สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

ไวรัสโรตา (rotavirus) เป็นเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง (acute diarrhea) ในเด็ก ซึ่งเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในเด็กเล็กและเด็กทารกทั่วโลก โดยจะพบได้มากในเด็กเล็กที่มีอายุน้อยกว่า 5 ปี (3, 4) ซึ่งในปัจจุบันสายพันธุ์เชื้อไวรัสโรตาที่พบทั้งในคนและในสัตว์ต่างๆ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นอย่างมาก และยังคงเกิดสายพันธุ์ใหม่ๆ เพิ่มมากขึ้นได้เรื่อยๆ เนื่องจากเชื้อไวรัสมีวิวัฒนาการ และปรับตัวอยู่ตลอดเวลาตามสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปเพื่อความอยู่รอด

ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการของโรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากเชื้อไวรัสโรตาและเชื้อไวรัสชนิดอื่นคล้ายคลึงกัน การวินิจฉัยทางคลินิกไม่อาจสรุปได้ว่าเกิดจากเชื้อไวรัสโรตาหรือไม่ จำเป็นต้องใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันสาเหตุของโรค ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และ latex agglutination ซึ่งอาศัยเทคนิคทาง Immunoassay ในการตรวจหาแอนติเจนจากเชื้อไวรัสโดยตรง สำหรับการตรวจแยกสายพันธุ์ของเชื้อโรตาไวรัส ด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) และนำไปย้อมด้วย silver stain เพื่อดู genomic RNA pattern (electropherogram) นั้นก็เป็นที่นิยมเช่นกัน แต่จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า วิธีดังกล่าวจะสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ต่อเมื่อในสิ่งส่งตรวจมีปริมาณ RNA แต่ละ segment อย่างน้อย 300-400 pg ขึ้นไป (23) นอกจากนี้ การตรวจหาเชื้อโรตาไวรัสด้วยวิธี enzyme immunoassay (EIA) และ dot blot hybridization ก็ยังมีความไวที่ค่อนข้างต่ำ โดยสามารถตรวจพบเชื้อได้ในสิ่งส่งตรวจที่มีปริมาณไวรัสตั้งแต่ 105 อนุภาคขึ้นไป ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น PCR จากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่า PCR มีความไวในการตรวจพบเชื้อโรตาไวรัสสูงกว่า ELISA 1000 เท่า และสูงกว่า PAGE 10000 เท่า (24)

Polymerase Chain Reaction หรือ PCR เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง โดยอาศัยหลักการ DNA Replication ซึ่งเป็นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่จาก

ดีเอ็นเอต้นแบบ ใช้เวลาเพียง 2-3 ชั่วโมงและได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากการทำ agarose gel electrophoresis เทคนิคนี้พัฒนาขึ้นเมื่อปี พ.ศ. 2528 โดย Kary Mullis และคณะแห่งบริษัท Cetus Corporation (25) จุดเด่นของเทคนิค PCR คือ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างเฉพาะเจาะจง โดยมีขั้นตอนการทำงานน้อยและใช้เวลาน้อย จนถึงปัจจุบันนี้เทคนิค PCR ได้รับการปรับปรุงและพัฒนาในหลาย ๆ ด้าน เพื่อให้สามารถนำไปศึกษาค้นคว้า วิจัยความรู้ใหม่ๆ ตลอดจนแก้ไขปัญหาที่ไม่อาจทำได้ในอดีต จนได้รับการยอมรับว่าเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญมากต่องานด้านอณูชีวโมเลกุล ซึ่งในปัจจุบัน มีเทคนิคชั้นสูง (Advanced techniques of PCR) ออกมาใหม่ๆ ให้นำมาใช้อยู่มากมาย อันได้แก่ Nested PCR, Reverse transcriptase PCR (RT-PCR), Mutiplex PCR, Random Amplified Polymorphism of DNA (RAPD) และ Realtime PCR เป็นต้น ทำให้มีความหลากหลายในการเลือกใช้ให้เหมาะสมกับงาน และได้ประโยชน์ยิ่งขึ้น ดังนั้น ในการวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิค PCR มาใช้ในการตรวจสอบตัวอย่างอุจจาระที่ส่งตรวจด้วย โดยใช้เทคนิค Reverse transcriptase PCR (RT-PCR) ซึ่งมีหลักการ ดังต่อไปนี้

หลักการของ RT-PCR

ใช้หลักการพื้นฐานในการสังเคราะห์ DNA สายใหม่จากสาย RNA ที่เป็นต้นแบบหนึ่งสาย โดยใช้เอ็นไซม์ Reverse transcriptase และ Reverse primer เปลี่ยน RNA ให้เป็น cDNA จากนั้นจึงใช้เอ็นไซม์ DNA polymerase ในการสังเคราะห์เพิ่มจำนวน cDNA ที่ได้ โดยใช้ primers 1 คู่ และสารเคมีดังต่อไปนี้

- DNA Polymerase เช่น Taq polymerase
- PCR buffer
- dNTP ได้แก่ dATP dTTP dCTP dGTP
- Forward primer
- Reverse primer
- Distilled water
- DNA ต้นแบบในการเพิ่มจำนวน

การทำปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอน โดยทั้ง 3 ขั้นตอนทำหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน

1. denaturing เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ ให้เป็นเส้นเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิสูง 92-95 °C

2. annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลง เพื่อให้ primer ซึ่งเป็น DNA สายสั้นๆ (ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวน 20-25 เบส) ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับ DNA ที่เป็นต้นแบบเข้าจับคู่กัน ซึ่งนิยมใช้อุณหภูมิในช่วง 55-60 °C ขึ้นอยู่กับแต่ละ primer

3. extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ DNA สายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 3' ของ primer ตามลำดับเบสบน DNA ที่เป็นต้นแบบ โดยอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์ DNA polymerase ซึ่งเอ็นไซม์นี้สามารถทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72-75 °C

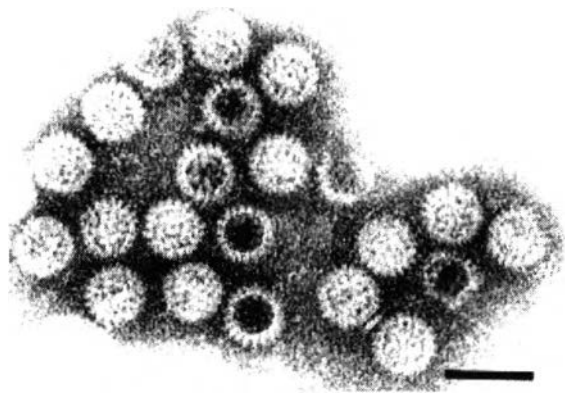
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประวัติการค้นพบเชื้อไวรัสโรตา

ในปี ค.ศ. 1973 Bishop และคณะ ได้ค้นพบเชื้อไวรัสโรตาเป็นครั้งแรกจากการตรวจชิ้นเนื้อ biopsy จากผนังลำไส้เล็กส่วน duodenum ของเด็กที่ป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงจำนวน 9 ราย และสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสโรตาได้ 6 ราย ในเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบอนุภาคไวรัสโรตามีขนาด 70 นาโนเมตร (nm) และในเวลาใกล้เคียง Flewett และคณะ ก็ได้ตรวจพบเชื้อไวรัสโรตาในอุจจาระของเด็กที่ป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และพบอนุภาคของไวรัสมีขนาด 70 nm เช่นเดียวกัน และต่อมาได้ตั้งชื่อว่า rotavirus โดยตั้งชื่อตามลักษณะของอนุภาคไวรัสเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนซึ่งเห็นลักษณะคล้ายวงล้อ โดยคำว่า rota มาจากภาษาลาตินที่แปลว่า wheel (วงล้อ)

