

รายงานการวิจัย ฉบับสมบูรณ์

รหัสโครงการ P-13-50158

การศึกษาภูมิคุ้มกันต่อโรคคอตีบจากเชื้อ *Corynebacterium diphtheriae*
ไอกรนจากเชื้อ *Bordetella pertussis* และบาดทะยักจากเชื้อ *Clostridium tetani*

The study of immunity to Diphtheria from *Corynebacterium diphtheriae*,
Pertussis from *Bordetella pertussis* and Tetanus from *Clostridium tetani*

หัวหน้าโครงการ	นางสาวสุดา ลุยศิริโรจนกุล
	สังกัดคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
ที่มาของทุนวิจัย	สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.)

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

การศึกษานี้กราบขอขอบพระคุณผู้ร่วมวิจัยและที่ปรึกษาโครงการ ศาสตราจารย์นายแพทย์ประเสริฐ ทองเจริญ และ ศาสตราจารย์ ดร. พิไลพันธ์ พุฒวันนะ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และแพทย์หญิงสร้อยสอางค์ พิกุลสด ผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

นอกจากนี้ขอขอบคุณผู้ประสานงานคุณสินีนาฏ อุทา และคุณทัศนีย์ สกุลดำรงพานิช จาก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และคณะทำงานที่จัดเก็บตัวอย่างซีรัมของจังหวัดในเครือข่ายของ ภาคบริการโลหิตแห่งชาติจากภาคเหนือ: คุณกมลรัตน์ พุทธิมูล (เชียงใหม่และลำปาง), คุณสุรเชษฐ์ อ่อนแสง (พิษณุโลก), คุณวชิราภรณ์ ยนต์วิเศษ (นครสวรรค์); ภาคกลาง: คุณสินีนาฏ อุทา (กรุงเทพฯ), คุณพัชรากร กรำกระโทก (ลพบุรี), คุณณัฐชนิตา เพ็ญชัยภูมิ (ชลบุรี), และคุณนันทิภักดิ์ สาวิสุน (ราชบุรี); ภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ: คุณกรรนิภา ติวทอง (ขอนแก่นและนครพนม), คุณวราศินี ชัยมณี (หนองคาย), และคุณ บารมี สมานสี (อุบลราชธานี); และภาคใต้: คุณเจิมขวัญ อินทรคุ่ม (กระบี่), คุณสุภัตตรา มิถุนดี (สงขลาและ ปัตตานี), และคุณอังคณา หาญชัย (ประจวบคีรีขันธ์)

ในการนี้ใคร่ขอขอบคุณคุณศศิณา สุขเกษม ซึ่งช่วยทางด้านการทดสอบและวิเคราะห์ผลตลอดโครงการ คุณจารุณี ประเสริฐโสภณ และคุณบุษฯ ศรีมีที่มีส่วนช่วยในการประเมินชุดทดสอบ คุณดลพร ชัยแสงฤทธิ์ ช่วยในการวิเคราะห์สถิติ, คุณจินดา กนกสินสมบัติช่วยประสานโครงการ และที่สำคัญที่สุดขอขอบคุณผู้บริจาค โลหิตที่ได้สละตัวอย่างซีรัมในโครงการนี้

โครงการนี้ได้ผ่านคณะกรรมการจริยธรรมในคนจากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และได้รับอนุมัติให้ใช้ ตัวอย่างจากศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาภูมิคุ้มกันต่อโรคคอตีบจากเชื้อ *Corynebacterium diphtheriae*, ไกกรนจากเชื้อ *Bordetella pertussis* และบาดทะยักจากเชื้อ *Clostridium tetani* ในประชากรไทย

วิธีการวิจัย ในขั้นตอนแรกประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจแอนติบอดีต่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไกรกรน ด้วยวิธี indirect ELISA (EUROIMMUN, ประเทศเยอรมันนี) ในตอนที่สองทำการทดสอบหาความชุกและระดับของ แอนติบอดีต่อ diphtheria toxin IgG (anti-DT), tetanus toxin IgG (anti-TT) และ pertussis toxin IgG (anti-PT) ในเลือดผู้บริจาคโลหิตจำนวน 965 รายในปี พ.ศ. 2557 ช่วงอายุระหว่าง ≤ 20 และ ≥ 60 ปี จากจังหวัดใน เครือข่ายของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่มาจากภาคเหนือ (จำนวน 240 ตัวอย่างจากจังหวัดเชียงใหม่ พิชญ์โลก ลำปาง และนครสวรรค์), ภาคกลาง (จำนวน 243 ตัวอย่างจากจังหวัดลพบุรี ราชบุรี ชลบุรี และกรุงเทพฯ), ภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ (จำนวน 240 ตัวอย่างจากจังหวัดขอนแก่น หนองคาย นครพนม และอุบลราชธานี) และ ภาคใต้ (จำนวน 242 ตัวอย่างจากจังหวัดกระบี่ สงขลา ปัตตานี และประจวบคีรีขันธ์)

ผลการศึกษา ในภาพรวมของภูมิคุ้มกันในระดับป้องกันโรคได้ (>0.1 IU/ml) ของ anti-DT พบร้อยละ 62.9 [ค่าเฉลี่ย (GMT, geometric mean titer) 0.19 IU/ml, 95%CI 0.13-0.25)] และ ความชุกของ anti-TT พบร้อยละ 87.8 (GMT 1.16, 95%CI 0.73-1.59) ส่วนใหญ่ความชุกและระดับ anti-DT ในจังหวัดทางภาคใต้พบสูงกว่า จังหวัดทางภาคอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, chi square และ Kruskal Wallis) ส่วนใหญ่ระดับ anti-DT และ anti-TT ลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้นจนถึงอายุ 60 ปี และกรุงเทพฯมีความชุกของ anti-DT น้อยที่สุด (ร้อยละ 43.3) ในบางพื้นที่มีระดับ anti-DT เกือบทุกอายุอาจพบได้ เช่น นครสวรรค์ ลพบุรีและอุบลราชธานี ส่วน anti-PT ในระดับที่ป้องกันโรคยังไม่มีข้อมูลชัดเจน ในการศึกษาครั้งนี้ถือว่าภูมิคุ้มกันของ anti-PT พบร้อยละ 52 เมื่อเกณฑ์ ที่ระดับ 5 IU/ml (ยึดตามการประเมินประสิทธิภาพวัคซีน) แต่พบเพียงร้อยละ 12.9 เมื่อเกณฑ์ที่ระดับ 40 IU/ml (ยึดตามคู่มือชุดตรวจเพื่อการวินิจฉัย) โดยที่มีค่า GMT 10.16 (95%CI 6.93-13.39) แสดงว่าประชากรไทยมีความ เสี่ยงต่อโรคไกรกรนสูงเนื่องจากมีความชุกของ anti-PT ต่ำ ปัจจัยเรื่องเพศไม่พบความแตกต่างของระดับแอนติบอดี จำเพาะ

สรุป ข้อมูลจากการศึกษานี้ช่วยในการพิจารณาที่จะสร้างเสริมการฉีดวัคซีนกระตุ้นภูมิคุ้มกันในจังหวัดที่มีความเสี่ยง ต่อการติดเชื้อเนื่องจากแอนติบอดีลดระดับหรือหายไป วัคซีนกระตุ้นในประเทศไทยที่ใช้อาจต้องคำนึงเพื่อป้องกัน โรคบาดทะยัก โรคคอตีบ และรวมทั้งโรคไกรกรนด้วย

Keyword ความชุกของแอนติบอดี, โรคคอตีบ, โรคบาดทะยัก, โรคไกรกรน, anti-DT, anti TT, anti-PT

Abstract

Purpose To investigate the immunity of Diphtheria from *Corynebacterium diphtheriae*, pertussis from *Bordetella pertussis* and tetanus from *Clostridium tetani* in Thais

Subject and method Firstly, commercial kit for the detection of antibodies to diphtheria, tetanus and pertussis using indirect ELISA (EUROIMMUN, Germany) were pre-evaluated. Secondly, the seroprevalence of antibodies to diphtheria toxin IgG (anti-DT), tetanus toxin IgG (anti-TT) และ pertussis toxin IgG (anti-PT) were performed in 965 sera from blood volunteers in 2014, aged between ≤ 20 and ≥ 60 years, who attending at regional blood center from the North (240 sera from Chiangmai, Pitsanulok, Lampang and Nakon Sawan provinces), the Central (243 sera from Lopburi, Ratchaburi, Chonburi and Bangkok provinces), the Northeastern (240 sera from Khonkaen, Nongkhai, Nakhon Phanom and Ubon Ratchatani provinces) and the South parts (242 sera from Krabi, Songkha, Pattani and Prachuap Khiri Kan provinces).

Result Overall the seroprevalence at the protective level (>0.1 IU/ml) of anti-DT was 62.9% [GMT (geometric mean titer) 0.19 IU/ml, 95%CI 0.13-0.25] and anti-TT was 87.8% (GMT 1.16, 95%CI 0.73-1.59). Anti-DT level from provinces in the South was higher than other parts ($p < 0.05$, Chi square and Kruskal Wallis). Anti-DT level in Bangkok was the lowest prevalence (43.3%) and low anti-DT level might be seen at all age groups in some area such as Nakornsawan, Lopburi and Ubonrachatanee provinces. Regarding to pertussis, no information of the protective level of anti-PT was documented. In this study, the prevalence of anti-PT was 52% based on the presence of antibody in subjects bearing at 5 IU/ml (criteria for vaccine trial) and was only 12.9% based on antibody at 40 IU/ml (criteria for diagnosis based on kit) with GMT of anti-PT 10.16 (95%CI 6.93-13.39). This will be implied that Thai population might be risk of pertussis due to low prevalence of anti-PT antibody. No significant difference of gender was found in these 3 specific antibodies.

Conclusion The information from this study might be the useful for the consideration to stimulate the immunity by vaccination at high risk group of waning antibodies. In Thailand, booster vaccination against diphtheria, tetanus and including pertussis should be considered in Thai adult.

Keyword seroprevalence, diphtheria, tetanus, pertussis, anti-DT, anti TT, anti-PT

1.1 สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

1. บทนำ (Introduction)

หน้า 8

2. ตัวอย่างทดสอบ (Subjects)

2.1 ตัวอย่างเพื่อประเมินเลือกชุดตรวจ anti-DT, anti-TT และ anti-PT หน้า 9

2.2 ตัวอย่างเพื่อศึกษาความชุกและปริมาณของแอนติบอดีต่อโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน หน้า 10

3. วิธีทดสอบ (Methods)

หน้า 12

I การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไอกรน

3.1 การทดสอบแอนติบอดีต่อ diphtheria toxin IgG (anti-DT) หน้า 12

3.2 การทดสอบแอนติบอดีต่อ tetanus toxin IgG (anti-TT) หน้า 12

3.3 การทดสอบแอนติบอดีต่อ pertussis toxin IgG (anti-PT) หน้า 12

3.4 การทดสอบแอนติบอดีต่อ pertussis filamentous haemagglutinin antigen ชนิด IgA และ IgG หน้า 12

II แอนติบอดีต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไอกรนในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตในประเทศไทย

4. สถิติที่ใช้ในการคำนวณผลของแอนติบอดีจำเพาะ หน้า 14

5. ผลการทดสอบ

หน้า 14

I การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน

5.1 การประเมินชุดตรวจ anti-DT IgG หน้า 14

5.2 การประเมินชุดตรวจ anti-TT IgG หน้า 14

5.3 การประเมินชุดตรวจ anti-PT IgG, anti-filamentous haemagglutinin (FHA) IgA และ IgG หน้า 15

II แอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไอกรนในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตในประเทศไทย

5.4 แอ

นติบอดีต่อ diphtheria toxin (anti-DT) หน้า 17

5.5 แอนติบอดีต่อ tetani toxin (anti-TT) หน้า 22

5.6 แอนติบอดีต่อเชื้อ pertussis toxin (anti-PT) หน้า 23

6.	ข้อวิจารณ์ (Discussion)	
	หน้า 25	
7.	สรุปและขอเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)	หน้า 27
8.	บรรณานุกรม (Bibliography)	หน้า 28
9.	ภาคผนวก (Appendix)	หน้า 31

1.2 สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่ 1	จำนวนตัวอย่างจากผู้บริจาคโลหิตที่กระจายตัวในแต่ละจังหวัดในประเทศไทย	หน้า 11
ตารางที่ 2	ผลการทดสอบแอนติบอดีต่อ pertussis toxin (anti-PT) IgG และ Filamentous haemagglutinin (anti-FHA) IgG และ IgA ในกลุ่มศึกษา	หน้า 16
ตารางที่ 3	ความชุกและระดับของ anti-DT, anti-TT และ anti-PT ในเลือดผู้บริจาค	หน้า 18
ตารางที่ 4	ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ anti-DT, anti-TT และ anti-PT เปรียบเทียบแต่ละจังหวัด	หน้า 19
ตารางที่ 5	ความชุกและระดับของ anti-DT, anti-TT และ anti-PT ในเลือดผู้บริจาค แบ่งตามช่วงอายุ	หน้า 21

1.3 สารบัญภาพ (List of Illustrations)

รูปที่ 1	การกระจายตัวของจังหวัดที่ใช้ศึกษา anti-DT, anti-TT และ anti-PT	หน้า 11
รูปที่ 2	ระดับ anti-DT ในกลุ่มศึกษาด้วยชุดตรวจ EUROIMMUN	หน้า 14
รูปที่ 3	เปรียบเทียบระดับ anti-TT ในกลุ่มศึกษาด้วยชุดตรวจ EUROIMMUN และ binding site	หน้า 15
รูปที่ 4	การกระจายตัวของ anti-DT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัด	หน้า 20
รูปที่ 5	ค่าเฉลี่ย (GMT) ของระดับ anti-DT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ	หน้า 20
รูปที่ 6	การกระจายตัวของ anti-TT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัด	หน้า 22
รูปที่ 7	ค่าเฉลี่ย (GMT) ของระดับ anti-TT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ	หน้า 23
รูปที่ 8	การกระจายตัวของ anti-PT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัด	หน้า 24
รูปที่ 9	ค่าเฉลี่ย (GMT) ของระดับ anti-PT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัดแบ่งตามช่วงอายุ	หน้า 24

ภาคผนวก

รูปที่ 10	anti-DT IgG ในแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ	หน้า 31
รูปที่ 11	anti-TT IgG ในแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ	หน้า 32

รูปที่ 12	anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ	หน้า 33
รูปที่ 13	anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคเหนือแบ่งตามอายุ	หน้า 34
รูปที่ 14	anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคกลางแบ่งตามอายุ	หน้า 35
รูปที่ 15	anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือแบ่งตามอายุ	หน้า 36
รูปที่ 16	anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคใต้แบ่งตามอายุ	หน้า 37

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations)

1. DPT = diphtheria (D), pertussis (P), tetanus (T)
2. anti-DT = antibody to diphtheria toxin
3. anti-TT = antibody to tetanus toxin
4. anti-iPT = antibody to pertussis toxin
5. anti-FHA = antibody to filamentous hemagglutinin antigen
6. GMT = geometric mean titer
7. 95% CI = 95% confidence interval
8. IU/ml = international unit/millilitre
9. DTwp = Diphtheria (D), tetanus (T), whole cell pertussis (wp)
10. DTap = Diphtheria (D), tetanus (T), acellular pertussis (ap)
11. Tdap = Tetanus (T), diphtheria ลดขนาด (d), acellular pertussis (ap)

1. บทนำ (Introduction)

โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียหลายโรคที่มักเกิดตั้งแต่วัยเด็กเล็ก เช่น โรคคอตีบและไอกรน (1) โรคคอตีบเกิดจากเชื้อ *Corynebacterium diphtheria* จากสายพันธุ์เฉพาะที่มี toxin ที่ปล่อยออกมาทำลายเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดการตายของเซลล์เห็นเป็นแผ่นติดแน่นอยู่ที่เยื่อในลำคอ อาจทางเดินหายใจตีบตัน ในขณะที่โรคไอกรนเกิดจากเชื้อ *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) ซึ่ง toxin ของเชื้อออกฤทธิ์ทำให้เยื่อทางเดินหายใจเกิดการอักเสบ ในรายอาการรุนแรงมีการไอถี่จนกว่าจะขับเสมหะเหนียวออกมา และทำให้การหายใจดูกลมเข้าอย่างแรงจนเกิดเสียง (whoop cough) ส่วนโรคบาดทะยักเกิดจากเชื้อ *Clostridium tetani* ซึ่ง toxin ของเชื้อออกฤทธิ์ก่อโรคต่อระบบประสาทและทำให้การควบคุมหดเกร็งของกล้ามเนื้อ เป็นที่ยอมรับว่าแอนติบอดีต่อเชื้อในส่วน toxin หรือ toxoid (anti-DT, anti-TT และ anti-PT) สามารถป้องกันโรคได้ ดังนั้นวัคซีนป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรนมีการพัฒนามีประสิทธิภาพดีและอัตราป่วยลดลงชัดเจน องค์การอนามัยโลกจึงได้มีการรณรงค์แนะนำให้ฉีดวัคซีนรวมทั้งสามชนิดเพื่อป้องกันโรคคอตีบ ไอกรน และบาดทะยักในเด็กตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517 ทำให้จำนวนผู้ป่วยลดลงได้อย่างชัดเจนทั่วโลก (2) ในประเทศไทยได้เริ่มรณรงค์ให้วัคซีนรวมของ DTP ตั้งแต่นั้นปี พ.ศ. 2520 เป็นต้นมา (3) ในปัจจุบันวัคซีนรวม DPT นี้ได้มีการแนะนำให้เริ่มฉีด 4 เข็มก่อนตั้งแต่ในทารก (อายุ 2, 4, 6 และ 18 เดือน) และฉีดซ้ำอีกหนึ่งเข็มในเด็กเล็กที่อายุ 4-6 ปี ก่อนเข้าโรงเรียน (3-5) และได้มีการพัฒนาวัคซีนในรูปแบบต่างๆหลายชนิดและขอแนะนำหรือปัญหาดังต่อไปนี้ 1) วัคซีน DTwp และ DTap ป้องกันได้ทั้งสามโรค เนื่องจากวัคซีนป้องกันโรคไอกรน ในช่วงแรกเตรียมมาจากตัวเชื้อ *Bordetella pertussis* (inactivated whole cell pertussis, wP) แต่พบปัญหาของปฏิกิริยาข้างเคียงและอาจเกิดอาการทางสมอง (encephalopathy) ดังนั้นวัคซีนได้พัฒนาให้เตรียมจากเชื้อเฉพาะบางส่วน [pertussis toxin (PT); filamentous hemagglutinin antigen (FHA); pertactin (Pn) และ fimbria (Fm)] จึงเป็นวัคซีนที่ไม่ได้เตรียมเชื้อทั้งเซลล์ (acellular pertussis, aP) ทั้งวัคซีน DTwp และ DTap แนะนำให้ใช้กับเด็กอายุน้อยกว่า 7 ปี แต่ DTap ใช้ในกรณีต้องการลดความเสี่ยงต่อปฏิกิริยาข้างเคียง; 2) วัคซีน Tdap ป้องกันได้ทั้งสามเช่นกัน เนื่องมาจากวัคซีนป้องกันโรคบาดทะยักจากเชื้อ *Corynebacterium diphtheriae* ซึ่งเตรียมมาจาก toxoid พบปัญหาของปฏิกิริยาที่ไม่พึงประสงค์จากปริมาณของวัคซีนและอายุของผู้ได้รับวัคซีน หลังจากได้มีการปรับขนาดของ toxoid ให้ลดลง จึงกลายเป็นวัคซีน Tdap ป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน รูปแบบใหม่ใช้กับเด็กอายุ 7-10 ปี และจาก advisory committee on immunization practices (ACIP) สหรัฐอเมริการวมทั้งประเทศไทย แนะนำให้ใช้ Tdap ในผู้ใหญ่เช่นเดียวกัน; และ 3) วัคซีน DT และ Td ป้องกันโรค

บาดทะยักร่วมกับโรคคอตีบแทนการใช้วัคซีนป้องกันบาดทะยักอย่างเดียว รูปแบบอาจเป็น DT เพื่อใช้ฉีดกระตุ้นในเด็กอายุน้อยกว่า 7 ปี หรือรูปแบบ Td ซึ่งลดปริมาณของ diphtheria toxoid เพื่อใช้ในเด็กอายุมากกว่า 7 ปีและในกลุ่มผู้ใหญ่ด้วย

สำหรับโรคคอตีบในประเทศไทย หลังยุคฉีดวัคซีนป้องกัน DTP พบจำนวนผู้ป่วยโรคคอตีบลดลงเป็นอย่างมาก แต่ในปี พ.ศ. 2533 พบรายงานการระบาดในกลุ่มเด็กเล็กจากชายแดนภาคใต้ หลังจากนั้นในช่วงปี พ.ศ. 2537-2539 พบการระบาดประปรายที่สระบุรี น่าน บุรีรัมย์และเชียงราย (6-7) และเมื่อปี พ.ศ. 2555 จึงเริ่มตรวจพบผู้ป่วยในผู้ใหญ่ที่จังหวัดเลย รวมทั้งจังหวัดข้างเคียงที่เพชรบูรณ์และหนองบัวลำภู ต่อมาจากรายงานในเด็กโตและผู้ใหญ่จากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและจังหวัดข้างเคียง (อุดรธานี มหาสารคามและนครราชสีมา) และจังหวัดทางภาคใต้ (สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช) (8) แสดงว่าระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคคอตีบในผู้ใหญ่จะลดลง (wane immunity) สำหรับโรคบาดทะยักมีรายงานในผู้ใหญ่และทารกแรกคลอด หลังจากนโยบายให้วัคซีน DTP ซึ่งได้ครอบคลุมในกลุ่มหญิงตั้งครรภ์เพื่อป้องกันทารกแรกคลอดด้วย ทำให้จำนวนผู้ป่วยลดลงได้มาก โดยจำนวนผู้ป่วยในทารกแรกคลอดน้อยลงมาก แต่ในปี พ.ศ. 2555 เริ่มมีพบอุบัติการณ์โรคเกิดในกลุ่มผู้สูงอายุตั้งแต่ 45 ปีขึ้นไป (9) สำหรับโรคไอกรนตั้งแต่ยุคมีวัคซีน DTP ทำให้อุบัติการณ์ของโรคไอกรนได้ลดลงและไม่มีผู้เสียชีวิต จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2549 พบแนวโน้มสูงที่จังหวัดน่าน (10) ส่วนใหญ่เกิดในเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปีและเริ่มมีรายงานในเด็กโตมากขึ้นและในผู้ใหญ่ อายุมากกว่า 65 ปี ต่อมาเริ่มมีปรากฏของผู้ป่วยในกลุ่มผู้ใหญ่อีกครั้งในปี พ.ศ. 2556 (11) อาจเนื่องมาจากภูมิคุ้มกันจำเพาะลดลง

ในช่วงที่รองรับประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (ASEAN Economic Community: AEC) ผู้คนส่วนใหญ่ต่างหันมาให้ความสำคัญในการเอาใจใส่ดูแลสุขภาพกันมากขึ้นเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคร้ายต่างๆ ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นเชื่อที่นำเข้ามาจากเพื่อนบ้าน รวมทั้งการระบาดของเชื้อต่างๆที่สามารถใช้วัคซีนป้องกัน หรือสามารถฉีดวัคซีนกระตุ้นซ้ำ ดังนั้นในการศึกษานี้ต้องการสำรวจภูมิคุ้มกันต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ (*Corynebacterium diphtheriae*), ไอกรน (*Bordetella pertussis*) และบาดทะยัก (*Clostridium tetani*) ในประชากรไทยจากกลุ่มผู้บริจาคโลหิต โดยขั้นตอนแรกประเมินชุดตรวจที่ใช้หาแอนติบอดีต่อ toxin ของเชื้อก่อโรคคอตีบ (anti-diphtheria toxin, anti-DT) และแอนติบอดีต่อ toxoid ของเชื้อก่อโรคบาดทะยัก (anti-tetanus toxoid, anti-TT) และแอนติบอดีของเชื้อก่อโรคไอกรน (anti-pertussis toxoid, anti-PT); และในขั้นตอนที่สองหาความชุกและระดับปริมาณของแอนติบอดีจำเพาะในเลือดผู้บริจาคโลหิตเพื่อเป็นแนวทางการวางแผนป้องกันการฉีดวัคซีนในระดับชาติ

2. ตัวอย่างทดสอบ (Subjects)

ตัวอย่างทดสอบเป็นซีรัมเก็บรักษาแช่แข็ง -20°C ก่อนการทดสอบ

2.1 ตัวอย่างเพื่อประเมินชุดตรวจ anti-DT, anti-TT และ anti-PT ตัวอย่างทั้งหมด 17 ราย ประกอบด้วยซีรัมจากอาสาสมัครที่เพิ่งได้รับวัคซีนป้องกันโรคคอตีบและบาดทะยัก (dT vaccine) มาภายใน 1 เดือนตามโครงการรณรงค์ให้วัคซีนกระตุ้นในผู้ใหญ่ อายุเฉลี่ย 40 ± 10.6 ปี (mean $\pm$ SD) จำนวน 11 ราย และซีรัมจาก

2.2 ตัวอย่างเพื่อศึกษาความชุกและระดับแอนติบอดีต่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไอกรน จำนวน 965 ราย ประกอบด้วยซีรัมจากจังหวัดในเครือข่ายของภาคบริการโลหิตแห่งชาติในปี พ.ศ 2557 จาก 4 ภาคฯ 4 จังหวัด ทั้งหมด 16 จังหวัด (รูปที่ 1) คือ 1) ภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ พิชญโลก ลำปาง และนครสวรรค์ จำนวน 240 ตัวอย่าง; 2) ภาคกลาง ได้แก่ ลพบุรี ราชบุรี ชลบุรี และกรุงเทพฯ จำนวน 243 ตัวอย่าง; 3) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ขอนแก่น หนองคาย นครพนม และอุบลราชธานี จำนวน 240 ตัวอย่าง; และ 4) ภาคใต้ ได้แก่ กระบี่ สงขลา ปัตตานี และประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 242 ตัวอย่าง แต่ละจังหวัดประมาณ 60 ตัวอย่าง โดยเป็นเพศชาย: หญิงเท่ากับ 538: 427 และแบ่งตามอายุเป็นช่วงต่างๆดังนี้ <20 (48 ราย), 20-30 (270 ราย), 30-40 (243 ราย), 40-50 (332 ราย), 50-60 (68 ราย) และ >60 ปี (4 ราย) (ตารางที่ 1)



รูปที่ 1 การกระจายตัวของจังหวัดที่ใช้ศึกษา anti-DT, anti-TT และ anti-PT

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างจากผู้บริจาคโลหิตที่กระจายตัวในแต่ละจังหวัดของแต่ละภาคในประเทศไทย

จังหวัดในแต่ละภาค	ชาย:หญิง	จำนวนผู้บริจาคโลหิตแบ่งตามอายุ (ปี)						จำนวนทั้งสิ้น
		<20	20-30	31-40	41-50	51-60	>60	
ภาคเหนือ								
เชียงใหม่	33:27	0	18	12	19	10	1	60
พิษณุโลก	31:29	6	16	17	13	7	1	60
ลำปาง	47:13	4	13	13	16	14		60
นครสวรรค์	18:42	0	12	18	30	0		60
ภาคเหนือทั้งหมด	129:111	10	59	60	78	31	2	240
ภาคกลาง								
กรุงเทพมหานคร	33:26	2	15	13	25	4		60
ลพบุรี	39:21	2	14	14	30	0		60
ราชบุรี	43:20	14	16	16	10	7		63
ชลบุรี	26:34	1	12	17	23	7		60
ภาคกลางทั้งหมด	141:102	18	55	65	87	18	-	243
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ								
ขอนแก่น	36:24	2	16	13	25	4		60
หนองคาย	33:27	2	28	22	8	0		60
นครพนม	28:32	1	8	22	23	6		60
อุบลราชธานี	29:31	0	22	10	25	3		60
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งหมด	126:114	5	74	67	81	13	-	240
ภาคใต้								
กระบี่	21:39	0	18	12	24	5	1	60
สงขลา	41:19	8	15	9	28	0		60

ปัตตานี	37:23	3	13	14	30	0		60
ประจวบคีรีขันธ์	43:19	4	36	16	4	1	1	62
ภาคใต้ทั้งหมด	142:100	15	82	51	86	6	2	242
จำนวนรวมทั้งสิ้น	538:427	48	270	243	332	68	4	965

3. วิธีทดสอบ (Methods)

I การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน

3.1) การทดสอบแอนติบอดีต่อ diphtheria toxin IgG (anti-DT) ใช้ชุดตรวจที่มาจากส่วน *Corynebacterium Diphtheriae* toxoid จากบริษัท EUROIMMUN (Medizinische Lab AG, anti-diphtheria toxoid, Germany)

3.2) การทดสอบแอนติบอดีต่อ tetanus toxin IgG (anti-TT) ใช้ชุดตรวจที่เป็นแอนติเจนเตรียมจากส่วน *Clostridium tetani* toxoid ของ 2 บริษัท ได้แก่บริษัท EUROIMMUN (anti-tetanus toxoid IgG, Medizinische Lab AG, Germany) และบริษัท Binding site (anti-tetanus toxoid IgG, VaccZyme™, UK)

3.3) การทดสอบแอนติบอดีต่อ pertussis toxin IgG (anti-PT) ใช้ชุดตรวจที่เป็นแอนติเจนเตรียมจากส่วน *Bordetella pertussis* toxin จากบริษัท EUROIMMUN (anti-bordetella, Medizinische Lab AG, Germany)

3.4) การทดสอบแอนติบอดีต่อ pertussis filamentous haemagglutinin antigen ชนิด IgA และ IgG (anti-FHA IgA และ FHA IgG) ใช้ชุดตรวจที่เป็นแอนติเจนเตรียมจากส่วน *Bordetella pertussis* FHA จากบริษัท EUROIMMUN (anti-bordetella, Medizinische Lab AG, Germany)

ชุดตรวจสำหรับ anti-DT, anti-TT, anti-PT, anti-FHA IgG และ anti-FHA IgA ที่ใช้เป็นเทคนิค immunoassay ด้วยหลักการ indirect ELISA ในการทดสอบได้ปฏิบัติตามคู่มือที่มากับชุดตรวจ วิธีการทดสอบคร่าวๆดังนี้ ในขั้นตอนแรกใส่ซีรัม (เจือจางที่ระดับ 1:100) ลงในหลุมที่เคลือบด้วยแอนติเจนจำเพาะ (diphtheria toxoid สำหรับ anti-DT, clostridium toxoid สำหรับ anti-TT, pertussis toxin สำหรับ anti-PT หรือ pertussis filamentous haemagglutinin antigen สำหรับ anti-FHA) หลังจากนั้นอบไว้ที่ 37 °C นาน 60 นาที และล้างส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก ถ้าในซีรัมมีแอนติบอดีที่จำเพาะกันจะจับแอนติเจนที่ก้นหลุมเป็น antibody-antigen complex ในปฏิกิริยาขั้นที่สองนั้นเป็นการเติม enzyme labeled anti-human IgG (สำหรับ anti-DT, anti-TT, anti-PT และ anti-FHA IgG) หรือ IgA (สำหรับ anti-FHA IgA) อบไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที และเมื่อเติม substrate ของเอนไซม์จะเกิดสีของปฏิกิริยาขึ้น หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยกรด 0.5 M H₂SO₄ และอ่านด้วยเครื่องอ่านที่ 450/620 nm ในการทดสอบแต่ละครั้งมีตัว calibrator ที่รู้ค่าแอนติบอดี 4-5 ระดับ (diphtheria toxoid ที่ปริมาณ 2, 1, 0.1, 0.01 IU/ml; tetanus toxoid ที่ 5, 2, 1, 0.1, 0.01 IU/ml; pertussis toxin ที่ 200, 100, 25 และ 5 IU/ml; pertussis FHA IgG ที่ 200, 100, 25 และ 5 IU/ml; และ

pertussis FHA IgA ที่ 50, 25, 10 และ 2 IU/ml) เพื่อสร้างเป็นกราฟและวัดระดับแอนติบอดีจำเพาะที่ได้จากตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีตัวควบคุมคุณภาพทั้งผลบวกและผลลบด้วยทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

