูกนำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์มาตั้งแต่อดีต ในปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงองค์ประกอบของสาหร่ายกันอย่างกว้างขวาง ทำให้เราทราบถึงคุณประโยชน์ของสาหร่าย *Spirulina platensis* ว่าเป็นสาหร่ายที่มีประโยชน์หลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นประโยชน์ในด้านโภชนาการ ด้านอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอาง และประโยชน์ที่สำคัญและน่าสนใจอีกประการหนึ่ง คือ ประโยชน์ในทางการแพทย์

1. ด้านโภชนาการ (ยุวดี, 2546)

สาหร่าย *Spirulina platensis* มีองค์ประกอบด้านโปรตีนสูง นอกจากนั้นยังมี โปรวิตามินเอหรือเบต้า-แคโรทีนสูง เมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินชนิดอื่น มีแคลเซียม ฟอสฟอรัส และโปตัสเซียมค่อนข้างสูงกว่าแร่ธาตุอื่น กรดอะมิโนในสาหร่ายชนิดนี้มีครบทุกชนิดและค่อนข้างสูง ดังนั้นในแง่คุณค่าทางโภชนาการนั้นจึงเป็นที่เชื่อได้อย่างสนิทใจว่าสาหร่ายชนิดนี้มีอยู่อย่างพร้อมมูล สามารถบริโภคได้แม้เพียงชนิดเดียวก็สามารถให้คุณค่าสารอาหารครบถ้วนเพียงพอแก่ผู้บริโภคได้ จึงเป็นที่นิยมนำสาหร่ายชนิดนี้มาแปรรูปเป็นอาหารเสริมสุขภาพอัดเม็ด ทำเป็นอาหารเร่งสีและเร่งการเจริญในสัตว์ ในระยะหลัง คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย *Spirulina platensis* ถูกพบมากขึ้น ทำให้ผลผลิตที่ต้องการ อาจไม่ใช่แค่เพียงโปรตีนเพียงอย่างเดียว แต่อาจเป็นผลิตภัณฑ์อื่นซึ่งมีคุณค่าและราคาสูงกว่าโปรตีน เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัว ชนิด กรดไขมัน GLA หรือ กรดแกมม่า-ลิโนลีนิค ซึ่งกรดชนิดนี้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน PGE1 ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมกลไกของแรงดันเลือด สาหร่าย *Spirulina platensis* สามารถผลิตกรดไขมัน GLA ได้ 8-32% ของกรดไขมันทั้งหมด หรือคิดเป็น 0.3-1.4% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ด้านอุตสาหกรรม (ยุวดี, 2546)

จุดเด่นอีกแง่หนึ่งของสาหร่าย *Spirulina platensis* คือ สารเคมีที่อยู่ในสาหร่ายจำพวกรงควัตถุ ได้แก่ คลอโรฟิลด์เอ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน ไฟโคอีรีทิน กลุ่มรงควัตถุแคโรทีนอยด์มีความสำคัญในแง่ของการเป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยให้สีส้มแดง สีแสดหรือสีชมพู ซึ่งมีประโยชน์ในด้านการใช้เป็นสารเพิ่มสีในสัตว์เลี้ยง โดยขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์เนื้อเยื่อของสัตว์ที่เราให้กินสารชนิดนี้ ยกตัวอย่างเช่น ถ้าให้ปลากินสาหร่ายชนิดนี้ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นปลาสวยงาม ปลาทอง ปลาคาร์พ ก็จะทำให้ปลามีสีสวยสดขึ้น สำหรับสัตว์ปีก เช่น เป็ด ไก่ หรือ นก จะมีผลทำให้เนื้อของสัตว์เหล่านี้เป็นสีชมพู และไข่แดงมีสีแดงสดขึ้น ถ้าให้กับสุกรก็จะทำให้เนื้อของสุกรมีสีชมพูหรือแดงมากกว่าปกติ เมื่อพิจารณารงควัตถุอีกชนิดหนึ่งคือ ไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีน้ำเงินม่วง หรือน้ำเงินเข้ม จึงสามารถนำมาผสมในแคปซูลยาที่ต้องการให้เกิดสีน้ำเงินหรือฟ้า หรือผสมในเครื่องสำอาง เช่น ครีมหรือฝุ่นทาตา (eye-shadow cream or powder) ทำให้มีสีน้ำเงิน เทา หรือดำ ซึ่งรงควัตถุเหล่านี้เป็นสีจากธรรมชาติให้ความปลอดภัยต่อผู้บริโภคหรือผู้ใช้มากกว่าสีสังเคราะห์ ทำให้รงควัตถุดังกล่าวมีราคาสูงและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากรงควัตถุธรรมชาตินี้มีราคาแพง นอกจากนี้ไฟโคไซยานินที่มีความบริสุทธิ์สูงใช้เป็นสารเรืองแสงเพื่อติดตามในงานวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันทางด้านเนื้อเยื่อและจุลทรรศน์วิทยา