แม้ว่าการค้นพบเชื้อไวรัสโรตาว่าเป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในคนในปี ค.ศ. 1973 แต่ไวรัสโรตาที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในสัตว์ได้มีการค้นพบมากก่อนหน้านี้แล้วประมาณ 10 ปี คือ ในปี ค.ศ. 1963 Adams และ Kraft ได้ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนตรวจพบอนุภาคคล้ายไวรัส (virus-like particle) ในเซลล์ผนังลำไส้ของหนูที่ติดเชื้อ และลักษณะของอนุภาคจะคล้ายกับอนุภาคไวรัสที่พบโดย Bishop และคณะ และในปีเดียวกัน Malherbe และ Harwin สามารถตรวจแยกเชื้อไวรัสที่มีขนาด 70 nm จากอุจจาระของลิงโดยการทำ rectal swab แล้วนำไปปลูกเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีต้นกำเนิดจากไตลิง และสามารถตรวจพบเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยงนั้น และตั้งชื่อไวรัสที่ตรวจพบว่า Simian Agent 11 (SA11) นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 1969 Mebus และ คณะ ได้ตรวจพบอนุภาคของเชื้อไวรัสที่มีขนาด 70 nm ในอุจจาระที่ได้จากวัวที่เป็นโรคอุจจาระร่วง เมื่อนำเชื้อนี้ไปทดลองให้วัวตัวอื่นกิน ก็ทำให้เกิด

โรคอุจจาระร่วงอีก ต่อมาในปี ค.ศ. 1971 Mebus และ คณะ สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัส Nebraska caft diarrhea virus (NCDV) ในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีต้นกำเนิดจากเซลล์ของลูกวัวในครรภ์ จากการศึกษาต่อมาในภายหลัง ทำให้ทราบว่าไวรัสที่พบในหนู, ลิง และวัว เป็นไวรัสโรตาที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์มี group antigen ที่ร่วมกันอยู่กับไวรัสโรตาที่พบในคน (6, 26)



รูปที่ 2 ภาพถ่ายผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของอนุภาคไวรัสโรตา ที่มีขนาด 70 nm และมีลักษณะคล้ายล้อเกวียน แถบสีดำแทนขนาด 100 nm (6)

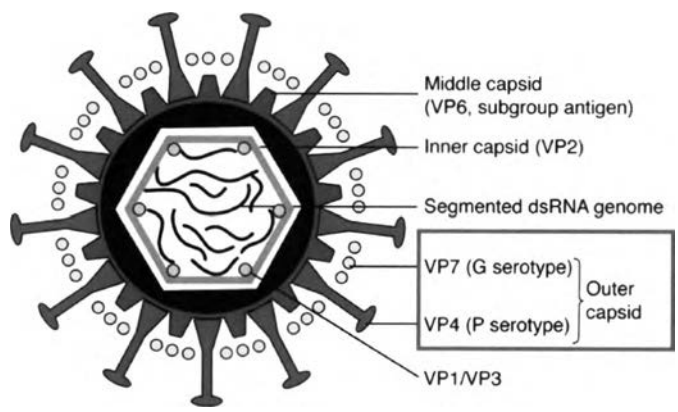
ชีววิทยาของเชื้อไวรัสโรตา

ลักษณะรูปร่างและโครงสร้างของอนุภาคไวรัสโรตา

ไวรัสโรตา จัดอยู่ใน Family *Reoviridae* Genus *Rotavirus* ลักษณะอนุภาคมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 70 nm เป็นไวรัสที่ไม่มีเปลือกหุ้ม (non-envelope virus) ที่มีการจัดเรียงตัวของส่วนที่ห่อหุ้มจีโนม (capsid protein) ของไวรัสเป็นลักษณะที่เรียกว่า icosahedral structure หรือเป็นรูปเหลี่ยม 20 หน้า ซึ่งภาพที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะมีลักษณะคล้ายล้อของเกวียนจึงเป็นที่มาของชื่อ Rotavirus เนื่องจากคำว่า Rota ในภาษาลาตินนั้นหมายถึงวงล้อ (6, 27)

ไวรัสโรตามี capsid proteins 3 ชั้น โดยโปรตีนที่หุ้มชั้นนอก (outer-capsid) ประกอบด้วย capsid proteins 2 ชนิด คือ VP4 และ VP7 ที่ปลายข้างหนึ่งของ VP4 จะยื่นออกมาจากพื้นผิวของอนุภาคไวรัส มีลักษณะคล้ายหนาม เรียกว่า spikes ชั้นถัดมาเป็นโปรตีนที่หุ้มชั้นใน (inner-capsid) ประกอบด้วยโปรตีน VP6 เพียงอย่างเดียว และชั้นสุดท้ายเป็นส่วนของแกนกลาง (core)

ประกอบด้วย capsid proteins 3 ชนิด คือ VP1, VP2 และ VP3 ซึ่งบรรจุสารพันธุกรรมของไวรัสโรตาที่เป็น RNA สายคู่ (double stranded RNA) ที่มีลักษณะเป็นท่อน ๆ (segments) รวมทั้งหมด 11 ท่อน โดย RNA แต่ละท่อนจะกำหนดการสร้างโปรตีนแต่ละชนิดอาจจะเป็น structural proteins (VP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นโครงสร้างอยู่บนอนุภาคไวรัส หรือ non structural proteins (NSP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่ได้เป็นองค์ประกอบโครงสร้างของอนุภาคไวรัส แต่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของไวรัส และเกี่ยวข้องกับการประกอบกันเป็นรูปร่างของอนุภาคไวรัส โดยการกำหนดการสร้างโปรตีนว่าเป็นโปรตีนชนิดไหนนั้น ขึ้นอยู่กับว่าโปรตีนนั้นๆ ถูกกำหนดการสร้างโดย RNA genome ท่อนไหน โดยแต่ละท่อนกำหนดการสร้างโปรตีนเพียง 1 ชนิด ยกเว้นท่อนที่ 11 ที่กำหนดการสร้างโปรตีน 2 ชนิดคือ NSP5 และ NSP6 โดยการแปลรหัส (translation) คนละ open reading frame (ORF) จึงทำให้ได้โปรตีนคนละชนิดกัน (27, 28, 29)



รูปที่ 3 แผนภาพแสดงองค์ประกอบของอนุภาคไวรัสโรตาที่มีจีโนมเป็น segmented dsRNA 11 ท่อน และ capsid protein 3 ชั้น (30)

เมื่อนำความยาวของ RNA genome แต่ละท่อนมานับรวมกันทำให้ RNA genome ของไวรัสโรตามีความยาวทั้งสิ้น 18,555 basepair (bp) ดังนี้ (22, 26-29, 31-32)

RNA genome ***ท่อนที่*** *1*

มีความยาว 3,302 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง structural protein VP1 ที่มี molecular weight (M.W.) ขนาด 125.0 kilodaltons (kDa) VP1 มี enzyme activity เป็น RNA-dependent