ในการแปลผลทดสอบ anti-DT IgG (ชุดตรวจ EUROIMMUN) และ anti-TT IgG (ชุดตรวจ EUROIMMUN และ Binding site) กำหนดให้เกณฑ์ตัดสิน ≥ 0.1 IU/ml เป็นระดับที่ป้องกันโรคได้ ในกรณี anti-TT IgG ที่มีระดับ 0.01-0.09 IU/ml ถือว่ามีแอนติบอดีปริมาณต่ำ ส่วน anti-PT IgG ยังไม่มีเกณฑ์ที่เป็นระดับที่ป้องกันโรคชัดเจน ในกรณีที่ต้องการวินิจฉัยโรคไอกรนด้วยชุดตรวจโดยแนะนำว่า anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml ใช้บ่งชี้การติดเชื้อเฉียบพลันร่วมกับอาการแสดง หรือบ่งบอกได้รับวัคซีน แต่ถ้าเกณฑ์ anti-PT อยู่ระหว่าง 40-99 IU/ml ให้ทำการทดสอบ anti-FHA IgA และ anti-FHA IgG เพิ่มเติม โดยถือว่าระดับ anti-FHA IgA 42 IU/ml และ anti-FHA IgG 86 IU/ml จึงเป็นการสนับสนุนติดเชื้อเฉียบพลัน

ในการประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจได้มีการทดสอบโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ 2 คน เพื่อดูการทำซ้ำได้ (reproducibility) โดยแต่ละตัวอย่างทดสอบทำซ้ำคู่ (duplicate) เพื่อดูความเที่ยงตรงของการทดสอบ ในการทดสอบแต่ละครั้งได้ทำการควบคุมคุณภาพ ให้ได้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ที่ 95% (ค่าเฉลี่ย ± 2 standard deviation) ด้วยกราฟ (Levy Jennings graph)

II แอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไอกรนในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตในประเทศไทย

หลังจากที่ได้ผ่านการประเมินแล้ว ในการศึกษาจะใช้ชุดทดสอบหา anti-DT, anti-TT และ anti-PT จากบริษัท EUROIMMUN ในการแปลผลทดสอบ anti-DT และ anti-TT กำหนดให้เกณฑ์ตัดสิน ≥ 0.1 IU/ml เป็นระดับที่ป้องกันโรคได้ ในกรณี anti-TT ที่มีระดับ 0.01-0.09 IU/ml ถือว่ามีแอนติบอดีปริมาณต่ำ ส่วน anti-PT IgG ยังไม่มีเกณฑ์ที่เป็นระดับที่ป้องกันโรคชัดเจน จึงอาศัยการประเมินประสิทธิภาพวัคซีนซึ่งเคยมีรายงานใช้ค่าเกณฑ์ตัดสิน 5 EL.U (ELISA unit) ถือว่ามีภูมิคุ้มกันต่อ *Bordetella pertussis* [12] ในการศึกษาเพื่อวิเคราะห์ความชุกของ anti-PT จึงใช้ที่ระดับ 5 IU/ml ซึ่งเป็นเกณฑ์ตัดสินมี anti-PT และร่วมกับเกณฑ์ที่ระดับ 40 IU/ml ตามคู่มือจากชุดทดสอบเพื่อใช้ในการวินิจฉัย

4. สถิติที่ใช้ในการคำนวณ

ค่าเฉลี่ย (geometric mean titer, GMT) ของ anti-DT, anti-TT และ anti-PT แสดงออกเป็น box plot แยกตามจังหวัดในแต่ละภาค ความแตกต่างของระดับแอนติบอดีจำเพาะในแต่ละจังหวัดได้ทำการเปรียบเทียบข้อมูลมากกว่าสองคู่ขึ้นไปซึ่งไม่ขึ้นต่อกันด้วยสถิติ Kruskal Wallis ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ค่ามัธยฐาน (median) แบบ non parametric test โดยใช้ STATA version 12.0 กำหนดค่าที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ p-value น้อยกว่า 0.05 ส่วนอัตราความชุกของแอนติบอดีจำเพาะแต่ละจังหวัดแสดงออกมาเป็นร้อยละ และค่า GMT รวม (95% confidence interval) แสดงออกมาเป็น IU/ml โดยตัดช่วงอายุมากกว่า 60 ปีไม่นำมาคำนวณเนื่องจากเป็นข้อมูลเพียงตัวอย่างเดียว ระดับแอนติบอดีต่างๆในแต่ละช่วงของอายุ (<20, 20-30, 31-40, 41-50,

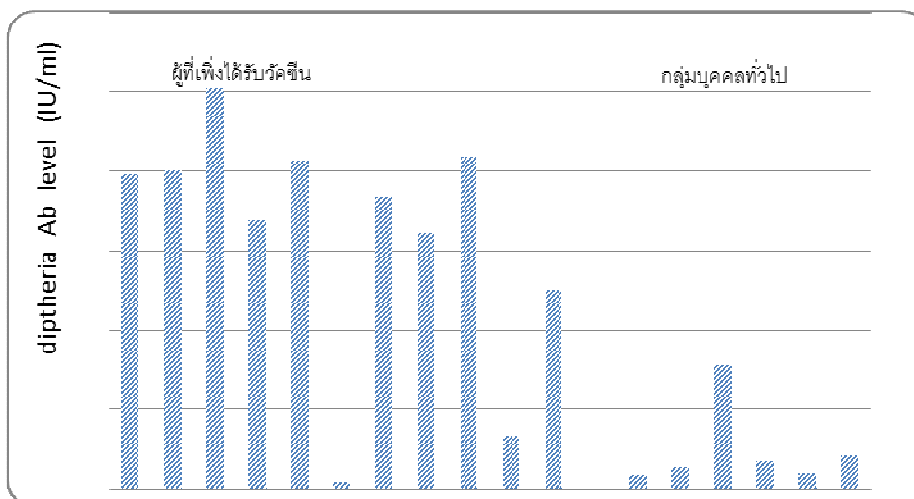
51-60 และ >60 ปี) แสดงออกมาเป็นกราฟแท่ง และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้สถิติ chi's square โดยถือว่าระดับแอนติบอดีที่ป้องกันโรคเกนต์ัดสินของ anti-DT และ anti-TT อยู่ที่ ≥ 0.1 IU/ml ส่วน anti-PT ได้วิเคราะห์ที่ 5 IU/ml (ตามเกณฑ์ประเมินวัคซีน) และที่ 40 IU/ml (ตามเกณฑ์ชุดตรวจ) โดยค่าที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ p -value น้อยกว่า 0.5

การศึกษานี้ได้รับอนุมัติจากการคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยพิจารณาในคนจากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และได้รับอนุมัติจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยให้ใช้ตัวอย่างทดสอบจากศูนย์บริการโลหิตระดับภาคได้

5. ผลการทดสอบ (Results)

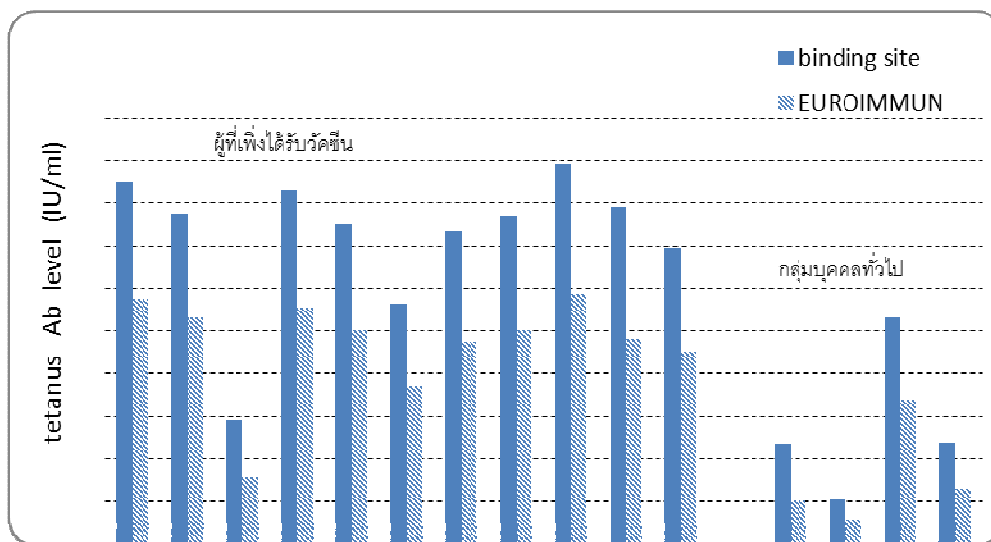
I. การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรน

5.1 การประเมินชุดตรวจ anti-DT IgG ต่อเชื้อ *Corynebacterium diphtheriae* ด้วยชุดตรวจของบริษัท EUROIMMUN โดยสรุปผู้ที่เพิ่งได้รับ dT vaccine เกือบทุกรายมีแอนติบอดีจำเพาะในระดับป้องกันโรคได้ ยกเว้น 1 ราย ซึ่งมีประวัติเป็นโรคเรื้อรังที่มีแอนติบอดีจำเพาะในระดับต่ำ ในกลุ่มบุคคลทั่วไปที่เป็นนักศึกษาพบแอนติบอดีจำเพาะในระดับต่ำลงอย่างมาก เมื่อเทียบกับอาสาสมัคร (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ระดับ anti-DT ในกลุ่มศึกษาด้วยชุดตรวจ EUROIMMUN

5.2 การประเมินชุดตรวจ anti-TT IgG ต่อ toxoid ของเชื้อ *Clostridium tetani* ระหว่างชุดตรวจจากบริษัท EUROIMMUN เปรียบเทียบกับบริษัท Binding site โดยสรุป anti-TT IgG พบได้ทุกราย แต่อาสาสมัครผู้ที่ได้รับ dT vaccine มาภายใน 1 เดือนตรวจพบแอนติบอดีป้องกันโรคในระดับสูงกว่านักศึกษาทั่วไปที่เคยได้รับวัคซีนมาแล้วตามเกณฑ์นโยบายฉีดวัคซีนระดับชาติ แอนติบอดีที่ตรวจพบจากชุดตรวจทั้งสองมีความสัมพันธ์ โดยที่ชุดตรวจ binding site ให้ระดับของแอนติบอดีจำเพาะสูงกว่าชุดตรวจ EUROIMMUN (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 เปรียบเทียบระดับ anti-TT ในกลุ่มศึกษาด้วยชุดตรวจ EUROIMMUN และ binding site

5.3 การประเมินชุดตรวจ anti-PT IgG, anti-filamentous haemagglutinin (FHA) IgA และ IgG ต่อเชื้อ *Bordetella pertussis* ด้วยชุดตรวจของบริษัท EUROIMMUN โดยสรุปกลุ่มศึกษาทั้งหมดมีความชุก anti-PT IgG ร้อยละ 44 (8 ใน 18 ราย) โดยอาศัยเกณฑ์ anti-PT IgG ที่ 5 IU/ml unit และมีจำนวน 2 ราย (No. 9 และ No. b6) ที่ได้ค่ามากกว่า 40 IU/ml (ตารางที่ 2) จากคำแนะนำตามคู่มือชุดตรวจในกรณีใช้วินิจฉัยการติดเชื้อไอกรน ถ้าเกณฑ์ anti-PT อยู่ระหว่าง 40-99 IU/ml ซึ่งผู้ป่วยที่มีอาการน่าสงสัยไอกรน ให้ทำการทดสอบทดสอบเพิ่มเติมด้วย anti-FHA IgA และ IgG เพื่อสนับสนุนยืนยันผล anti-PT ที่ได้ ผลปรากฏว่า anti-FHA IgG No. 9 และ b5 =47 และ 8 IU/ml ตามลำดับ (เกณฑ์ตัดสิน anti-FHA IgG 86 IU/ml) และ anti-FHA IgA No. 9 และ b5 =14 และ 1 IU/ml ตามลำดับ (เกณฑ์ตัดสิน anti-FHA IgA 42 IU/ml) จึงไม่สนับสนุนการติดเชื้อเยื่อปอดจาก *bordetella pertussis* ในสองรายนี้ นอกจากนี้การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมในทุกตัวอย่างเพื่อประเมินและพยากรณ์ผลที่ได้ ผลที่ได้ไม่ได้สัมพันธ์กับการตรวจพบ anti-PT IgG ที่ระดับต่ำกว่า 40 IU/ml ดังนั้นการแปลผลของ anti-PT ควรมีการทดสอบยืนยันหาเชื้อก่อโรคมากกว่าการตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะ

ตาราง 2 ผลการทดสอบแอนติบอดีต่อ pertussis toxin, anti-PT) IgG และ Filamentous haemagglutinin antigen, anti-FHA IgG และ anti-FHA IgA ในกลุ่มศึกษา

ตัวอย่าง	แอนติบอดีต่อเชื้อ <i>Bordetella pertussis</i>		
	anti-PT IgG	anti-FHA IgG	anti-FHA IgA
	(ในกรณี 40-99 IU/ml)	(เกณฑ์ที่ 86 IU/ml)	(เกณฑ์ที่ 42 IU/ml)
อาสาสมัครผู้ที่เพิ่งได้รับวัคซีน			
1	4	9	15
2	9	200	51
3	4	8.5	7
4	4	164	51
5	4	4	1
6	13	34	7.4
7	15	129	51
8	4	10.6	2.8
9	45	47	14
10	4	200	38
11	4	22	14
33	4	20	1
กลุ่มคนทั่วไป			
b1	14	25	6
b2	4	8.6	3
b3	7	139	3
b4	4	22	4
b5	50	8	1
b6	14	46	37

โดยสรุปในการศึกษานี้ใช้ชุดตรวจ EUROIMMUN ที่ได้ผ่านการประเมินเพื่อใช้ในการทดสอบหา anti-DT IgG, anti-TT IgG และ anti-PT IgG ในเลือดผู้บริจาคโลหิต

II แอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคคอตีบ บาดทะยักและไอกรนในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตในประเทศไทย

5.4

๒๒

แอนติบอดีต่อ *Corynebacterium diphtheria* toxin (anti-DT IgG)

