

นิพนธ์ต้นฉบับ

ซีโรทัยป์ของเชื้อ *Bordetella pertussis* ที่แยกได้จาก บางแห่งในประเทศไทย ระหว่าง พ.ศ. 2523 - 2527

พิพัฒน์ ลักขมัจจุรกุล*

Luksamijarulkul P. The serotypes of *Bordetella pertussis* prevalent in some areas of Thailand from 1980 to 1984. Chula Med J 1986 Dec; 30(12) : 1201-1207

*Twenty-Three isolates of *Bordetella pertussis* from some areas of Thailand from 1980 to 1984 were tested for their serotypes. It was found that of 17 isolates from the Children's Hospital, Bangkok there were 5 strains of serotype 1.2.0, 9 strains of serotype 1.2.3 and 3 strains of serotype 1.0.3. The 4 isolates from the community of Buayai District, Nakhonratchasima Province consisted of the serotype 1.2.3 (3 strains) and serotype 1.0.3 (1 strain). Two other isolates from the community of Nongyaplong District, Phetburi Province (1 strain) and Wiangpapao District, Chiangrai Province (1 strain) were of the serotype 1.0.3. All of them were isolated from pertussis patients with incomplete or no DTP vaccination. The changing of serotypes in the recent years is also discussed in this paper. The determination of *B. pertussis* serotypes prevalent in the local community may be valuable in the search for a suitable strain in the vaccine production against pertussis in Thailand.*

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โรคไอกรนเป็นโรคติดต่อทางเดินหายใจเฉียบพลันในเด็กเล็กและทารกโรคหนึ่ง ผู้ป่วยกว่าร้อยละ 80 เป็นเด็กอายุต่ำกว่า 6 ปี⁽¹⁾ ในปัจจุบันโรคไอกรนมีแนวโน้มเป็นในเด็กโตมากขึ้น^(2,3) ประเทศไทยมีการใช้วัคซีนป้องกันโรคไอกรนมาตั้งแต่ พ.ศ. 2520 แต่อัตราป่วยของโรคยังไม่ลดลง กลับอาจมีแนวโน้มสูงขึ้น⁽¹⁾ อย่างไรก็ตามอัตราการป่วยที่แน่นอนอาจสูงหรือต่ำกว่าที่รายงานก็ได้ เนื่องจากปัญหาในการวินิจฉัยโรค ผู้ป่วยเพียงร้อยละ 20 ที่มีอาการไอแบบ paroxysmal cough⁽⁴⁾ ในทางกลับกัน การติดเชื้อไวรัส adenovirus, respiratory syncytial virus และ cytomegalovirus อาจเป็นสาเหตุของโรคที่มีอาการคล้ายโรคไอกรน⁽⁵⁾ การวินิจฉัยที่แน่นอนที่สุดได้แก่ การแยกเชื้อ *Bordetella pertussis* จากผู้ป่วยได้ แต่มีปัญหายุ่งยาก^(6,7) สามารถแยกเชื้อได้น้อย ดังนั้นการศึกษาเพื่อหาคุณสมบัติของสายพันธุ์ที่แยกได้จึงมีน้อยด้วย การศึกษาซีโรทัยป์ของสายพันธุ์ที่ระบาดในแต่ละท้องถิ่นที่มีความสำคัญ สามารถบอกการเปลี่ยนแปลงทางระบาดวิทยาของเชื้อและในการพัฒนาหรือปรับปรุงคุณภาพของวัคซีนที่มีอยู่ให้ถูกต้องกับซีโรทัยป์ที่เป็นสาเหตุของโรคในชุมชนเนื่องจากความสามารถในการป้องกันโรคไอกรนเป็นแบบจำเพาะซีโรทัยป์ (serotype-specific protection)^(8,9) ซึ่งเป็น species specific นั่นคือ ภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเชื้อ *B. pertussis* ซีโรทัยป์หนึ่งสามารถป้องกันโรคที่เกิดจากซีโรทัยป์เดียวกันแต่อาจไม่สามารถป้องกันโรคที่เกิดจากซีโรทัยป์อื่น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