RNA polymerase ที่ทำหน้าที่เป็นทั้ง enzyme transcriptase และ replicase ของไวรัสโรตา แต่การทำงานของ VP1 นั้นต้องมี VP2 มาช่วยจึงจะมี replicase activity ได้ นอกจากนี้พบว่า VP1 จะจับกับ VP3 อยู่ในรูป VP1/VP3 heterodimeric complex และทำหน้าที่เป็น transcription enzyme complex และ enzyme complex นี้จะเกาะติดกับผนังด้านในของ VP2 ที่เปลือกหุ้มส่วน core ของอนุภาคไวรัสอยู่

RNA genome ท่อนที่ 2

มีความยาว 2,690 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง structural protein VP2 ที่มี M.W. ขนาด 94.0 kDa VP2 สามารถจับกับ RNA แบบไม่จำเพาะ และมีปฏิสัมพันธ์กับ dsRNA genome ที่อยู่ภายในส่วน core ซึ่งมี VP2 เป็น capsid protein ที่หุ้มอยู่ นอกจากนี้ VP2 ยังมีปฏิสัมพันธ์กับ VP1/VP3 transcription enzyme complex และมีบทบาทในการทำหน้าที่เป็น enzyme transcriptase ของ VP1/VP3 complex

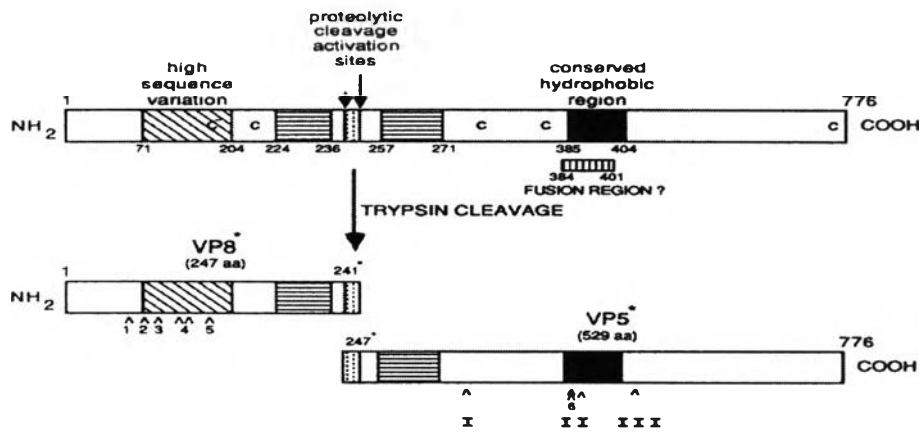
RNA genome ท่อนที่ 3

มีความยาว 2,591 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง structural protein VP3 ที่มี M.W. ขนาด 88.0 kDa VP3 มี enzyme activity ของ guanylyltransferase และยังทำหน้าที่เป็น methyltransferase ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรตีน VP3 เป็น capping enzyme

RNA genome ท่อนที่ 4

มีความยาว 2,362 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง structural protein VP4 ที่มี M.W. ขนาด 88.0 kDas ซึ่ง VP4 นี้สามารถถูกตัด (cleave) โดย proteolytic enzyme ได้เป็นโปรตีนขนาดเล็กคือ VP5 ขนาด 60 kDa และ VP8 ขนาด 28 kDa VP4 เป็น capsid protein ที่ไม่ถูกเติมคาร์โบไฮเดรท (non-glycosylated) มีคุณสมบัติเป็น hemagglutinin ที่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกิดการเกาะกลุ่มได้ นอกจากนี้ VP4 ยังเป็นโปรตีนที่ไวรัสโรตาใช้จับกับเซลล์โฮสท์ ในขณะที่จับกับเซลล์โฮสท์ VP4 จะถูกตัดด้วย enzyme protease ได้โปรตีนขนาดเล็ก VP5* และ VP8* มีผลช่วยเพิ่มความสามารถในการติดเชื้อของไวรัสโรตาได้ดีขึ้น โดยจะไปช่วยในการเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น แต่ไม่ได้ช่วยเพิ่มความสามารถในการจับกับเซลล์โฮสท์ได้มากขึ้น และที่สำคัญก็คือการที่พบว่าโปรตีน VP4 เป็นโปรตีน

ที่เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรง (virulence factor) ของเชื้อไวรัสโรตาในหนูและลูกสุกร และสามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้าง neutralizing antibodies ได้ และ antibodies ต่อ VP4 นี้ สามารถยับยั้ง infectivity ของไวรัสได้ การศึกษาต่อมาพบว่า VP4 สามารถที่จะเหนี่ยวนำให้เกิด protective immunity ในสัตว์และในเด็กได้ นอกจากนี้ความแตกต่างของ epitope บน VP4 ยังใช้ในการจัดแบ่ง serotype ของไวรัสโรตาเป็น P-serotype



รูปที่ 4 ลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบของโปรตีน VP4 ซึ่งเมื่อตัดด้วย trypsin จะได้โปรตีน VP8* และ VP5* (29)

RNA genome ท่อนที่ 5

มีความยาว 1,611 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง non-structural protein NSP1 ที่มี M.W. ขนาด 53.0 kDa สัมพันธ์กับส่วนโครงสร้าง สามารถกดการกระตุ้นการสร้าง IFN-α ของ host

RNA genome ท่อนที่ 6

มีความยาว 1,356 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง structural protein VP6 ที่มี M.W. ขนาด 41.0 kDa VP6 ทำหน้าที่เป็น capsid protein ชั้นกลาง และเป็นองค์ประกอบหลักของอนุภาคไวรัส โดย VP6 มีอยู่ประมาณ 51% ของโปรตีนทั้งหมดของอนุภาคไวรัสโรตา โดยปกติแล้ว VP6 จะอยู่ในรูป trimeric subunit ที่มีความคงตัวสูงมาก VP6 จะมีปฏิสัมพันธ์กับ VP4 และ VP7 โดย VP4 dimer จะ interact กับ 2 โมเลกุลของ VP6 trimer ส่วน VP7 จะ interact กับส่วนปลายยอดของ VP6 trimer ซึ่งการมีปฏิสัมพันธ์เช่นนี้เป็นปฏิสัมพันธ์ระหว่าง inner capsid (VP6) และ outer capsid (VP4 และ

VP7) นั่นเอง ซึ่งจะช่วยให้เกิดการคงรูปของอนุภาคไวรัสได้เป็นอย่างดี โปรตีน VP6 ของไวรัสโรตาจะมี group specific epitope ที่มีความจำเพาะสำหรับไวรัสแต่ละ group จึงใช้ในการจัดจำแนกไวรัสโรตาออกเป็น group ต่างๆ และความแตกต่างของโปรตีน VP6 ยังใช้ในการจัดแบ่งไวรัสโรตา group A ออกเป็น subgroup ต่างๆ ด้วย

RNA genome ท่อนที่ 7

มีความยาว 1,104 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง non-structural protein NSP3 ที่มี M.W. ขนาด 34.0 kDa เป็น Homodimer จับที่ 3' end ของไวรัสโรตา mRNA, จับกับ elongation factor มีความสำคัญในขั้นตอนการ translation