ในจังหวัดทางภาคใต้พบความชุกของ anti-DT ที่ระดับป้องกันโรคได้สูงมากกว่าร้อยละ 70 (ตารางที่ 3) ได้แก่ ปัตตานี [ความชุก 85%, geometric mean titer หรือ GMT 0.25 IU/ml (95% CI 0.01-0.32)]; กระบี่ [73.3%; GMT 0.27 (95% CI 0.05-0.40)]; ประจวบคีรีขันธ์ [71%, GMT 0.19 (95% CI 0.15-0.24)] และสงขลา [70%, GMT 0.20 (95% CI 0.02-0.25)] รวมทั้งที่ราชบุรีในภาคกลาง [74.6%, GMT 0.27 (95% CI 0.10-0.35)] และขอนแก่นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ [71.7%, GMT 0.30 (95% CI 0.07-0.43)] ในขณะที่จังหวัดอื่นๆพบความชุกของ anti-DT ประมาณร้อยละ 50-60 เมื่อเรียงลำดับความชุกของแอนติบอดีจากน้อยไปหามาก พบว่ากรุงเทพมหานครมีความชุกน้อยที่สุด [43.3%, GMT 0.27 (95% CI 0.01-0.45)] ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value <0.05, chi's square) กับหลายจังหวัด ได้แก่ กระบี่ สงขลา ปัตตานี ประจวบคีรีขันธ์ (ภาคใต้), ราชบุรี ชลบุรี (ภาคกลาง), ขอนแก่น (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) และลำปาง (ภาคใต้) ในขณะที่ความชุกสูงสุดอยู่ที่ภาคใต้ทั้ง 4 จังหวัด (ตารางที่ 4)

การกระจายตัวของระดับ anti-DT ในแต่ละจังหวัดได้แสดงออกเป็น blot pox ในรูปที่ 4 เมื่อทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของแอนติบอดีแต่ละคู่ทั้งหมด 17 จังหวัด จังหวัดกระบี่พบระดับ anti-DT สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05, Kruskal Wallis) เมื่อเทียบกับหลายๆจังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่, ลำปาง, กรุงเทพฯ, ชลบุรี, นครพนม, อุบลราชธานี และประจวบคีรีขันธ์ นอกจากนี้ระดับของ anti-DT ที่จังหวัดปัตตานีพบสูงกว่านครสวรรค์เช่นเดียวกัน ในขณะที่คู่เทียบอื่นๆไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อวิเคราะห์ anti-DT แบ่งตามช่วงอายุแล้ว (ตารางที่ 5) พบความชุกสูงสุดในกลุ่มที่อายุน้อยกว่า 20 ปี (83.3%) หลังจากนั้นแอนติบอดีจำเพาะนี้ค่อยๆลดลง โดยเริ่มตรวจไม่พบแอนติบอดีในระดับป้องกันโรคหรือพบแอนติบอดีได้ในระดับต่ำลงเพิ่มมากขึ้น จนเหลือระดับคงที่ร้อยละ 50-60 ในอายุตั้งแต่ 31-40 ปีจนถึงอายุ 60 ปีเป็นต้นไป (รูปที่ 5) และระดับแอนติบอดีป้องกันโรคระยะยาว (1 IU/ml) ตรวจไม่พบในผู้ที่มีอายุมากกว่า 60 ปี ไม่พบความแตกต่างของ anti-DT ระหว่างเพศชายและหญิง เมื่อดู anti-DT แต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ (ภาคผนวก รูป ก) หลายจังหวัดที่ระดับ anti-DT ลดลงต่ำตั้งแต่อายุ 20 แล้ว เช่น นครสวรรค์ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์

โดยสรุปความชุกของ anti-DT ในกลุ่มผู้บริจาคมานี้พบร้อยละ 62.9 (GMT 0.19, 95%CI 0.13-0.25) โดยมีระดับภูมิคุ้มกันที่ป้องกันโรคได้ระยะยาวมากกว่า 5 ปี (มากกว่า 1 IU/ml) ร้อยละ 6.6 (GMT 1.39, 95% CI 1.27-1.52) ซึ่งปริมาณแอนติบอดีค่อยๆลดลงจากอายุ 20 ปี (GMT 0.31, 95%CI 0.22-0.42) จนถึงอายุ 60 ปี (GMT 0.14, 95%CI 0.10-0.18)

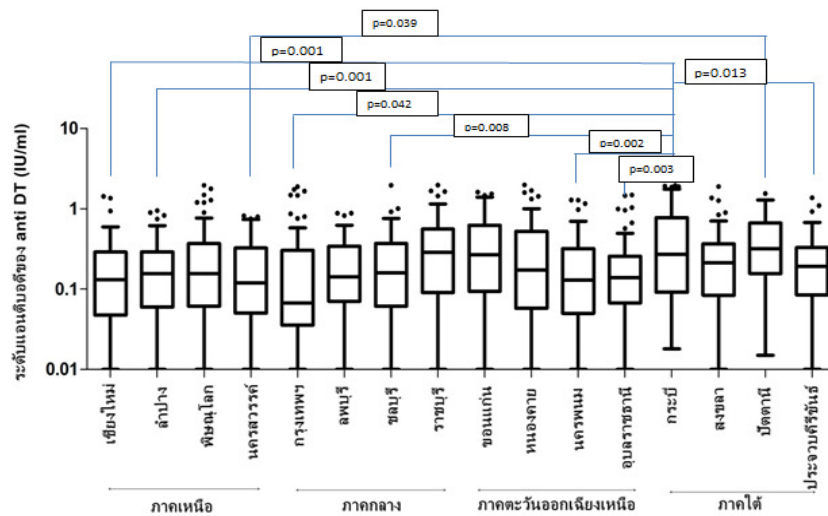
ตารางที่ 3 ความชุกและระดับของ anti-DT IgG, anti-TT IgG และ anti-PT IgG ในเลือดผู้ป่วยบริจาค

ภาค	จังหวัด	จำนวน (ชาย:หญิง)	ตรวจพบแอนติบอดี, IU/ml (GMT, 95%CI)				
			anti-DT	anti-TT		anti-PT	
			0.1	0.01	0.1	5	40
ภาคเหนือ	ลำปาง	60	61.7%	95.0%	90.0%	56.7%	13.3
			0.21 (0.01-0.35)	1.10 (0.41-1.43)		10.39 (3.65-13.66)	
	เชียงใหม่	60	53.3%	91.7%	85.0%	50.0%	11.7
		(33:27)	0.14 (0.04-0.20)	1.15 (0.12-1.80)		10.00 ๖(1.69-14.97)	
	นครสวรรค์	60	53.3%	98.3%	90.0%	56.7%	16.7%
ภาคกลาง	ราชบุรี	60	60.0%	96.7%	85.0%	48.3%	10.0
		(31:29)	0.19 (0.02-0.35)	1.11 (0.33-1.88)		7.88 (5.12-10.63)	
	ชลบุรี	60	63.3%	91.7%	83.3%	40.0%	16.7%
		(26:34)	0.15 (0.04-0.22)	0.78 (0.23-1.07)		7.68 (2.24-10.57)	
	ลพบุรี	60	55.0%	95.0%	86.7%	65.0%	15.07%
ภาคตะวันออก	กรุงเทพฯ	60	43.3%	91.7%	81.7%	43.3%	11.7%
		(33:27)	0.27 (0.01-0.45)	1.28 (0.34-1.79)		6.60 (2.01-8.99)	
	ขอนแก่น	60	71.7%	100.0%	90.0%	55.0%	13.3%
		(36:24)	0.30 (0.07-0.43)	1.00 (0.27-1.41)		10.84 (1.51-16.56)	
	หนองคาย	60	60.0%	95.0%	93.3%	55.0%	16.7%
ภาคใต้	อุบลราชธานี	60	60.0%	96.7%	81.7%	51.7%	11.7%
		(29:31)	0.13 (0.01-0.16)	0.86 (0.12-1.27)		8.76 (0.75-10.93)	
	นครพนม	60	56.7%	96.7%	90.0%	36.7%	5.0%
		(28:32)	0.18 (0.02-0.28)	1.15 (0.31-1.61)		8.93 (2.41-12.46)	
	ปัตตานี	60	85.0%	95.0%	90.0%	50.0%	23.3%
ภาคใต้	กระบี่	60	73.3%	91.7%	88.3%	56.7%	13.3%
		(21:39)	0.27 (0.05-0.40)	1.09 (0.40-1.42)		10.85 (2.87-15.20)	
	ประจวบคีรีขันธ์	62	71.0%	98.4%	91.9%	59.7%	11.3%
		(43:19)	0.19 (0.15-0.24)	1.25 (0.11-2.38)		9.30 (7.30-11.84)	
	สงขลา	60	70.0%	96.7%	91.7%	50.0%	13.3%
รวมทั้ง		965	62.9%	96.6%	87.8%	52.0%	12.9%
		(538:427)	0.19(0.13-0.25)	1.16(0.73-1.56)		10.16(6.93-13.39)	

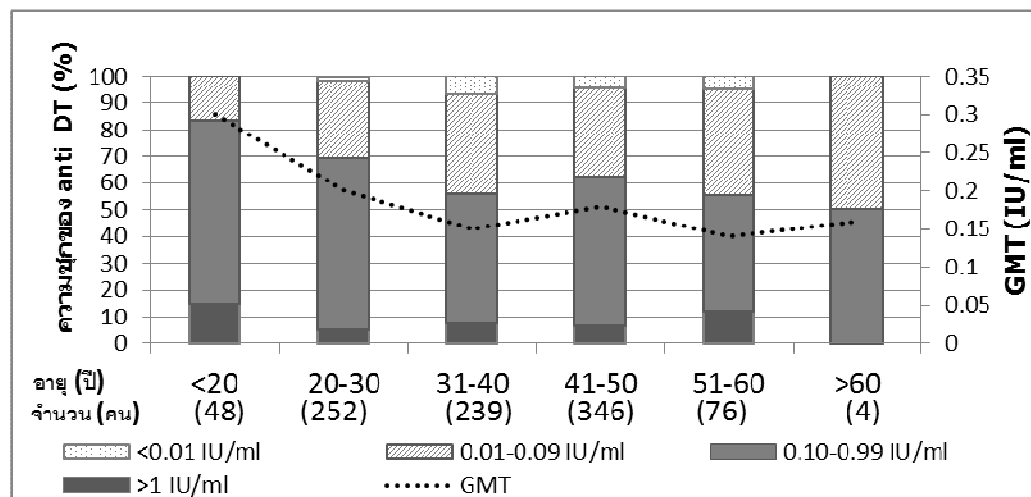
*GMT= geometric mean titer

ตารางที่ 4 ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของ anti-DT IgG, anti-TT IgG และ anti-PT IgG เปรียบเทียบแต่ละจังหวัด

จังหวัด	ค่าความแตกต่างที่ระดับ p value <0.05 ของ anti-DT (D) และ anti-TT (T) เปรียบเทียบในแต่ละจังหวัด*										
	ภาคเหนือ				ภาคกลาง		ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคใต้			
	เชียงใหม่	พิษณุโลก	ลำปาง	นครสวรรค์	ราชบุรี	ชลบุรี	ขอนแก่น	กระบี่	สงขลา	ปัตตานี	ประจวบฯ
ภาคกลาง											
กรุงเทพฯ			D: p=0.044		D: p=0.001 T: p= 0.193	D: p=0.028	D: p=0.001 T: p=0.024	D: p=0.003	D: p=0.003	D: p=0.001	D: p=0.002
ลพบุรี					D: p=0.023		D: p=0.036			D: p=0.001	
ราชบุรี	D: p=0.014 T: p=0.019	D: p=0.036		D: p=0.008		T: p=0.019		T: p=0.019			
ชลบุรี							T: p=0.002			D: p=0.007	
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ											
ขอนแก่น	D: p=0.023 T: p=0.022			D: p=0.014				T: p=0.022			
หนองคาย										D: p=0.002	
นครพนม	D: p=0.036									D: p=0.001	
อุบลราชธานี										D: p=0.002	
ภาคใต้											
กระบี่				D: p=0.04						D: p=0.049	
สงขลา				D: p=0.04						D: p=0.049	
ปัตตานี	D: p=0.002	D: p=0.001	D: p=0.004	D: p=0.001							
ประจวบคีรีขันธ์	D: p=0.045			D: p=0.029							



รูปที่ 4 การกระจายตัวของ anti-DT ในผู้บริจาคโลหิตแต่ละจังหวัด



รูปที่ 5 ค่าเฉลี่ย (GMT) ของระดับ anti-DT ในผู้บริจาคโลหิตแบ่งตามอายุ

ตารางที่ 5 ความชุกและระดับของ anti-DT, anti-TT และ anti-PT ในเลือดผู้บริจาคแบ่งตามช่วงอายุ

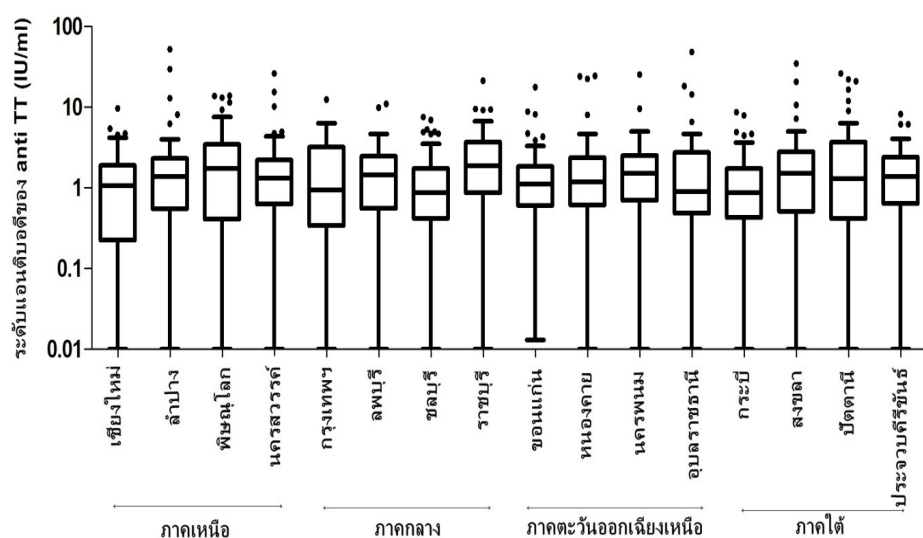
อายุ (ปี)	จำนวน ทดสอบ	ตรวจพบแอนติบอดี [GMT (95%CI)]				
		anti-DT ที่ระดับ		anti-TT ที่ระดับ		anti-PT ที่ระดับ
		≥0.1		≥0.01	≥0.1	≥5
		IU/ml		IU/ml	IU/ml	IU/ml
<20	48	83.3%		97.9%	97.92%	39.6%
	(33:15)	[0.30 (0.22-0.42)]		[1.71 (1.39-2.10)]		[8.51 (6.26 - 11.58)]
20-30	252	69.4%		98.8%	97.2%	52.8%
	(130:122)	[0.19 (0.16-0.22)]		[1.31 (1.16-1.48)]		[9.60 (8.41-10.96)]
31-40	239	55.7%		97.5%	90.0%	43.9%
	(116:123)	[0.15 (0.13-0.18)]		[1.09 (0.92-1.30)]		[7.65 (6.83-8.57)]
41-50	346	62.1%		93.9%	81.8%	55.2%
	(200:146)	[0.18 (0.16-0.20)]		[0.85 (0.72-1.01)]		[9.81 (8.80-10.93)]
51-60	76	55.3%		85.5%	69.7%	54.0%
	(59:17)	[0.14 (0.10-0.18)]		[0.58 (0.38-0.89)]		[9.04 (7.21-11.32)]
>60	4	50.0%		100.0%	100.0%	75.0%
	(2:2)	[0.16 (0.02-1.18)]		[1.43 (0.46-4.41)]		[16.23 (2.29-11.7)]
ทั้งหมด	965	62.9%		96.6%	87.8%	52.0%
	(540:425)	[0.19 (0.13-0.25)]		[1.16 (0.73-1.59)]		[0.16 (6.93-1.59)]

*GMT (geometric mean) = ค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีจำเพาะ; 95%CI (95% confidential interval)
= ค่าความเชื่อมั่น 95%