(1). ทดสอบหาซีโรทัยป์ของสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคไอกรน จากหลาย ๆ จังหวัด ตั้งแต่ พ.ศ. 2523-2527

(2). หาความสัมพันธ์ของซีโรทัยป์ที่แยกได้กับประวัติการได้รับวัคซีนป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน (วัคซีน ดีพีพี) ของผู้ป่วย

(3). ดูแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงซีโรทัยป์ของเชื้อไอกรนที่แยกได้

วัสดุและวิธีการ

เชื้อไอกรน (*B. pertussis*) ที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยที่มีอาการไอและวินิจฉัยว่าเป็นโรคไอกรนในโรงพยาบาลหรือในชุมชนที่มีการระบาดของโรค ได้แก่ โรงพยาบาลเด็ก กรุงเทพฯ (พ.ศ. 2523), กิ่งอำเภอนองหญ้าปล้อง จังหวัดเพชรบุรี (พ.ศ. 2527), อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา (พ.ศ. 2525-2526), อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย (พ.ศ. 2527) รวม 23 สายพันธุ์ทุกสายพันธุ์ได้รับการทดสอบว่าเป็นเชื้อไอกรน *B. pertussis* Phase I โดย Pooled Standard anti-pertussis serum ซึ่งได้รับจาก Division of Biological Standards NIH, Bethesda, Maryland USA. แล้วเก็บในรูปของ lyophilized form เก็บที่ 4-8 ซี เพื่อรอการทดสอบหซีโรทัยป์พร้อม ๆ กัน เมื่อจะนำมาทดสอบหาซีโรทัยป์ให้นำแต่ละสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Bordet-Gengou agar ที่ผสมเลือดแกะ 15-20% อบที่ 37 ซี ภายใต้สภาวะที่มีความชื้น นาน 3-5 วัน จะได้เชื้อที่มีลักษณะโคโลนีเล็ก เรียบเป็นมันเหมือนไข่มุก เมื่อทดสอบด้วย Pooled Standard anti-pertussis serum (Phase I) ให้ผลบวก แล้วนำโคโลนีที่ได้มาทดสอบหซีโรทัยป์โดยใช้วิธี Slide agglutination test กับ Monovalent anti-pertussis (Standard) serum ชนิดต่อซีโรทัยป์ 1 ซีโรทัยป์ 2 และ ซีโรทัยป์ 3 ของ Rijkf Instituut Voor De Volkseezondheid Bilthoven, Netherland ตามวิธีของ Preston, 1970⁽⁶⁾

การอ่านผล

3⁺ เมื่อเกิด complete agglutination ภายใน 3 นาที

- 2⁺ เมื่อเกิด complete agglutination ภายใน 5 นาที
- 1⁺ เมื่อเกิด incomplete agglutination ภายใน 5 นาที และ complete agglutination ภายใน 10 นาที
- ± เมื่อเกิด trace agglutination ภายใน 10 นาที
- 0 เมื่อไม่เกิด agglutination ภายใน 10 นาที

การทดสอบแต่ละครั้งจะทำ positive control โดยใช้เชื้อ *B. pertussis* สายพันธุ์มาตรฐานที่ได้รับจาก Division of Biological Standards NIH, Bethesda, Maryland USA. (Strain 134) ทำปฏิกิริยากับ Standard anti-pertussis serum สำหรับ negative control จะใช้ *B. pertussis* สายพันธุ์ดังกล่าวทำปฏิกิริยากับน้ำเกลือ นอร์มัลแทน ในการทดสอบหาซีโรทัยป์นี้หากพบ