RNA genome ท่อนที่ 8

มีความยาว 1,059 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง non-structural protein NSP2 ที่มี M.W. ขนาด 35.0 kDa ทำหน้าที่เป็น NTPase และ Helicase, จับกับ NSP5 และ VP1 เป็นส่วนสำคัญในการสังเคราะห์ dsRNA

RNA genome ท่อนที่ 9

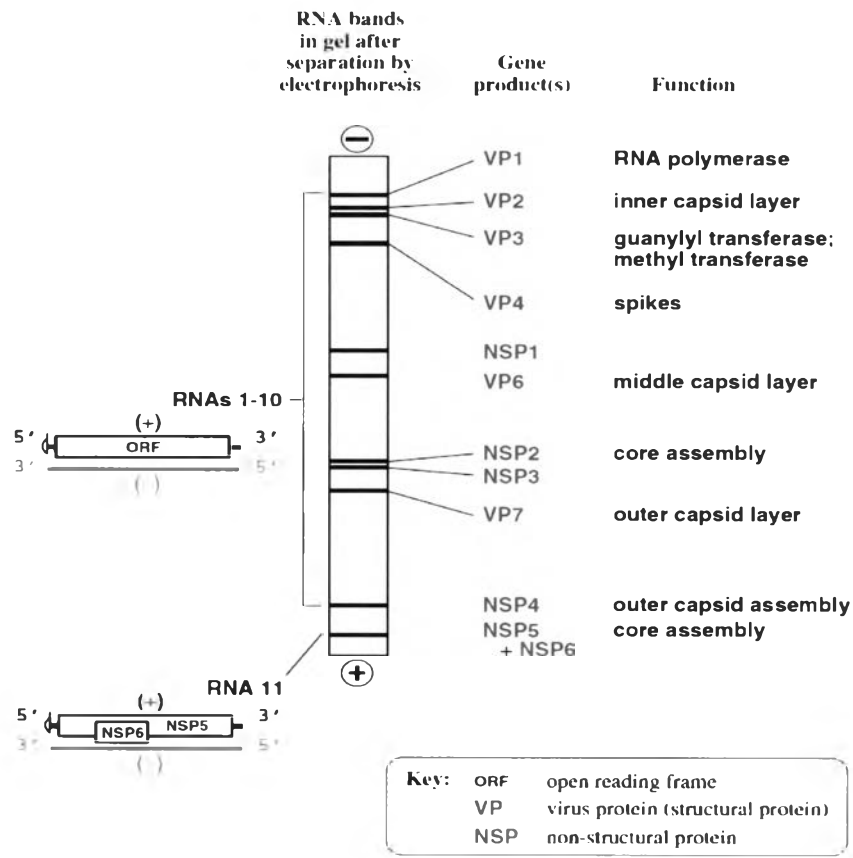
มีความยาว 1,062 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง structural protein VP7 ที่มี M.W. ขนาด 38.0 kDa VP7 ทำหน้าที่เป็น capsid protein ชั้นนอกสุดของอนุภาคไวรัส เป็นส่วนประกอบประมาณ 30% ของโปรตีนบนอนุภาคไวรัส ซึ่งมีปริมาณมากรองลงมาจากโปรตีน VP6 และเป็นโปรตีนที่ทนต่อการย่อยด้วย proteolytic enzyme และใช้สำหรับการจัดแบ่ง serotype ของไวรัสโรตาตามความแตกต่างของ epitope บน VP7 antigen เป็น G-serotype นอกจากนี้ยังพบว่า VP7 จะมีปฏิสัมพันธ์กับ VP4 โดย VP4 spike จะฝังตัวอยู่บน VP7 ซึ่งเป็นผิวนอกของอนุภาคไวรัสและในขณะเดียวกัน VP7 ก็จะมีปฏิสัมพันธ์กับ VP6 โดย VP7 ไป interact กับส่วนปลายยอดของ VP6 trimer

RNA genome ท่อนที่ 10

มีความยาว 751 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง non-structural protein NSP4 ที่มี M.W. ขนาด 28.0 kDa NSP4 ช่วยในการรวมตัวเป็นอนุภาคไวรัส (morphogenesis) และเป็นปัจจัยความรุนแรงของเชื้อ มีคุณสมบัติเป็น enterotoxin และมีบทบาทสำคัญที่ทำให้ระดับแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น

RNA genome ***ท่อนที่*** *11*

มีความยาว 667 bp ทำหน้าที่กำหนดการสร้าง non-structural protein NSP5 ที่มี M.W. ขนาด 26.0 kDa และ NSP6 ที่มีขนาด 12.0 kDa NSP5 ทำงานร่วมกับ NSP2 และ NSP6 รวมตัวเป็น homomultimer, O-linked glycosylation, hyperphosphorelated, จับกับ ssRNA เป็นส่วนประกอบของ viroplasm มีความสำคัญในกระบวนการ replication ส่วน NSP6 เป็นผลิตผลของ second open reading frame ทำงานร่วมกับ NSP5 พบอยู่ภายใน viroplasm



รูปที่ 5 ภาพแสดงจีโนมของไวรัสโรตาและผลผลิตโปรตีนที่ได้ ปลาย 5' ของอาร์เอ็นเอสายบวกของแต่ละยีนทั้ง 11 segments จะถูกแคปเอาไว้ โดยแต่ละยีนจะมีหนึ่ง Open reading frame (ORF) ยกเว้น ยีน segment ที่ 11 จะมีสอง ORF ซึ่งจะถูกอ่านในเฟรมที่ต่างกันได้เป็นโปรตีนสองชนิด ได้แก่ NSP5 และ NSP6 จากภาพเป็น pattern ของ dsRNA segments ทั้ง 11 segments ที่ถูกแยกตามขนาดของแต่ละยีนด้วยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis และผลผลิตโปรตีนที่ได้จากการถอดรหัสของแต่ละ segment (32)

การจัดจำแนกเชื้อไวรัสโรตา

ไวรัสโรตาถูกจัดแบ่งเป็น group ต่างๆ ได้เป็น 7 groups คือ Group A , B, C,D ,E, F และ G โดยอาศัยความแตกต่างของ antigenic determinants ของ middle capsid หรือโปรตีน VP6 ซึ่งเป็น serogroup antigen และเป็นโปรตีนที่มีมากถึง 51% บนอนุภาคของไวรัสโรตา โดยไวรัสที่อยู่ใน group เดียวกันจะมี antigenic determinant บน antigen ของโปรตีน VP6 ที่เหมือนกันคือมี group specific common antigen ร่วมกันนั่นเอง ในปัจจุบัน group ที่สำคัญและก่อให้เกิดโรคในคนและในสัตว์ ได้แก่ group A, B และ C ส่วน group D, E, F และ G พบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ group ที่พบในเด็กมากที่สุด คือ ไวรัสโรตา group A นอกจากนี้โปรตีน VP6 ยังมี antigen ที่จำเพาะต่อ subgroup ทำให้สามารถจำแนกไวรัสโรตา group A ออกเป็น subgroup (SG) I, II, I+II และ non-(I+II) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาหรือไม่ทำปฏิกิริยาของไวรัสกับ MAb ที่จำเพาะต่อ SG I หรือ SG II (6, 27, 28)