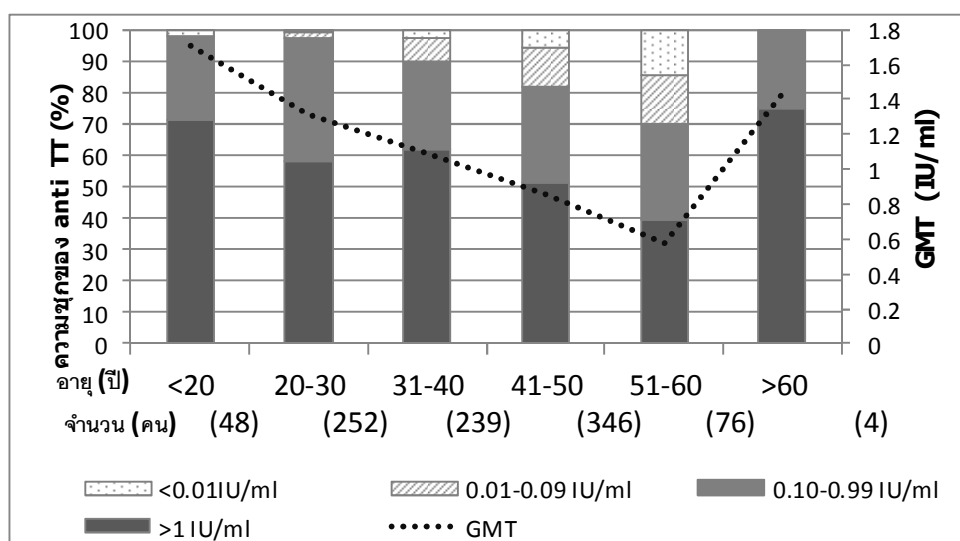
5.5 แอนติบอดีต่อ *clostridium tetani* toxin (anti-TT IgG)

ความชุกของ anti-TT ในระดับป้องกันโรคพบร้อยละ 80-90 ทุกจังหวัด และรวมกลุ่มที่มีแอนติบอดีในระดับต่ำ (0.01-0.09 IU/ml) ทำให้ความชุกของประชากรในประเทศไทยสูงร้อยละ 96.6 จังหวัดที่มีความชุก anti-TT น้อยที่สุดคือ กรุงเทพฯ และอุบลราชธานี (ตารางที่ 3) กระจายตัวของ anti-TT ในแต่ละจังหวัดได้แสดงออกเป็น blot pox ดังแสดงในรูปที่ 6 ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบแต่ละคู่ทั้งหมด 17 จังหวัด เมื่อวิเคราะห์ความชุกของ anti-TT แบ่งตามช่วงอายุแล้ว ระดับแอนติบอดีที่ป้องกันโรคได้จะค่อยๆ ลดลงจากร้อยละ 90 เหลือร้อยละ 70 ที่อายุ 50-60 ปี ซึ่งเป็นช่วงระดับแอนติบอดีต่ำสุด [GMT 0.58 (0.38-0.89)] (ตารางที่ 4 และรูปที่ 7) และไม่พบความแตกต่างของ anti-TT ระหว่างเพศชายและหญิง เมื่อดู anti-TT แต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ (ภาคผนวก รูป ข) เมื่อดู GMT ตามช่วงอายุจะเห็นว่าจังหวัดทางภาคใต้ (กระบี่ สงขลา ปัตตานี) พบระดับ anti-TT สูง จังหวัดที่มี GMT ต่ำกว่าจังหวัดอื่นตลอดช่วงอายุ ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์

โดยสรุปความชุกของ anti-TT ในกลุ่มผู้บริจาคนี้นับตั้งแต่ที่ระดับ 0.01 IU/ml ร้อยละ 96.6 และที่ระดับ 0.1 IU/ml ร้อยละ 87.8 (GMT 1.16, 95%CI 0.73-1.59) โดยเป็นระดับที่ป้องกันโรคได้ระยะยาวมากกว่า 5 ปี (ระดับแอนติบอดีมากกว่า 1 IU/ml) พบได้ร้อยละ 55.9 (GMT 2.45, 95% CI 2.34-2.56) โดยระดับแอนติบอดีมีปริมาณค่อยๆ ลดลงจากอายุ 20 ปี (GMT 1.71, 95%CI 1.39-2.10) จนถึงอายุ 60 ปี (GMT 0.58, 95%CI 0.38-0.89) ยกเว้น 4 รายที่อายุมากกว่า 60 ปี



รูปที่ 6 การกระจายตัวของ anti-TT ในผู้บริจาคโลหิตในแต่ละจังหวัด



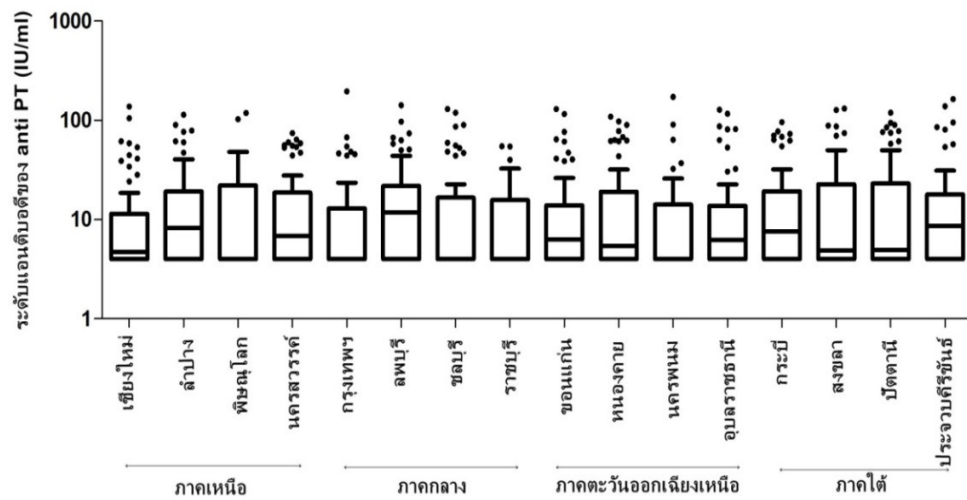
รูปที่ 7 ค่าเฉลี่ย (GMT) ของระดับ anti-TT ในผู้บริจาคโลหิตแบ่งตามอายุ

5.6 แอนติบอดีต่อเชื้อ *Bordetella pertussis* toxin (anti-PT IgG)

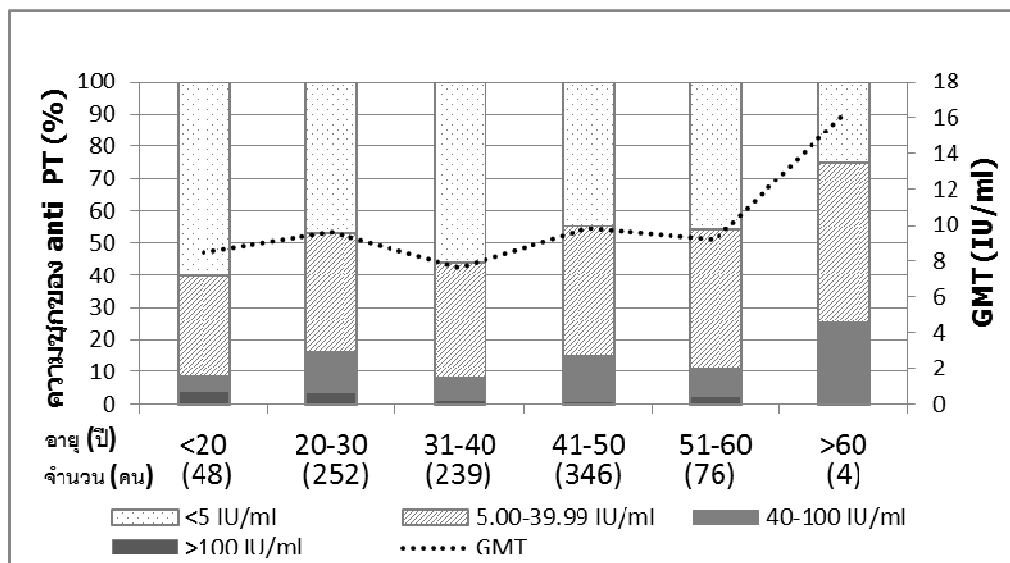
เนื่องจากยังไม่มีระดับ anti-PT ที่ป้องกันโรคที่ชัดเจน ในการศึกษาี้แอนติบอดีจำเพาะพบได้น้อย แม้ว่ายึดตามเกณฑ์การประเมินประสิทธิภาพวัคซีนซึ่งที่ระดับ 5 IU/ml ถือว่ามีแอนติบอดีแล้ว ความชุกของ anti-PT ในกลุ่มบริจาคเลือดอยู่ที่ร้อยละ 40-50 (ตารางที่ 3) ถ้ายึดตามเกณฑ์ตามชุดตรวจที่ใช้วินิจฉัยโรคความชุกของ anti-PT ที่ระดับ 40 IU/ml ยิ่งพบน้อยเพียงร้อยละ 12.9 ที่มีแอนติบอดีแล้ว

การกระจายตัวของแอนติบอดีของ anti-PT ในแต่ละจังหวัดได้แสดงออกเป็น blot pox ในรูปที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของแอนติบอดีแต่ละคู่ทั้งหมด 17 จังหวัด ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ความชุกแบ่งตามช่วงอายุแล้ว (ตารางที่ 4) พบความชุกร้อยละ 52 (ที่ระดับ 5 IU/ml) และร้อยละ 12.9 (ที่ระดับ 40 IU/ml) ขึ้นกับเกณฑ์ตัดสิน ซึ่งระดับแอนติบอดีมีค่าเฉลี่ย (GMT) 0.16 (95% CI 6.93-1.59) อย่างไรก็ตามระดับ anti-PT จะคงที่ตลอดทุกอายุจนถึง 60 ปี (ตารางที่ 4 และรูปที่ 9) และไม่พบความแตกต่างของ anti-PT ระหว่างเพศชายและหญิง เมื่อดู anti-PT แต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ (ภาคผนวก รูป ค) จังหวัดประจวบคีรีขันธ์พบ GMT ของ anti-PT เช่นเดียวกับ anti-DT และ anti-TT ต่ำกว่าจังหวัดอื่นๆตลอดช่วงอายุตั้งแต่อายุ 20 ปีเป็นต้นไป

โดยสรุปความชุกของ anti-PT น้อยในกลุ่มผู้บริจาคร้อยละ 52 (ที่ระดับ 5 IU/ml) และเพียงร้อยละ 12.9 (ที่ระดับ 40 IU/ml) (GMT 10.16 IU/ml, 95%CI 6.93-13.39) โดยที่ร้อยละ 2 พบ anti-PT สูงเกิน 100 IU/ml โดยเฉลี่ยระดับแอนติบอดีมีปริมาณคงที่ตลอดตั้งแต่อายุ 20 ปีจนถึงอายุ 60 ปี



รูปที่ 8 การกระจายตัวของ anti-PT IgG ในผู้บริจาคโลหิตในแต่ละจังหวัด



รูปที่ 9 ค่าเฉลี่ย (GMT) ของระดับ anti-PT ในผู้บริจาคโลหิตแบ่งตามช่วงอายุ

6.

ข้อวิจารณ์ (Discussion)

ก่อนยุคการฉีดวัคซีน DPT ประเทศไทยถือว่าเป็นระบาดของโรคคอตีบมาก่อน (3-4) พบรายงานผู้ป่วยประมาณ 4-6 รายต่อแสนคน หลังจากยุคได้รับวัคซีนแล้วจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคคอตีบลดลงเหลือ 0.1 รายต่อแสนคน อย่างไรก็ตามตั้งแต่ปี พ.ศ. 2520 เริ่มยุคการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค ซึ่งเริ่มวัคซีน 2 เข็มก่อน ต่อมาในปี พ.ศ. 2525 แนะนำให้ใช้ 3 เข็ม (อายุ 2, 4 และ 6 เดือน) ทำให้อัตราผู้ป่วยลดลงอย่างมาก และในปีพ.ศ. 2534 ให้ใช้วัคซีนเป็น 4 เข็ม (อายุ 2, 4, 6 และ 18 เดือน) และกระตุ้นอีกครั้งที่เด็กอายุ 4-6 ปีใน พ.ศ. 2543 ก่อนปี พ.ศ. 2555 อัตราป่วยจากโรคคอตีบในกลุ่มเด็ก 4-5 คนต่อประชากรแสนคนในอดีตลดเหลือเป็น 0.1 คนต่อประชากรแสนคน หรือลดลงมากกว่าร้อยละ 98 แต่ก็ยังเกิดพบปัญหาการระบาดได้เป็นครั้งคราว ความจริงแล้วในปี พ.ศ. 2533 พบปัญหาการระบาดของโรคคอตีบในกลุ่มเด็กเล็กจากจังหวัดชายแดนภาคใต้ และช่วงปี พ.ศ. 2537-2539 พบที่สระบุรี น่าน บุรีรัมย์และเชียงราย (6-7) ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากวัคซีนครอบคลุมไม่ถึงพื้นที่หรือไม่ได้รับวัคซีนเพียงพอ ต่อมาในปี พ.ศ. 2555 เริ่มพบผู้ป่วยในผู้ใหญ่ที่จังหวัดเลย และจังหวัดข้างเคียงที่จังหวัดเพชรบูรณ์ และหนองบัวลำภู ต่อมาขยายยังจังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ อุดรธานี มหาสารคามและนครราชสีมา โดยพื้นที่ระบาดเป็นเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปี (เพียงร้อยละ 10), 6-15 ปี (ร้อยละ 33.3), 16-25 ปี (ร้อยละ 10.45) และเริ่มพบสูงในกลุ่มอายุมากกว่า 25 ปี (ร้อยละ 46) ซึ่งผู้ป่วยในกลุ่มผู้ใหญ่โรคคอตีบนี้ น่าเกิดก่อนปี พ.ศ. 2520 ที่มีนโยบายให้ฉีดวัคซีน DPT (8) ในช่วงปี พ.ศ. 2555 ก็ยังพบการระบาดทางภาคใต้ ได้แก่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ซึ่งผู้ป่วยโรคคอตีบเป็นกลุ่มเด็ก เข้าใจว่านโยบายการฉีดวัคซีนอาจครอบคลุมไม่ถึงเนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีแรงงานอพยพโดยเฉพาะเด็กเล็กที่ย้ายตามมาด้วย ในปี 2556 ยังคงพบรายงานประปราย แสดงให้เห็นว่าผู้ติดเชื่ออาจยังไม่ได้รับวัคซีนหรือได้รับวัคซีนแต่อาจไม่ครบตามเกณฑ์ หรือแอนติบอดีที่มีอยู่แล้วอาจลดระดับลง ดังนั้นกระทรวงสาธารณสุขจึงได้เริ่มมีการรณรงค์ให้ฉีดวัคซีนป้องกันโรคคอตีบในกลุ่มอายุตั้งแต่ 20-50 ปี ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตั้งแต่ปลายปี 2557 เป็นต้นมา