สายพันธุ์ใดเกิด auto-agglutination สายพันธุ์นั้นให้ตัดออกจากการศึกษา

ผลการศึกษา

จากการทดสอบหาซีโรทัยป์ของเชื้อไอกรนที่แยกได้ จำนวน 23 สายพันธุ์พบว่า เชื้อไอกรนที่แยกได้จากผู้ป่วยในกรุงเทพมหานคร 17 สายพันธุ์ เป็นซีโรทัยป์ 1.2.0 จำนวน 5 สายพันธุ์ ซีโรทัยป์ 1.2.3 จำนวน 9 สายพันธุ์ และซีโรทัยป์ 1.0.3 จำนวน 3 สายพันธุ์ ในขณะที่เชื้อไอกรนที่แยกได้จากการระบาดของโรคในอำเภอบวใหญ่ จังหวัด นครราชสีมา 4 สายพันธุ์ เป็นซีโรทัยป์ 1.2.3 จำนวน 3 สายพันธุ์ และซีโรทัยป์ 1.0.3 จำนวน 1 สายพันธุ์ สำหรับเชื้อไอกรนที่แยกได้จากชุมชนที่มีการระบาดของโรคในเขตกิ่งอำเภอหนองหญ้าปล้อง จังหวัดเพชรบุรี 1 สายพันธุ์ และอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย 1 สายพันธุ์ เป็นซีโรทัยป์ 1.0.3 ทั้ง 2 แห่ง ดังแสดงใน Table 1

Table 1 The serotypes of *B. pertussis* isolated from different areas in Thailand, 1980-1984.

Areas	Serotypes of <i>B. pertussis</i>			Total
	1.2.0	1.2.3	1.0.3	
Children's Hospital Bangkok (1980)	5	9	3	17
Nongyaplong District Phetburi Province (1984)	—	—	1	1
Buayai District Nakhonratchasima Province (1982-83)	—	3	1	4
Wiangpapao District Chiangrai Province (1984)	—	—	1	1
Total	5	12	6	23

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของซีโรทัยป์ที่แยก เป็นซีโรทัยป์ 1.0.3 ดังแสดงใน Table 2 ได้ พบว่า เชื้อไอกรนที่แยกได้ในระยะหลัง ๆ มัก

Table 2 The serotypes of *B. pertussis* prevalent in Thailand from 1980 to 1984

Years	Serotypes of <i>B. pertussis</i>			Total
	1.2.0	1.2.3	1.0.3	
1980	5	9	3	17
1982-83	—	3	1	4
1984	—	—	2	2
Total	5	12	6	23

การศึกษานี้ได้หาความสัมพันธ์ของซีโรทัยป์ที่แยกได้กับประวัติการได้รับวัคซีน ดีทีพี ของผู้ป่วย พบว่า เชื้อไอกรนที่แยกได้ทั้งหมด 23 สายพันธุ์ ไม่พบสายพันธุ์ใดแยกได้จากผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับวัคซีน ดีทีพี ครบ 3 ครั้ง แต่พบ 2 สายพันธุ์ (ซีโรทัยป์ 1.2.3 และ 1.0.3 อย่างละ 1 สายพันธุ์)

แยกได้จากผู้ป่วยที่มีประวัติเคยได้รับวัคซีน ดีทีพี 1 หรือ 2 ครั้ง ผู้ป่วยทั้ง 2 รายนี้ เป็นเด็กอายุ 5 ปี และ 9 ปี ตามลำดับ ที่เหลืออีก 20 สายพันธุ์ แยกได้จากผู้ป่วยที่มีประวัติไม่เคยได้รับวัคซีนดีทีพี มาก่อน ผู้ป่วยกลุ่มนี้ ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 85) เป็นเด็กอายุ 2-6 เดือน ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Relation between DTP vaccination history of patients and serotypes of infecting strains of *B. pertussis*

Vaccination history	Serotypes			Ages of patients	Total
	1.2.0	1.2.3	1.0.3		
Fully vaccination (DTP 3 doses)	—	—	—	—	—
Partially vaccination (DTP 1 - 2 doses)	—	1	1	5-9 Y	2
No vaccination	5	10	2	2-6 Mo	20
	—	1	2	5-9 Y	
Unknown	—	—	1	5-9 Y	1
Total	5	12	6	2 Mo-9 Y	23

DTP = Diphtheria and Tetanus toxoids and Pertussis vaccine

Y = Year

Mo = Month

Table 4 แสดงรายละเอียดของการทดสอบหาซีโรทัยป์ของเชื้อไอกรนที่แยกได้ทั้งหมด 23 สายพันธุ์ ปฏิกริยาส่วนใหญ่ให้ผลการจับกลุ่มแบบคที่เรีย