ไวรัสโรตา group A เป็นไวรัสที่มีความสำคัญทางระบาดวิทยาที่ทำให้เกิดโรคในคนและในสัตว์ และมีการระบาดอย่างกว้างขวางไปทั่วโลก ทำให้ไวรัสโรตา group A ได้รับความสนใจ และมีผู้ศึกษาวิจัยกันมาก และมีข้อมูลที่สมบูรณ์ที่สุด ส่วนไวรัสโรตา group B พบรายงานการระบาดทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงรุนแรงในผู้ใหญ่ในประเทศจีน และประเทศอินเดีย ส่วนไวรัสโรตา group C พบมีรายงานการระบาดเป็นครั้งคราว ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในเด็ก แต่ก็ไม่มีความสำคัญในแง่ระบาดวิทยามากนัก (33, 34)

ไวรัสโรตา group A สามารถแยกย่อยลงไปอีกเป็น serotype และ genotype โดยจำแนกตามโปรตีนในส่วนของ outer capsid เนื่องจากโปรตีนในส่วนนี้มีคุณสมบัติเป็น neutralization antigens การจำแนก serotype ของไวรัสชนิดนี้จึงจำแนกตามโปรตีนในส่วนของ outer capsid ซึ่งประกอบด้วย VP7 (G-type antigen) ซึ่งเป็น glycoprotein และ VP4 (P-type antigen) ซึ่งเป็น spike protein และมีคุณสมบัติไวต่อเอ็นไซม์ protease การจำแนกชนิดของไวรัสโรตานั้น ใช้หลัก binary system คือ ควบคู่กันไปทั้ง VP7 และ VP4 เนื่องจาก serotype และ genotype ของ G-type antigen ตามปกติมีลักษณะที่ตรงกันจึงใช้สัญลักษณ์แสดง serotype เพียงอย่างเดียว เช่น G1, G2, G3 แตกต่างจาก P-type antigen ที่ genotype มีความหลากหลายมากกว่า serotype จึงใช้สัญลักษณ์แสดง genotype

ซึ่งมีเครื่องหมาย [-] เป็นหลัก เช่น P[4], P[6], P[8] (25) ซึ่งในปัจจุบัน จีโนไทป์ของไวรัสโรตาสามารถจำแนกตามลำดับเบสบน outer capsid VP7 และ VP4 genes ได้เป็น 27 G-genotypes และ 35 P-genotypes ตามลำดับ ส่วนในการบ่งบอกชื่อทั้ง complete genome นั่นคือ ทั้ง 11 ยีน: VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 genes ได้อาศัยตัวอักษรที่แทนคุณสมบัติของยีนนั้นๆ เป็นชื่อเรียกของจีโนไทป์เหมือนกับยีน VP4 และ VP7: Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx โดย X คือ จีโนไทป์ที่จำแนกได้ ซึ่งในปัจจุบันทาง Rotavirus Classification Working Group (RCWG) ได้จำแนกจีโนไทป์ทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยจะอาศัยค่า Percentage identity cut-off ซึ่งเชื้อไวรัสโรตาที่อยู่ในจีโนไทป์เดียวกันจะต้องมีลำดับกรดอะมิโนเหมือนกันอย่างน้อยตามเปอร์เซนต์ identity cut-off ที่กำหนดในตาราง (9, 35, 36)

ตารางที่ 1 ค่า Percentage identity cut-off ที่กำหนดจีโนไทป์ของทั้ง 11 ยีน

Gene product	Cutt-off value (%)	Genotype (n)[a]	Description of gene product
VP7	80	G (27)	Glycolylated
VP4	80	P (35)	Protease sensitive
VP6	85	I (16)	Intermediate capsid shell
VP1	83	R(9)	RNA-dependent RNA polymerase
VP2	84	C (9)	Core shell protein
VP3	81	M (8)	Methyltransferase
NSP1	79	A (16)	Interferon antagonist
NSP2	85	N (9)	NTPase
NSP3	85	T (12)	Translation enhancer
NSP4	85	E (14)	Enterotoxin
NSP5/6	91	H (11)	Phosphoprotein

[a] จำนวนจีโนไทปน์ที่จำแนกได้ในปัจจุบัน

ในการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อไวรัสโรตา group A ในระยะแรกๆ ในช่วงปีประมาณปี ค.ศ. 1980 นั้น การแยกสายพันธุ์ไวรัสโรตาใช้ polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) เพื่อศึกษา pattern การเคลื่อนตัวของ RNA genome ทั้ง 11 ท่อนของไวรัสโรตา ซึ่งเรียกลักษณะการเคลื่อนตัว

ของ RNA genome นี้ว่า "electropherotype" โดยแยกเป็น (26, 27, 37)

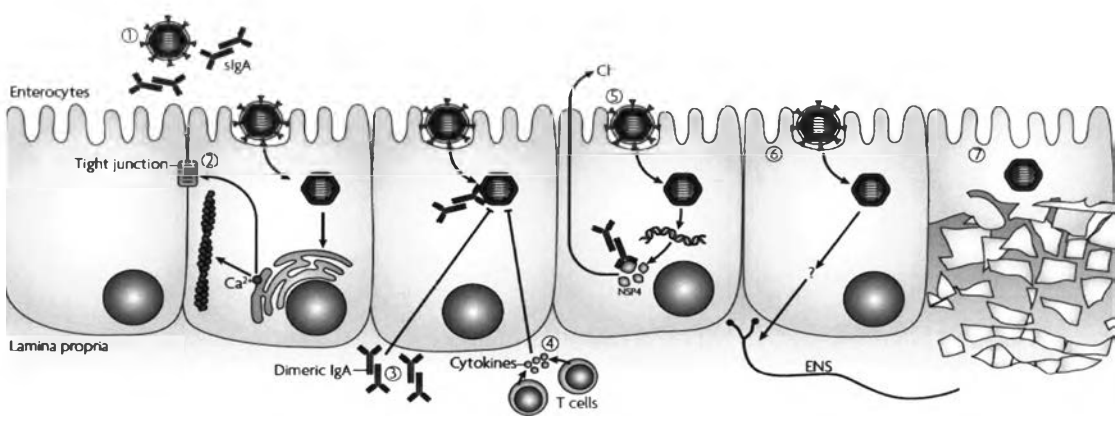
1) short pattern ลักษณะที่ไวรัสของคนเคลื่อนตัวของ RNA segment 11 ช้ากว่าปกติ ทำให้เคลื่อนตัวอยู่ระหว่าง segments ที่ 9 และ 10 ซึ่งลักษณะการเคลื่อนตัวแบบนี้จะพบในไวรัสโรตาของคนที่เป็น SG I

2) long pattern เป็นลักษณะที่ไวรัสของคนมีการเคลื่อนตัวของ RNA segment ที่ 10 และ 11 ได้เร็วกว่าปกติ ซึ่งจะพบในไวรัสโรตาของคนเกือบทั้งหมดที่เป็น SG II และ

3) super-short pattern ลักษณะการเคลื่อนตัวของ RNA segment ที่ 11 ช้ามากๆ และช้ากว่า strain ที่เป็น short pattern ซึ่งพบได้ในไวรัสโรตาของคน, วัว, หมู และกระต่าย ซึ่งมักจะเกิดจากการที่มี rearrangement ของ gene segment ที่ 11 แล้วทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงทำให้การเคลื่อนตัวช้าเป็นพิเศษ และไวรัสโรตาเหล่านี้มักเป็น strain ที่เป็น SG I

จากการศึกษา pattern การเคลื่อนตัวของ RNA genome พบว่า ไวรัสโรตา group A เกือบทั้งหมดจะมีลักษณะของ electropherotype, subgroup และ genotype แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มพันธุกรรมใหญ่ๆ และเรียกชื่อตาม prototype ของกลุ่มนั้นๆ คือ สายพันธุ์ Wa, DS-1 และ AU-1 ซึ่งจะพบว่า "กลุ่มพันธุกรรม DS-1 like" จะมีลักษณะเป็น short electropherotype, SG I และมี genotype G2 ซึ่งจะเข้าคู่กับ P[4] เป็นสายพันธุ์ G2P[4] มีการจำแนกจีโนไทป์ทั้ง 11 ยีนเป็น G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 ส่วน "กลุ่มพันธุกรรม Wa-like" จะมีลักษณะเป็น long electropherotype, SG II และมี genotypes เป็น G1, G3, และ G4 ซึ่งจะเข้าคู่กับ P[8] เป็นสายพันธุ์ G1P[8], G3P[8] และ G4P[8] และมีการจำแนกจีโนไทป์ของยีนที่เหลือเป็น I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 และ "กลุ่มพันธุกรรม AU-1" มี G-genotype เป็น G3 ซึ่งจะเข้าคู่กับ P[9] มีลักษณะเป็น super-short electropherotype, SG I มีการจำแนกจีโนไทป์ของยีนเป็น G3-P[9]-I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H3 ไวรัสสายพันธุ์ AU-1 นี้จะพบได้น้อยกว่าสองสายพันธุ์ดังกล่าว เนื่องจาก AU-1 จะมีลักษณะเหมือนไวรัสโรตาของแมว เชื่อว่าเป็นไวรัสของแมวที่ติดต่อมาสู่คน (26, 38-40)

เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสโรตา เชื้อจะเข้าไปเจริญเพิ่มจำนวนภายในเซลล์ enterocytes ซึ่งจะอยู่ที่ปลายยอดของ villi ของผนังลำไส้ การเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์จะทำให้เซลล์ enterocytes ถูกทำลาย มีผลให้การย่อยอาหารและการดูดซึมสารอาหารของเซลล์ enterocytes มีความบกพร่อง หรือสูญเสียไป จึงทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงขึ้น เมื่อ enterocytes ถูกทำลายมากๆ ร่างกายก็จะตอบสนองโดยมีการเคลื่อนตัวของ crypt cells จากบริเวณฐานของ villi ของผนังลำไส้เล็กขึ้นมาที่ปลายยอดของ villi เพื่อทดแทนเซลล์ enterocytes ที่ถูกทำลาย แต่เนื่องจาก crypt cells เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่หลั่งพวก electrolytes และน้ำ และยังเปลี่ยนแปลงตัวเอง (differentiate) ไปเป็น enterocytes ได้ไม่เต็มที่ เนื่องจากร่างกายต้องการตอบสนองอย่างรวดเร็ว ทำให้เปลี่ยนแปลงตัวเองไม่ทันจึงทำหน้าที่ในการดูดซึมได้ไม่ดี ซึ่งจะต่างจากการทดแทนเซลล์ enterocyte โดย crypt cells ในสภาวะปกติซึ่งจะต้องใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลง ในระหว่างที่มีอาการอุจจาระร่วงจะพบว่า villi ของผนังลำไส้เล็กจะมีการฝ่อ และหดสั้นลงและเซลล์ที่ปลายยอดของ villi จะพบเซลล์อ่อนที่ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ อย่างไรก็ตามการหดสั้นลงของ villi สามารถมีการฟื้นตัวและงอกกลับมาใหม่ได้ (22)

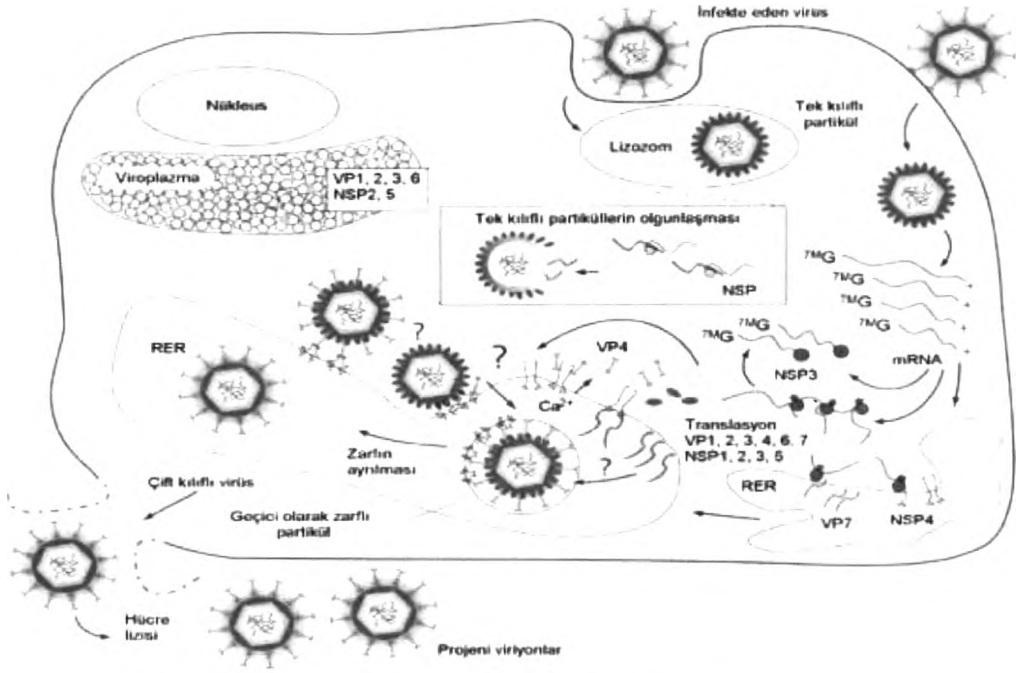


รูปที่ 6 กลไกทางพยาธิกำเนิดของเชื้อไวรัสโรตา (22)

วงชีวิตการเพิ่มจำนวนของไวรัสโรตา

วงชีวิตการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสโรตา เริ่มจากการที่อนุภาคไวรัสโรตาที่เป็น triple-layered particle จับกับ receptor ที่จำเพาะสำหรับไวรัสโรตาบนผิวเซลล์ หลังจากนั้นอนุภาคไวรัสโรตาจะเข้าสู่ภายในเซลล์ (penetration) การเข้าสู่เซลล์นี้อาจจะเข้าโดยวิธีการ endocytosis หากเข้าโดยวิธีนี้อนุภาคไวรัสก็จะอยู่ภายใน endosome หรือ lysosome หรือไวรัสโรตาอาจจะเข้าเซลล์โดยแทรกตัวผ่านผนังเซลล์โดยตรง (direct penetration) ก็ได้ หลังจากนั้นก็จะเข้าสู่ขั้นตอนของ uncoating โดยที่ capsid proteins ชั้นนอกสุดซึ่งประกอบด้วย VP4 และ VP7 จะถูกกำจัดออกจากอนุภาคไวรัส ทำให้ได้ subviral particle เรียกว่า double-layered particle (DLP) ซึ่งการกำจัด VP4 และ VP7 ออกจาก อนุภาคนี้จะส่งสัญญาณไปกระตุ้นให้ transcriptase enzyme complex เริ่มทำงาน จึงเกิดการ transcription ของ RNA genome แต่ละ segment ซึ่งมีทั้งหมด 11 segments แล้วปล่อย mRNA ออกมาใน cytoplasm ของเซลล์ ลักษณะของ mRNA ของไวรัสโรตาคือ ที่ปลาย 5' จะถูก capped (7MG) โดย methylase activity ของ VP3 ส่วนที่ปลาย 3' จะไม่มี poly A แต่จะมี consensus sequence ที่จะถูก recognized โดยโปรตีน NSP3 โดยที่ NSP3 ใช้ N-terminus จับกับ consensus sequence ที่ปลาย 3' ของ mRNA ส่วน C-terminus ของ NSP3 สามารถจับกับ eIF4G ซึ่งเป็น factor ที่จำเป็นสำหรับการ translation จึงช่วยทำให้เกิดการ translation ของ mRNA ของไวรัสโรตาได้เป็นอย่างดี mRNA นี้เป็น RNA สายบวก (positive stranded RNA) ที่เป็น full-length ตามขนาดของ RNA genome แต่ละ segment โดย mRNA นี้จะทำหน้าที่ 2 อย่าง อย่างที่หนึ่งคือ กำหนดการสร้างโปรตีนของไวรัสโรตา เมื่อถูก translated ก็จะได้ structural proteins และพวก non-structural proteins ของไวรัส โปรตีนของไวรัสเกือบทั้งหมดถูกสร้างบน free ribosomes ยกเว้น VP7 และ NSP4 ที่สร้างบน ribosome ที่เกาะอยู่กับ ER หน้าที่อีกประการหนึ่งของ mRNAคือ หน้าที่เป็น template ในการสร้าง RNA สายลบ ทำให้ได้เป็น dsRNA ที่จะเป็น RNA genome ของไวรัสโรตา ต่อไป พวก non-structural proteins ของไวรัสโรตา ซึ่งได้แก่ NSP1, NSP2, NSP3, NSP5 และ NSP6 ที่สร้างขึ้นมา จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกันเป็น DLP ที่บริเวณ viroplasm ของเซลล์ที่ติดเชื้อ ส่วน NSP4 จะเกี่ยวข้องกับการ assembly ของไวรัส โดยทำหน้าที่เป็น receptor บน membrane ของ ER ที่ DLP จะมาเกาะ สำหรับ structural proteins VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 และ VP7 เมื่อสร้าง

แล้วจะไปประกอบอยู่บนอนุภาคไวรัส โดย VP1-VP6 จะสร้างบน free ribosome ส่วน VP7 และ NSP4 จะสร้างบน ribosome ที่เกาะอยู่กับ ER เมื่อสร้างแล้ว VP7 และ NSP4 จะถูกเก็บไว้ใน lumen ของ ER โดย VP7 จะไป associate กับ membrane ของ ER ด้านใน lumen เป็น intergral membrane protein ส่วน NSP4 จะแทรกตัวกับผนัง ER เป็น transmembrane protein สำหรับ VP4 เมื่อสร้างเสร็จแล้วจะถูกส่งไปที่ผิวด้านนอกของ ER และไป associate กับ NSP4 ส่วน DLP ที่มีการรวมกันของ RNA genome และโปรตีนของไวรัสเกิดขึ้นที่ viroplasm แล้วต่อมาจะมาเกาะกับ NSP4 บน membrane ของ ER และดันตัวผ่านผนัง ER บริเวณที่มี VP4 associate อยู่กับ NSP4 และเมื่อมีการ budding ของ DLP เข้าไปใน lumen ของ ER ก็จะทำให้ DLP ได้รับ membrane ของ ER มาเป็น envelope ชั่วคราวของ DLP และจะมีการ form ตัวเป็น mature virion โดยจะมี VP4 ที่ associate อยู่กับ NSP4 ติดมากับ membrane ของ ER ด้วย และเข้าไปอยู่ด้านในของ envelope ชั่วคราวนี้ สำหรับ VP7 ซึ่งมีอยู่ใน lumen ของ ER อยู่แล้วโดยอาจจะจับอยู่กับปลาย NSP4 ที่ยื่นเข้ามาใน lumen ทำให้ติดอยู่กับ NSP4 ในขณะที่มีการ budding ของ DLP จึงทำให้ VP7 associate อยู่กับ DLP ภายใน envelope ชั่วคราวนั้น หรือ VP7 อาจจะอยู่ในรูปของ VP7 ที่ associate กับผนังด้านในของ ER เป็น intergral membrane protein ซึ่งถูกนำเข้ามาใน envelope ชั่วคราวนั้นในขณะที่ DLP budding ผ่านผนัง ER นี้ ทำให้ VP4 และ VP7 มี interaction ต่อกัน และมี interaction กับ VP6 ซึ่งเป็นโปรตีนที่หุ้ม DLP อยู่ จึงทำให้ VP7 และ VP4 จัดเรียงตัวเป็นเปลือกนอกสุดที่หุ้ม DLP ไว้ภายใน จึงเกิดเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ (mature virion) ที่เรียกว่า triple-layered particle (TLP) ส่วน envelope ชั่วคราวที่ได้มาจาก membrane ของ ER นั้นจะถูกกำจัดไป และ TLP นี้จะออกจากเซลล์โดยการทำให้เซลล์แตก (lysis) ทำให้ได้ไวรัสลูกหลานออกมาจากเซลล์ที่ติดเชื้อนั้น แล้วเข้าไปเพิ่มจำนวนในเซลล์อื่นที่อยู่ข้างเคียงต่อไป ก็จะเป็นการเริ่มวงจรชีวิตการเพิ่มจำนวนรอบใหม่อีก (28, 32)



รูปที่ 7 แผนภาพวงชีวิตการเพิ่มจำนวนของไวรัสโรตา (32)

การติดต่อ

โรคอุจจาระร่วงที่มีสาเหตุจากไวรัสโรตา ติดต่อกันได้โดยการกิน (fecal-oral route) โดยเชื้ออาจจะปนเปื้อนอยู่ในน้ำ อาหาร หรือเครื่องใช้ต่างๆ ตลอดจนของเล่นของเด็ก และหากมีการสัมผัสเชื้อที่มือก็มีโอกาสที่จะรับเชื้อเข้าทางปากได้ เนื่องจากการติดและแพร่กระจายเชื้อไวรัสโรตาเป็นไปได้ง่ายและรวดเร็วคล้ายการติดเชื้อไวรัสทางระบบหายใจ การตรวจพบเชื้อไวรัสโรตา ในช่องคอและจมูก ทำให้เป็นที่สงสัยว่าเชื้อนี้สามารถติดต่อทางระบบทางเดินหายใจได้ โดยเฉพาะเมื่อคนต้องอยู่รวมกันในที่จำกัด เช่น ระหว่างฤดูหนาวในประเทศเขตอบอุ่น ซึ่งพบว่าเป็นฤดูที่ไวรัสโรตา ระบาดเป็นประจำทุกปี

ลักษณะอาการทางคลินิก

โรคอุจจาระร่วงจากการติดเชื้อ rotavirus มีระยะฟักตัวประมาณ 24-48 ชั่วโมง ในผู้ใหญ่มักมีระยะฟักตัวนานกว่าคือ ประมาณ 2-4 วัน หลังจากติดเชื้อ การติดเชื้อ rotavirus อาจไม่ทำให้ป่วย บางคนอาจมีอาการเพียงเล็กน้อย เด็กเล็กที่ขาดภูมิต้านทานจากมารดา เมื่อติดเชื้อครั้งแรกอาจมีอาการรุนแรง