สิ่งที่พบจากการศึกษานี้ตัวอย่างทดสอบเก็บช่วงปลายปี พ.ศ. 2557 โดยภาพรวมความชุกของภูมิคุ้มกันต่อ diphtheria (anti-DT) ในประชากรไทยในระดับป้องกันโรคได้พบร้อยละ 62.9 (GMT 0.19 IU/ml, 95%CI 0.13-0.25) ทางภาคใต้มีความชุกของ anti-DT สูงกว่าภาคอื่นๆ (ร้อยละ 70-80) น่าจะสะท้อนถึงผลจากการรณรงค์ของการฉีดวัคซีนทางภาคใต้ในปี พ.ศ. 2555 จึงพบทั้งความชุกและระดับแอนติบอดีสูงกว่าจังหวัดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะจังหวัดกระบี่และปัตตานี เช่นเดียวกันทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือความชุกของ anti-DT พบได้สูงรองลงมา (ร้อยละ 60-70) ยกเว้นนครพนม (ร้อยละ 57) การที่พบความชุกค่อนข้างสูงน่าจะเกิดจากเคยมีรายงานการระบาดมาก่อน อย่างไรก็ตามมีหลายจังหวัดที่ตรวจพบ anti-DT น้อยกว่าพื้นที่อื่นๆ ได้แก่ กรุงเทพฯ (ร้อยละ 43.3), เชียงใหม่ (ร้อยละ 53.3), นครสวรรค์ (ร้อยละ 53.3), ลพบุรี (ร้อยละ 55.0) และนครพนม (ร้อยละ 56.7) และบางพื้นที่พบระดับภูมิคุ้มกันต่ำในเกือบทุกช่วงอายุ เช่น นครสวรรค์ ลพบุรี และอุบลราชธานี โดยภาพรวมระดับแอนติบอดีที่ป้องกันโรคได้ในระยะยาว (>1 IU/ml) พบเพียงร้อยละ 6.6 แต่ระดับที่ป้องกันโรคในระยะสั้น (0.1-1 IU/ml) ลดลงตามช่วงอายุเห็นได้ชัดเจนกว่าตั้งแต่อายุ 20 ปีจนถึง 60 ปี เมื่อวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันเฉพาะที่จังหวัด

ขอนแก่นภายใน 3-4 ปีที่ผ่านมา จากที่เคยมีรายงานในปี พ.ศ. 2554 พบ anti-DT ร้อยละ 94.8 (13) ในขณะที่ การศึกษารั้งนี้ในปี พ.ศ. 2557 พบ anti-DT ที่ระดับป้องกันโรคได้ (0.1 IU/ml) ร้อยละ 71.7 และยังพบภูมิคุ้มกัน ในระดับต่ำๆ (ระดับ 0.01-0.09 IU/ml) อีกร้อยละ 24 แสดงว่าระดับแอนติบอดีอาจลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านมา นอกจากนั้นจากรายงานการศึกษามีคุ้มกันต่อโรคคอตีบในปี พ.ศ. 2555 มี anti-DT ที่ระดับป้องกันโรคร้อยละ 83-99 ในทั้งหมด 7 จังหวัด (เชียงใหม่ ราชบุรี ชลบุรี นครศรีธรรมราช พิษณุโลก ขอนแก่น และสงขลา) จำนวน 890 ราย (14) โดยความชุกสูงสุดอยู่ที่จังหวัดชลบุรี และต่ำสุดอยู่ที่จังหวัดเชียงใหม่ และระดับภูมิคุ้มกันด้านทานจำเพาะนี้ ลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่การศึกษาในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตครั้งนี้ พบว่าจังหวัดเชียงใหม่ก็ยังคงพบความชุกต่ำ ในเช่นเดียวกัน แสดงว่าบางพื้นที่น่าจะพิจารณาเพิ่มการเฝ้าระวังและฉีดวัคซีนปูพรมป้องกันไว้ก่อน การปูพรมด้วย วัคซีนป้องกันโรคคอตีบร่วมกับโรคบาดทะยักในผู้ใหญ่ได้เริ่มมีการรณรงค์ในกลุ่มบุคลากรทางการแพทย์ดี โดยฉีด วัคซีนกระตุ้น Td หนึ่งเข็ม (ซึ่ง d ในวัคซีนนี้มีปริมาณส่วนประกอบของเชื้อคอตีบลดขนาดลงกว่าวัคซีนปกติ) สามารถกระตุ้นให้มีการสร้าง anti-DT จากร้อยละ 83.3 ก่อนฉีดเป็นร้อยละ 97.2 หลังฉีด (15) จึงเป็นการ สนับสนุนการฉีดวัคซีนกระตุ้นในผู้ใหญ่เพื่อเป็นการลดอุบัติการณ์การติดเชื้อก่อโรคคอตีบโดยเฉพาะในกลุ่มเสี่ยงต่อ การติดเชื้อ

สำหรับโรคบาดทะยักในประเทศไทย หลังยุคการใช้วัคซีนป้องกัน DPT พบอุบัติการณ์ของโรคบาดทะยัก จาก 1.72 รายต่อประชากร 100,000 คนในผู้ใหญ่และ 57.93 รายต่อประชากร 100,000 คนในทารกแรกคลอด ใน ปี พ.ศ. 2528 ลดลงเหลือ 0.23-0.27 คนต่อประชากร 100,000 คนในปี พ.ศ. 2548-2549 จึงเห็นว่าอัตราป่วยมี แนวโน้มลดลงอย่างมา แนวโน้มผู้ป่วยลดลงในปี พ.ศ. 2546-2555 อัตราป่วย 0.15 รายต่อ 100,000 คน จนกระทั่ง ในปี พ.ศ. 2555 เริ่มมีรายงานการพบผู้ป่วยบาดทะยักในกลุ่มผู้ใหญ่อายุตั้งแต่ 45-65 ปี แต่ผู้ป่วยในทารกแรก คลอดน้อยมาก (9) แสดงว่าระดับแอนติบอดีต่อโรคบาดทะยักอาจลดระดับลงในผู้ใหญ่ จึงเสี่ยงต่อการติดเชื้อ มากขึ้น

สิ่งที่พบจากการศึกษานี้ โดยภาพรวมพบความชุกของ anti-TT ร้อยละ 96.6 (GMT 1.16, 95% CI 0.73-1.156) การกระจายตัวของแอนติบอดีในแต่ละจังหวัดอยู่ในเกณฑ์ดี จังหวัดที่มีความชุกของ anti-TT ได้น้อยกว่า จังหวัดอื่นๆ ได้แก่ กรุงเทพฯและอุบลราชธานี (ร้อยละ 81.7), ชลบุรี (ร้อยละ 83.3), เชียงใหม่และพิษณุโลก (ร้อยละ 85.0) ระดับ anti-TT ต่ำๆ (0.01-0.09 IU/ml) หรือลดลงจนตรวจไม่พบ (<0.01 IU/ml) เห็นได้มากขึ้นตาม อายุ แสดงว่าระดับแอนติบอดีต่อโรคบาดทะยักก็ลดลงตามอายุที่มากขึ้นจนถึงอายุ 60 ปีเช่นเดียวกับแอนติบอดีต่อ โรคคอตีบ ซึ่งเคยมีรายงานการศึกษาในปี พ.ศ. 2550 พบ anti-TT ร้อยละ 99.7 และระดับแอนติบอดีก็ลดลงตาม อายุที่มากขึ้น (16) จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในผู้ใหญ่ ซึ่งเห็นได้จากการศึกษาในปี พ.ศ. 2557 ในบางพื้นที่ที่มีความชุกน้อยและระดับ anti-TT ต่ำกว่าจังหวัดอื่นๆ รวมทั้งเห็นการลดลงของแอนติบอดีตามช่วงอายุ ได้ชัด เช่น เชียงใหม่ (ร้อยละ 85) พิษณุโลก (ร้อยละ 85.0) ชลบุรี (ร้อยละ 83.3) อุบลราชธานี (ร้อยละ 81.7) การรณรงค์ให้มีการฉีดกระตุ้นหรือมีการปูพรมในบุคลากรทางการแพทย์ด้วยวัคซีน เป็นการกระตุ้นให้มีการสร้าง แอนติบอดีในระดับป้องกันโรคทั้งสองได้เป็นอย่างดี (15)

สำหรับโรคไทรนก็เช่นเดียวกัน ในประเทศไทยอุบัติการณ์ของโรคไทรนได้ลดลง และผู้ป่วยมีแนวโน้มคงที่มาตลอดหลังยุคการใช้วัคซีน DPT เป็นต้นมา และไม่พบผู้ป่วยโรคไทรนตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537 เป็นต้นมา จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2549 (10) เกิดการระบาดทางภาคเหนือที่จังหวัดน่าน และประปรายอีก 7 จังหวัด (ขอนแก่น กระบี่ ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา นครพนม มุกดาหาร และภูเก็ต) โดยเริ่มพบผู้ป่วยในเด็กช่วงอายุมากกว่า 5 ปี และผู้ใหญ่ ซึ่งอาจเนื่องจากได้รับวัคซีนไม่ครบตามเกณฑ์ หลังจากนั้นในช่วงปี พ.ศ. 2554 และ พ.ศ. 2556 (11) พบรายงานการกลับมาของผู้ป่วยไทรน ในกลุ่มเด็กที่มีช่วงอายุมากขึ้นและเพิ่มมากขึ้นในผู้ใหญ่ ซึ่งอาการแสดงไม่ชัดเจนเหมือนที่เกิดในเด็กเล็ก ทำให้การวินิจฉัยทางคลินิกยากกว่าเดิม

สิ่งที่พบจากการศึกษาในกลุ่มผู้บริจาคนี้ โดยภาพรวมพบความชุกของ anti-PT ต่ำกว่าแอนติบอดีจำเพาะชนิดอื่นๆอย่างเห็นได้ชัดเจน เนื่องจากไม่มีเกณฑ์ในระดับแอนติบอดีป้องกันโรคของ anti-PT อย่างชัดเจน เหมือนกับ anti-DT และ anti-TT ในการศึกษาครั้งนี้จึงอาศัยเกณฑ์ตัดสิน ≥ 5 IU/ml (ยึดตามการประเมินประสิทธิภาพวัคซีน) พบความชุก anti-PT ร้อยละ 52 และเกณฑ์ ≥ 40 IU/ml (ยึดตามคู่มือชุดตรวจเพื่อการวินิจฉัย) พบเพียง anti-PT เพียงร้อยละ 12.9 โดยที่มีแอนติบอดีเฉลี่ย GMT 10.16 IU/ml (95% CI 9.93-13.39) น่าจะแสดงให้เห็นว่าประชากรมีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อโรคไทรน อย่างไรก็ตามไม่พบการรายงานผู้ป่วยมาเป็นเวลานาน และไม่พบการกลับมาของโรคคอตีบจากการวิเคราะห์ทาง mathematical model ในประเทศไทย (17) น่าจะแสดงให้เห็นว่าโรคไทรนไม่พบบ่อยในประเทศไทย จนกระทั่งที่มีรายงานการระบาดภายใน 1-2 ปีที่ผ่านมา จากการศึกษากลุ่มผู้บริจาคโลหิตนี้ยังพบว่า บางรายระดับ anti-PT สูง (ตั้งแต่ 100 IU/ml) แต่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อเฉียบพลันในขณะนั้น เนื่องจากผลการทดสอบเพิ่มเติมด้วย anti-FHA IgG และ IgA ไม่สามารถสนับสนุนได้ การกระจายตัวของ anti-PT ตามจังหวัด จังหวัดที่มีความชุกต่ำและระดับ anti-PT น้อยสุดเป็นจังหวัดราชบุรีและนครพนม แต่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์มีค่าเฉลี่ยของ anti-PT ต่ำมากทุกช่วงอายุตั้งแต่ 20-50 ปี แม้ว่าการระบาดอาจมีรายงานไม่มากนัก แต่อาจเป็นเพราะไม่พบอาการแสดงของโรคมาเป็นเวลานาน ซึ่งอาการแสดงของโรคในกลุ่มอายุสูงไม่ชัดเจน ทำให้การวินิจฉัยทางคลินิกเป็นไปได้ยาก ส่วนการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการยังมีข้อจำกัดไม่ได้ใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งอาจมีการกลับมาใหม่ของโรคไทรน (17)

7. สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)

วัคซีนป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยักและไทรน เป็นวัคซีนรวมที่อยู่ในแผนการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุขอยู่แล้ว ทำให้อัตราป่วยและอัตราตายลดลง และสร้างเสริมภูมิคุ้มกันป้องกันโรคได้ หลังได้รับวัคซีนเป็นเวลานาน พบรายงานการระบาดและการกลับมาของโรคเป็นระยะในวัยอายุมากขึ้น แม้ว่าการฉีดวัคซีนครอบคลุมประชากรได้เกือบทุกจังหวัดแล้ว จึงน่าจะเกิดจากภูมิคุ้มกันลดระดับลงหลังฉีดวัคซีน จากการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นนี้ภูมิคุ้มกันอาจลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น ทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากขึ้น จากการแนะนำทั้ง advisory committee on immunization practices (ACIP) จากศูนย์ควบคุมโรคสหรัฐอเมริกาและในประเทศไทย (3, 5) ได้เสนอให้มีนโยบายฉีดวัคซีนกระตุ้นภูมิคุ้มกันเสริมในวัยผู้ใหญ่ เพื่อให้ประชากรมีภูมิคุ้มกัน (herd

immunity) ในระดับป้องกันโรคได้ โดยทั่วไปวัคซีนป้องกันโรคบาดทะยัก (T) ได้แนะนำให้มีการฉีดกระตุ้นทุก 10 ปีอยู่แล้ว ในปัจจุบันจึงมีการเตรียมวัคซีนเพื่อป้องกันทั้งโรคบาดทะยักร่วมกับโรคคอตีบ (TD หรือ Td) ฉีดกระตุ้นให้ได้ภูมิคุ้มกันทั้งสองโรคในวัยผู้ใหญ่ จากการศึกษาในผู้บริจาคโลหิตนี้สนับสนุนให้เห็นว่า หลังได้รับการกระตุ้นด้วยวัคซีนในจังหวัดทางภาคใต้ทำให้มีระดับแอนติบอดีจำเพาะสูงขึ้นอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามหลายจังหวัดมีระดับแอนติบอดีจำเพาะลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น และพบบางพื้นที่ซึ่งภูมิคุ้มกันป้องกันโรคไอกรนมีระดับต่ำตั้งแต่ อายุ 20-40 ปีเป็นต้นมา และพบว่าความชุกของ anti-PT ต่ำ ดังนั้นวัคซีนกระตุ้นในผู้ใหญ่ในประเทศไทยอาจต้องคำนึงถึงการกระตุ้นเพื่อป้องกันทั้งโรคบาดทะยัก โรคคอตีบ และร่วมกับโรคไอกรนด้วย (Tdap)