(agglutination) อ่างง่าย มีเพียง 1 สายพันธุ์ (ซีโรทัยป์ 1.2.0) ที่ให้ผล trace agglutination กับ anti-serum ต่อ ทัยป์ 2

Table 4 Details of serological typing of strains of *B. pertussis*

Serotypes	Agglutination by anti-serum			No. of strain	Total
	1	2	3		
1.2.0	3 ⁺	3 ⁺	0	3	5
	3 ⁺	2 ⁺	0	1	
	3 ⁺	±	0	1	
1.2.3	3 ⁺	3 ⁺	3 ⁺	3	12
	3 ⁺	3 ⁺	2 ⁺	6	
	3 ⁺	3 ⁺	1 ⁺	1	
	3 ⁺	1 ⁺	3 ⁺	2	
1.0.3	3 ⁺	0	3 ⁺	4	6
	3 ⁺	0	2 ⁺	2	

วิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ซีโรทัยป์ของเชื้อไอกรนที่มีอยู่ในชุมชนของประเทศไทย พบได้ทั้งซีโรทัยป์ 1.2.0, 1.2.3 และ 1.0.3 โดยในกรุงเทพมหานครพบทั้ง 3 ซีโรทัยป์ แต่ในชุมชนต่างจังหวัดส่วนใหญ่พบเพียง 2 ซีโรทัยป์ คือ ซีโรทัยป์ 1.2.3 และ 1.0.3 โดยแนวโน้มของเชื้อที่แยกได้ในระยะหลังมักเป็นซีโรทัยป์ 1.0.3 การศึกษาของ ครรชิตและคณะ⁽¹⁰⁾ สามารถแยกเชื้อไอกรนซีโรทัยป์ 1.0.3 จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลสวนดอก จังหวัดเชียงใหม่ นริกุลและคณะ⁽¹¹⁾ ก็สามารถแยกเชื้อไอกรนซีโรทัยป์ 1.0.3 จากผู้ป่วยที่มารักษาที่โรงพยาบาลเด็ก กรุงเทพมหานคร ยิ่งไปกว่านั้นผู้วิจัยยังพบว่า เชื้อที่แยกได้แยกได้จากผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับวัคซีน ดีทีพี ครบ 3 ครั้ง⁽¹⁰⁾ สำหรับการศึกษาในนี้ยังไม่สามารถแยกเชื้อจากผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับวัคซีนครบ 3 ครั้ง อาจ

เนื่องจากผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันบางส่วน⁽¹²⁾ การศึกษาที่จังหวัดพะเยา พ.ศ. 2528 พบผู้ป่วยโรคไอกรนที่มีประวัติเคยได้รับวัคซีน ดีทีพี ครบ 3 ครั้ง ร้อยละ 5 ของผู้ป่วยทั้งหมด แต่วินิจฉัยโดยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา ผู้ป่วยกลุ่มนี้ไม่สามารถแยกเชื้อได้⁽¹³⁾

ในประเทศ Great Britain พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงซีโรทัยป์ที่เป็นสาเหตุของโรคไอกรนจากเดิมส่วนใหญ่เป็นซีโรทัยป์ 1.2.0 มาเป็นซีโรทัยป์ 1.0.3 คาดว่าเป็นผลกระทบจากการใช้วัคซีน ดีทีพี และพบว่า จำนวนซีโรทัยป์ที่แยกได้ 1.2.3 มีจำนวนมากกว่า ซีโรทัยป์ 1.2.0⁽¹⁴⁾ เช่นเดียวกับการศึกษานี้

การศึกษาหาซีโรทัยป์ที่เป็นสาเหตุของโรคมีประโยชน์ในการติดตามความเปลี่ยนแปลงของโรคทางระบาดวิทยา และอาจมีผลในการพัฒนาหรือ

ปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้ในการผลิตวัคซีนในการป้องกันโรค เนื่องจากภูมิคุ้มกันโรคไอกรนเป็นแบบจำเพาะต่อโรหัยปี^(8,9) สายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้ผลิตวัคซีนควรเป็นเชื้อโรหัยปีที่แยกได้จากชุมชนของประเทศหรือท้องถิ่น สำหรับในประเทศไทยใช้สายพันธุ์ที่ได้รับจากต่างประเทศ⁽¹⁵⁾ ซึ่งการศึกษาของ ครรชิตและคณะ⁽¹⁰⁾ นรีกุลและคณะ⁽¹¹⁾ พบว่า สายพันธุ์ที่ใช้ผลิตวัคซีน มีการเปลี่ยนแปลงซึ่ง-

โรหัยปีไปจากเดิมซึ่งอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของวัคซีนได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณระบุนุ จิระไพศาลพงศ์ และเจ้าหน้าที่ของหน่วยวัคซีน ดีทีพี กองชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการศึกษาครั้งนี้

อ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข กองระบาดวิทยา. สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี พ.ศ. 2520-2526. กรุงเทพมหานคร
2. Luksamijarulkul P, Gunakasem P, Phirapakorn S, Songkasuwan P. The outbreak investigations of pertussis in Nakhonratchasima Province, Thailand. *J Public Health* 1985; 15(3) : 187-197
3. Nelson JD. The changing epidemiology of pertussis in young infants : the role of adults as reservoirs of Infection. *Am J Dis Child* 1978 Apr; 132(4) : 371-373
4. Wilson AT, Henderson IR, Moore EJH, Heywood SN. Whooping-cough : difficulties in diagnosis and ineffectiveness of immunization. *Br Med J* 1965 Sep 11; 2(5462) : 623-626
5. Sturdy PM, Court SD, Gardner PS. Viruses and whooping-cough. *Lancet* 1971 Oct 30; 2(7731) : 978-979
6. Preston NW. Technical problems in the laboratory diagnosis and prevention of whooping cough. *Lab Pract* 1970; 19 : 480-486
7. Ross FW, Cumming CG. Isolation of *Bordetella Pertussis* from swabs. *Br Med J* 1981 Aug 8; 283(6288) : 403-404
8. Preston NW. Type-specific immunity against whooping-cough. *Br Med J* 1963 Sep 21; 2(5359) : 724-726
9. Preston NW, Stanbridge TN. Mouse or man? Which are pertussis vaccines to protect? *J Hyg (Camb)* 1976 Apr; 76(2) : 249-259
10. ครรชิต ลิมปิภาณจนารัตน์, สุมาลี พงกุษากร, นรีกุล สุรพัฒน์. การศึกษาโรคไอกรนในโรงพยาบาล-นครเชียงใหม่ พ.ศ. 2524-2525. *เชียงใหม่เวชสาร* 2526 มกราคม; 22(1) : 15-23
11. นรีกุล สุรพัฒน์, สุริวรรณ พีระนันท์รังษี, อุดม เล็กสมบูรณ์, อัมพร เรืองจันทร์. Serotype ของเชื้อวัคซีนไอกรนที่ผลิตในประเทศไทย. (บทคัดย่อ) การสัมมนา ระบาดวิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 3 วันที่ 20-22 สิงหาคม 2528 จัดโดยกองระบาดวิทยา สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ 2528.
12. Cruickshank R, Calder MC, Duguid JP, Elias-Jones TF. Diagnosis of whooping cough : comparison of serological tests with isolation of *Bordetella pertussis* : a combined Scottish study. *Br Med J* 1970 Dec 12; 4(5136) : 637-639
13. Luksamijarulkul P, Pinyowiwat W, Tamsathienchai K. Whooping cough outbreak in Phayao, Thailand 1985. (In press).
14. Bronne-Shanbury CJ, Miller D, Standfast AFB. The serotypes of *Bordetella pertussis* isolated in Great

Britain between 1941 and 1968
and a comparison with the serotypes
observed in other countries over
this period. J Hyg (Camb) 1976

Apr; 76(2) : 265-275

15. กระทรวงสาธารณสุข กองชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม.
(ติดต่อส่วนตัว)

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 9 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2529