ลักษณะอาการของโรคคล้ายกับอาการอุจจาระร่วงด้วยสาเหตุอื่นๆ อาการที่พบบ่อย คือ มีไข้

ประมาณ 37.9 °C มีอาเจียนเนื่องจากลำไส้เคลื่อนไหวน้อยลง ผู้ป่วยบางรายอาจอาเจียนอยู่ 2-3 วัน อาการอุจจาระร่วงเกิดต่อจากอาการอาเจียน และเป็นอยู่นานประมาณ 2-5 วัน ลักษณะอุจจาระเป็นน้ำ ระยะนี้ผู้ป่วยจะขับเชื้อไวรัสโรตา ออกมากับอุจจาระเป็นจำนวนมาก เป็นระยะแพร่เชื้อ ผู้ป่วยผู้ใหญ่มักมีอาการอาเจียนมากกว่าอุจจาระร่วง อาการอุจจาระร่วงถ้ารุนแรงและอาเจียนมากจะทำให้ผู้ป่วยสูญเสียน้ำในร่างกาย (dehydration) เกิดภาวะเสียสมดุลย์ของ electrolytes เกิดสภาวะเป็นกรดของร่างกาย (acidosis) เป็นเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ถ้าไม่ได้รับการรักษาโดยทันท่วงที ผู้ป่วยอายุต่ำกว่า 30 เดือน มีอัตราเสี่ยงต่อการตายสูงกว่าเด็กโต เด็กมักเสียชีวิตในวันที่ 1-3 หลังจากแสดงอาการ การเสียชีวิตอาจเกิดจากการสำลักอาเจียนหรืออาการชัก

ความรุนแรงของโรคและระยะเวลาป่วยที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละคนนั้น ขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ภูมิต้านทานที่เด็กแรกเกิดได้รับจากแม่ หรือภูมิต้านทานภายหลังการติดเชื้อครั้งก่อน ทำให้การติดเชื้อแสดงอาการเล็กน้อยหรือไม่มีอาการ ดังนั้น เด็กอายุต่ำกว่า 6 เดือน และเด็กอายุมากกว่า 2 ขวบ รวมทั้งผู้ใหญ่จึงมีอัตราการป่วยต่ำกว่าเด็กในวัย 6-24 เดือน

การรักษา

สำหรับการรักษาโรคทางเดินอาหารอักเสบจากไวรัสโรตา ยังไม่มียาต้านไวรัสใดที่รักษาได้อย่างจำเพาะเจาะจง แพทย์จะรักษาตามอาการที่ผู้ป่วยเป็น เช่น อาการขาดน้ำและเกลือแร่ แพทย์จะพิจารณาให้ดื่มน้ำเกลือแร่ทดแทน หากมีอาการขาดน้ำอย่างรุนแรง แพทย์จะรับเข้ารักษาในโรงพยาบาลเพื่อให้สารละลายน้ำเกลือทางหลอดเลือดดำ ส่วนอาการอื่นๆ จะพิจารณารักษาตามอาการด้วยยา เช่น ยาลดไข้ และยาแก้อาเจียน เป็นต้น

ปัจจุบันมีวัคซีนไวรัสโรตาหลายชนิดที่อยู่ระหว่างการพัฒนา และมีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่ได้รับการขึ้นทะเบียนให้ใช้ได้อย่างแพร่หลายทั่วโลก คือ Monovalent Human rotavirus vaccine ชนิด P1A[8]G1 ในชื่อการค้า RotaRix® และ Multivalent Human-bovine rotavirus reassortants vaccine เป็นวัคซีนที่มีไวรัสที่เข้าชุดใหม่ (reassortant virus) 5 ชนิด ซึ่งมีโปรตีนที่ชั้นนอก (G1, G2, G3, และ G4) ได้จากไวรัสโรตาของมนุษย์ และ P protein ชนิด (P7[5]) จากไวรัสโรตาของวัว ในชื่อการค้า RotaTeq

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

โรคอุจจาระร่วงจากการติดเชื้อโรตาไวรัส มีอาการทางคลินิกที่คล้ายกันกับโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อไวรัส และแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ จึงไม่สามารถวินิจฉัยโรคจากอาการทางคลินิกเพียงอย่างเดียวได้ ดังนั้น จึงต้องมีวิธีการตรวจอื่นๆร่วมด้วย ได้แก่

1. การตรวจตัวอย่างตรวจโดยตรง

ตัวอย่างตรวจคืออุจจาระซึ่งควรเก็บในระยะ 1-4 วันแรกที่ผู้ป่วยแสดงอาการ นำตัวอย่างมาตรวจหาอนุภาคไวรัส หรือแอนติเจน หรือจีโนมของไวรัส

การตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน จะเห็นอนุภาคไวรัสมีลักษณะคล้ายล้อเกวียนขนาด 70 นาโนเมตร แตกต่างจาก enteric viruses ชนิดอื่น ๆ อย่างชัดเจน วิธีนี้มีข้อเสียที่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง และไม่เหมาะในการตรวจตัวอย่างจำนวนมากๆ อาจดัดแปลงให้มีความไวและความจำเพาะเพิ่มขึ้นโดยใช้แอนติบอดีจำเพาะทำให้ไวรัสเกิดการ agglutinate เสียก่อน เพื่อจะได้ตรวจหาไวรัสได้ง่ายขึ้นเรียกว่าเทคนิค Immune Electron Microscopy (IEM)

การตรวจหาแอนติเจน นิยมทำด้วย ELISA, Latex agglutination, reverse passive hemagglutination (RPHA) เป็นต้น

การตรวจหาจีโนม ทำได้ด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE), reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) สามารถใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสได้ ส่วนวิธี dot blot hybridization ยังเป็นวิธีที่แพงและทำได้ยากกว่า

2. การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม โดยเจาะเลือด 2 ครั้ง ห่างกัน 2-4 สัปดาห์ โดยตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสชนิด sIgA ในสารคัดหลั่ง และในอุจจาระ ด้วยวิธี ELISA และ complement fixation test การตรวจหาแอนติบอดีนิยมทำกันในงานศึกษาระบาดวิทยามากกว่าเพื่อการวินิจฉัยโรค เพราะจะได้ผลการตรวจช้าไม่ทันใช้ประโยชน์ ในแง่ของการดูแลรักษาผู้ป่วย

3. การแยกเชื้อไวรัส เชื้อ Rotavirus ของคนเจริญเพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ไม่ดีนัก จึงไม่นิยมใช้วิธีนี้ในการเพาะเลี้ยงแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้กันคือ Monkey kidney cell line (MA 104) หรือ Human colon carcinoma cell line (CaC0-2) เซลล์ติดเชื้อไม่แสดง Cytopathic effect (CPE) ที่ชัดเจน จากนั้นนำเซลล์ที่ติดเชื้อมาตรวจหาแอนติเจนจำเพาะด้วยวิธีอิมมูนเรืองแสง การที่สามารถแยกเชื้อไวรัสได้จึงทำให้สามารถศึกษาคุณสมบัติของ Rotavirus ได้ง่ายขึ้น