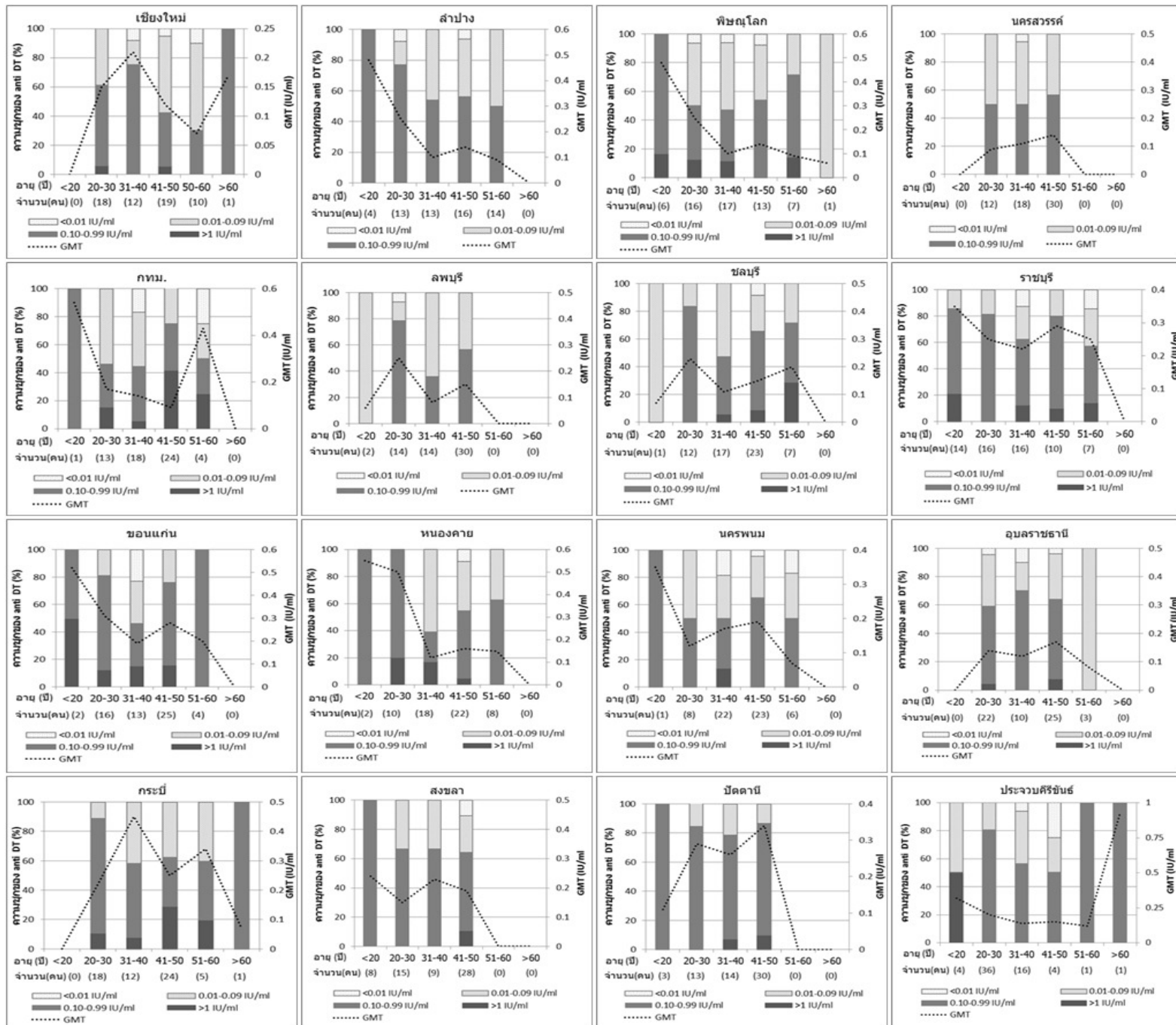
การป้องกันที่ได้ประสิทธิผลต้องให้มีภูมิคุ้มกันในระดับที่ป้องกันโรคในประชากรได้ตลอดทุกช่วงอายุ จึงควรมีมาตรการตั้งแต่ให้วัคซีนครอบคลุมแก่ประชากรมากที่สุด การให้ความรู้ความเข้าใจแก่ประชาชน การกระตุ้นให้วัคซีนในผู้ใหญ่เพื่อต้องการให้มี herd immunity ในประชากรเพียงพอในการป้องกันอุบัติการณ์เกิดโรค มีการเฝ้าระวังสถานการณ์ของโรคและให้การวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องเพื่อไม่ให้เชื้อแพร่ระบาดต่อไป ในช่วงที่มีการรองรับประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (ASEAN Economic Community: AEC) ส่วนใหญ่ต่างหันมาให้ความสำคัญในการเอาใจใส่ดูแลสุขภาพกันมากขึ้น เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคภัยต่างๆซึ่งส่วนหนึ่งเป็นเชื้อที่นำเข้ามาจากเพื่อนบ้าน รวมทั้งการระบาดของเชื้อที่สามารถใช้วัคซีนป้องกันได้แล้ว หรือเชื้อที่สามารถฉีดวัคซีนกระตุ้นซ้ำ

8. บรรณานุกรม (Bibliography)

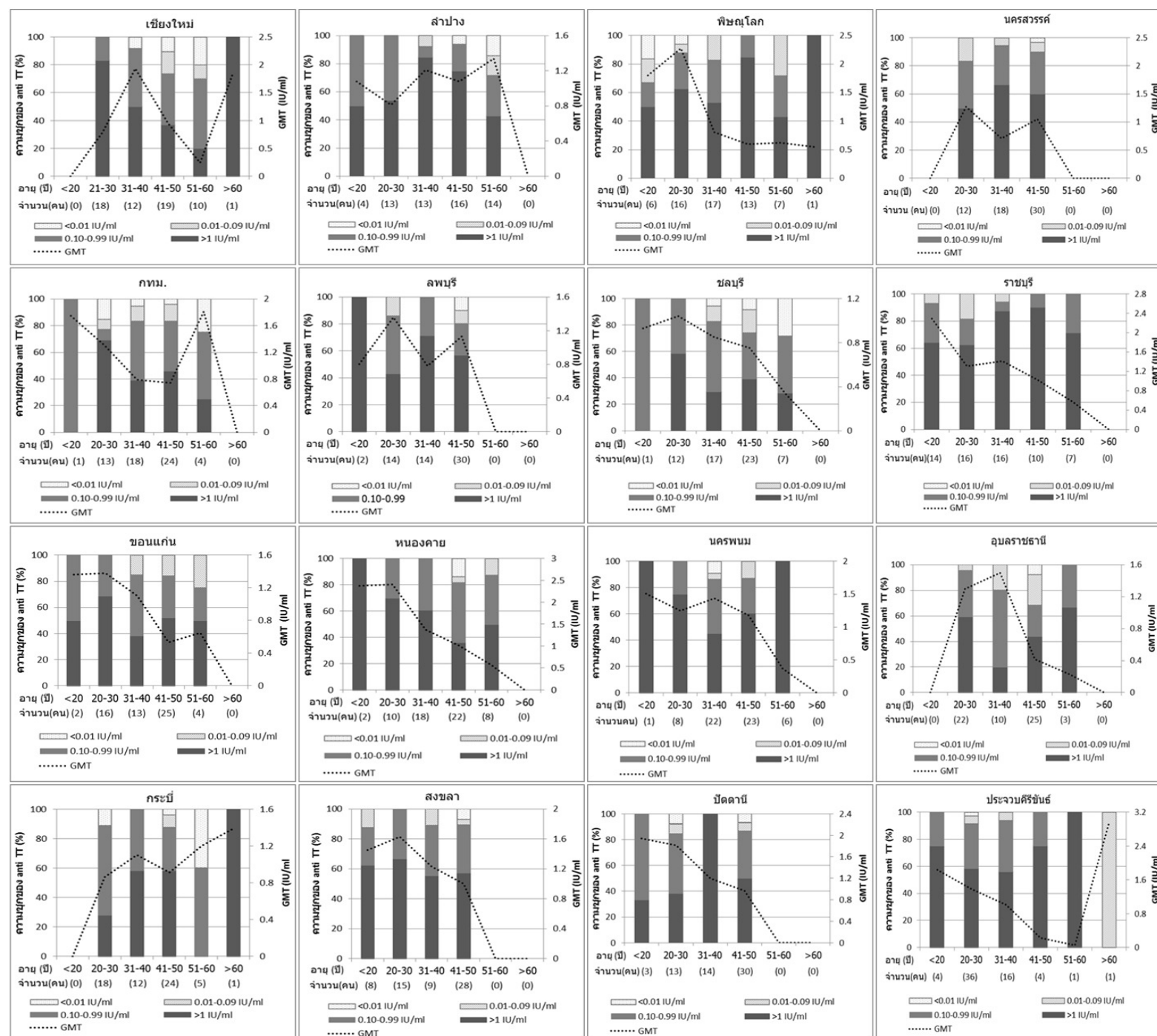
- 1 ตำราแบคทีเรียการแพทย์ ภัทรชัย กิริติสิน กรุงเทพมหานคร: วีเจ พรินต์ 2549
- 2 Bland J, Clements J. Protecting the world's children: the story of WHO's immunization program. World Health Forum 1998;19:162-73.
- 3 วัคซีนรวมป้องกันโรคคอตีบ-บาดทะยัก-ไอกรน ใน กุลกัญญา โชคไพบูลย์กิจ, เกษวดี ลาภพระนนท์, จุฑารัตน์ เมฆมัลลิกา, ฐิติอร นาคบุญนำ, อัจฉรา ตั้งสถาพรพงษ์ บรรณาธิการ ตำราวัคซีนและการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันโรค 2550 กรุงเทพมหานคร สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2550:หน้า 84-92.
- 4 The immunological basis for immunization series. WHO 1993.
WHO vaccine-preventable disease: monitoring system. 2006 global summary. Geneva, World Health Organization, 2006 (WHO/IVB/2006)

- 5 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update recommendations for the use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis (Tdap) vaccines from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) 2010. MMWR Morb Mortal Wkl Resp 2011;60:13-5.
- 6 Tharmaphornpilas P, Yoocharoan P, Prempre P, Youngpairoj S, Sriprasert P, Vitek CR. Diphtheria in Thailand in the 1990s. J Infect Dis 2001;184:1035-40
- 7 Diphtheria outbreak Saraburi province, Thailand 1994. MMWR 1996;45:271-3
- 8 สิริลักษณ์ รังสีวงศ์ พจมาน ศิริอารยาภรณ์ สถานการณ์การระบาดของโรคคอตีบ ปี พ.ศ. 2555 และข้อเสนอแนะ รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 2556;44:1-8
Rungsriwong S, Siriarayaporn P. Diphtheria outbreak situation and suggestion, Thailand, 2012. Weekly epidemiological surveillance report 2013;44:1-8.
- 9 สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข โรคบาดทะยักและบาดทะยักในทารกแรกคลอด สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2555 กรุงเทพมหานคร:โรงพิมพ์องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์ Annual epidemiological surveillance report 2012.
- 10 สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2549 กรุงเทพมหานคร:โรงพิมพ์องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์
- 11 สุภาพร ธนกรสิริเลิศ แก้วกาญจน์ ทาแท่งทอง การสอบสวนโรคไอกรนในค่ายคนงานก่อสร้างบ้านจัดสรรแห่งหนึ่งเขตประเวศ กรุงเทพมหานคร วันที่ 12-26 กุมภาพันธ์ 2556 รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 2557;45:81-5
- 12 Kosuwan P, Warachi B, Hutagalung Y, Borkird T, Kosalaraksa P, Bock HL, et al. Reactogenicity and immunogenicity of reduced antigen content diphtheria-tetanus-acellular pertussis vaccine (dTpa) administered as a booster to 4-6 year-old children primed with four doses of whole-cell pertussis vaccine. Vaccine 2003;21:4194-200.
- 13 Bansiddhi H, Vuthitanachot V, Vuthitanachot C, Prachayangprecha S, Theamboonler A, Poovorawan Y. Seroprevalence of antibody against diphtheria among the population in Khon Kaen province, Thailand. Asia-Pacific J Pub Hlth 2015;27:NP2712-20.

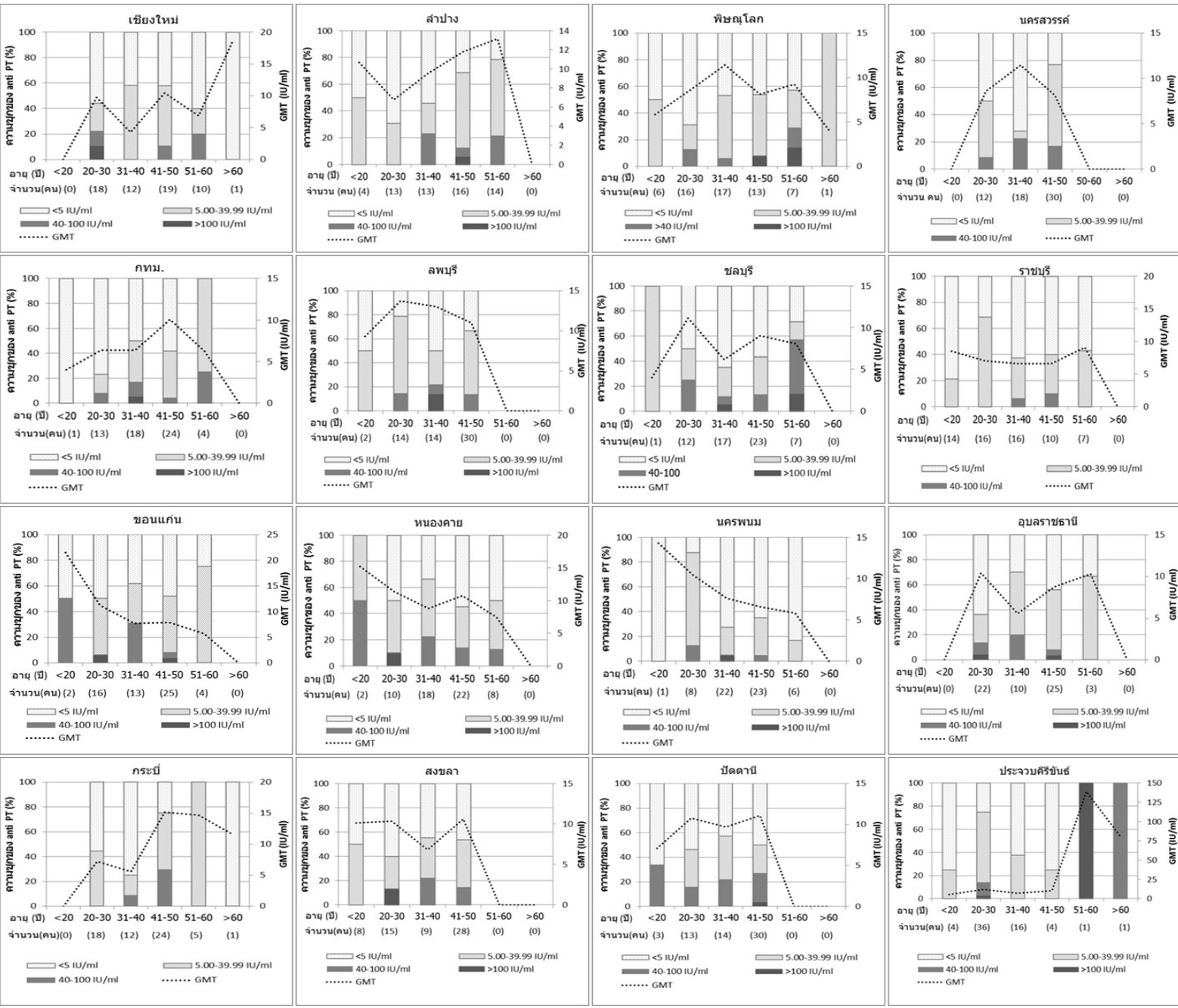
- 14 Wanlapakorn N, Yoocharoen P, Thamaphomplas P, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Diphtheria outbreak in Thailand, 2012; seroprevalence of diphtheria antibodies among Thai adults and its implications for immunization programs. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth* 2014;45:1132-41
- 15 Wiboonchutikul S, Manosuthi W, Sangsajja C, Thientong V, Likanonsakul S, Srisopha S, et al. Baseline immunity to diphtheria and immunologic response after booster vaccination with reduced diphtheria and tetanus toxoid. *American J Infect Control*. 2014;e1-e3.
- 16 Chatchatee P, Chatproedprai S, Warinsathien P, Tharmaphornpilas P, Yoocharoen P, Warintrawat S, et al. Seroprevalence of tetanus antibody in the Thai population: a national survey. *Asian Pacific J Allergy Immunol* 2007;25:219-23.
- 17 Blackwood JC, Cummings DA, Broutin H, Lamsirithaworn S, Rohani P. Deciphering the impacts of vaccination and immunity on pertussis epidemiology in Thailand. *PNAS* 2011;110:9595-600.
- 18 นิรมล ธรรมวิริยสดี การปรากฏขึ้นอีกครั้งของโรคไอกรน: ปัญหาและแนวทางการควบคุม *Thammasat Medical J* 2014;14:237-46. คณะสหเวชศาสตร์ สาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยบูรพา



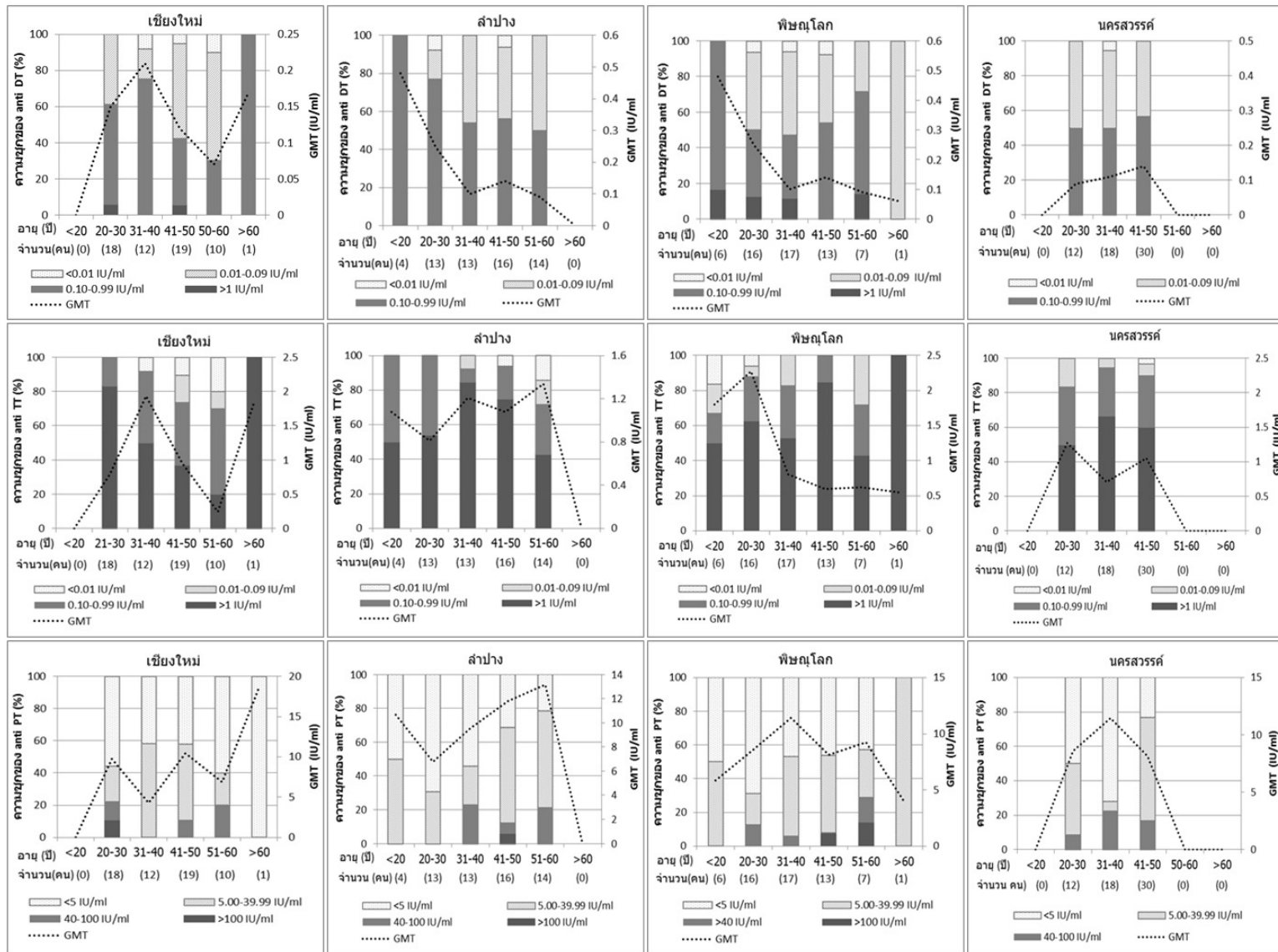
รูปที่ 10 anti-DT IgG ในแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ



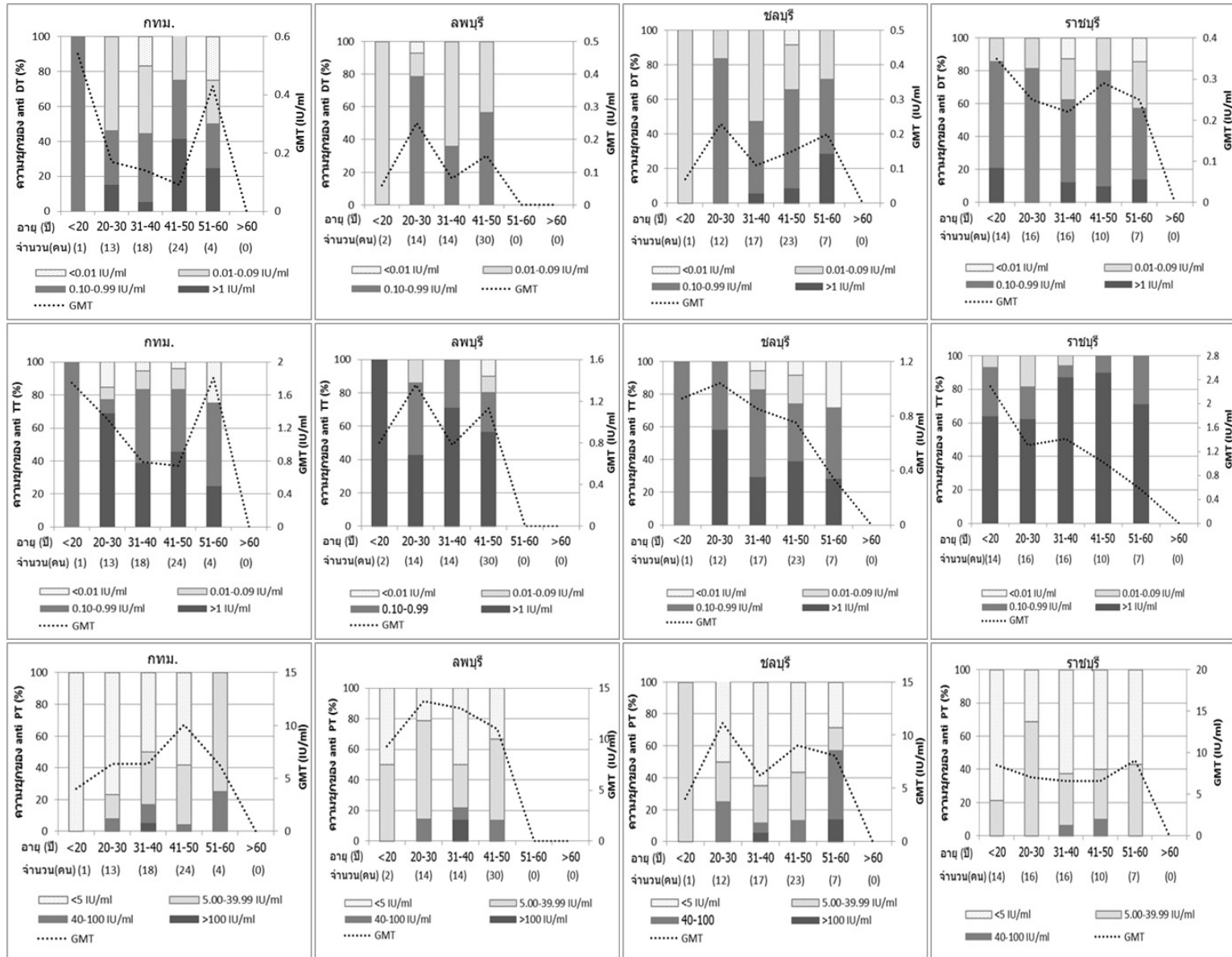
รูปที่ 11 anti-TT IgG ในแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ



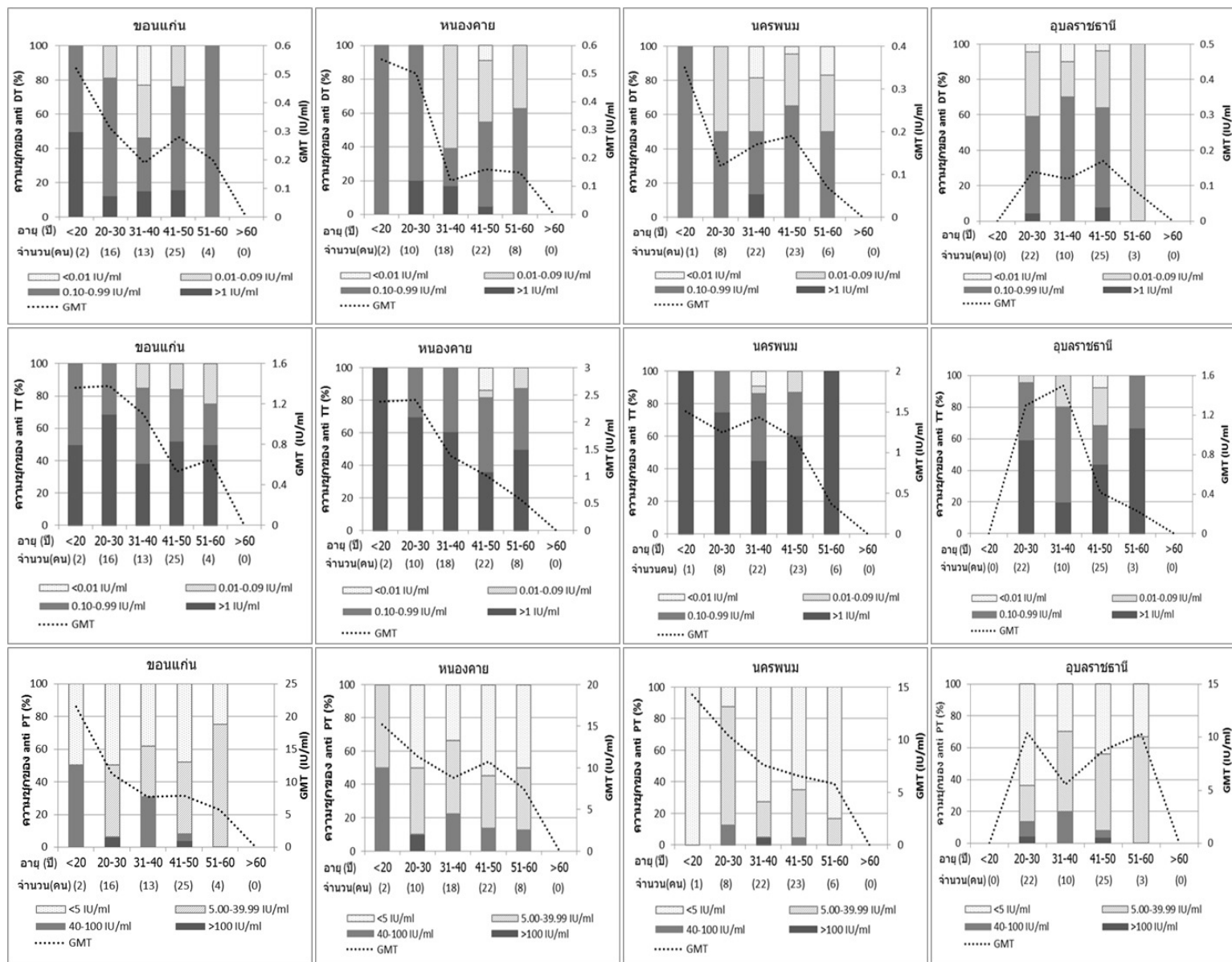
รูปที่ 12 anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดแบ่งตามอายุ



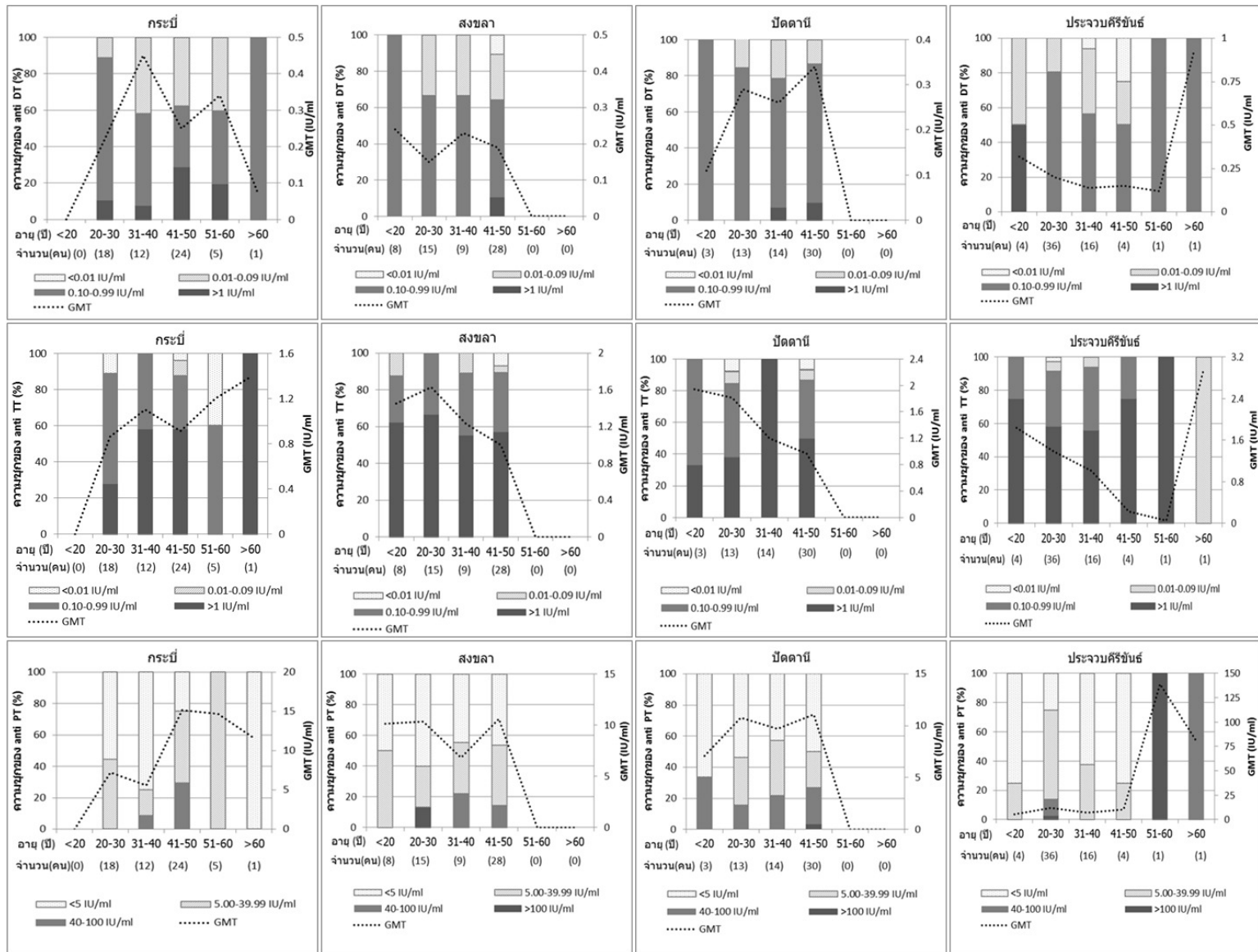
รูปที่ 13 anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคเหนือแบ่งตามอายุ



รูปที่ 14 anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคกลางแบ่งตามอายุ



รูปที่ 15 anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือแบ่งตามอายุ



รูปที่ 16 anti-DT, anti-TT และ anti-PT IgG ในแต่ละจังหวัดของภาคใต้แบ่งตามอายุ