3. ด้านการแพทย์ (เจียมจิตต์, 2532)

การศึกษาสาหร่ายสไปรูลินาในแง่การนำมาใช้เป็นตัวยาในการรักษาโรค เช่น รักษาโรคเบาหวาน อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคตับอ่อนเรื้อรัง ต้อกระจก ต้อหิน โรคแผลในกระเพาะอาหาร โรคผมร่วง และลดความเครียด ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (free-radicals) อันเป็นต้นเหตุทำให้เกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น

การศึกษาและวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปี 1993 Hayashi และคณะ ได้ทำการศึกษา สารสกัดจากสาหร่าย *S. platensis* ต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสก่อโรคเริมชนิดที่ 1 พบว่าสามารถยับยั้งโปรตีนของไวรัสในขั้นตอนไวรัสเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HeLa cell และพบว่าสาร calcium spirulan (Ca-SP) ซึ่งเป็นซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ที่แยกได้จากสาหร่าย *Spirulina platensis* สามารถยับยั้งเชื้อไวรัส HSV-1 และเชื้อไวรัสก่อโรคเอดส์ชนิดที่ 1 (HIV-1) ได้ (Hayashi *et al.*, 1996a) นอกจากนี้ยังพบว่า calcium spirulan ยังมีความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสชนิดที่มี envelope คือ human cytomegalovirus, measles virus, mumps virus และ influenza A virus (Hayashi *et al.*, 1996b)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากงานวิจัยของ Ayehunie *et al*. (1998) พบว่า สารสกัดของสาหร่าย *S. platensis* สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ HIV-1 ใน human T-cell lines, peripheral blood mononuclear cells และ Langerhans cells ได้ สาหร่าย *S. maxima* ที่สกัดจากน้ำร้อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัสหลายชนิด เช่น HSV-2, pseudorabies virus, human cytomegalovirus และ HIV-1 โดยที่สามารถยับยั้งเชื้อ HSV-2 ได้ดีที่สุด (Hernández-Corona *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีการศึกษา โดยการใช้น้ำกรอง (filtrate) จากสาหร่าย *S. platensis* มายับยั้งเชื้อไวรัสก่อโรคเริมชนิดที่ 1 และ 2 ซึ่งพบว่า น้ำกรองจากสาหร่ายสามารถยับยั้งการติดเชื้อไวรัสก่อโรคเริมชนิดที่ 1 และ ชนิดที่ 2 สายพันธุ์มาตรฐานได้ (Tragoolpua and Peerapornpisal, 2005)

นอกจากการศึกษาสาหร่าย *S. platensis* ในด้านการยับยั้งเชื้อไวรัสแล้ว ยังมีงานวิจัยที่ทำการศึกษาทางด้านอื่น เช่น การศึกษาหาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย *Spirulina* เนื่องจากในสาหร่ายชนิดนี้ มีรงควัตถุหลายชนิด ได้แก่ คลอโรฟิลด์เอ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน ไฟโคอีรีทิน (Bermejo *et al*., 2008; Bhat and Madyastha., 2000; Gigante *et al*., 2007; Mendiola *et al*., 2007) ยังมีงานวิจัยอีกหลายชิ้นที่ทำการศึกษาสาหร่าย *Spirulina* ในด้านการยับยั้งและป้องกันการเกิดมะเร็งในสัตว์ (Mohan *et al*., 2006; Roy *et al*., 2007; Zhang *et al*., 2001) นอกจากนี้ สาหร่าย *S. platensis* ยังเป็นตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลอง โดยไปกระตุ้นการทำงานของ phagocyte และ natural killer cell (Qureshi and Ali., 1996)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่าย *S. platensis* เพื่อหาประสิทธิภาพในการยับยั้งไวรัสก่อโรคเริมสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านไวรัสอะไซโคลเวียร์ และสนับสนุนการใช้สาหร่ายในประเทศไทยให้เกิดประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัส นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาเป็นยาต้านไวรัสจากสารสกัดสาหร่ายเพื่อทดแทนการนำเข้ายาสังเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved