



การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคหัดเยอรมันในคนปกติ,
คนตั้งครรภ์และในเลือดจากสายสะดือเด็ก
โดยวิธี Hemagglutination inhibition

จิราภรณ์ สุภาวดี วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*
สุพิศรา พืระคม วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) วท.ม. (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)*
อัจฉรา ลอยชื่น วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
กัมพล พันธอำพล พ.บ.*

บทคัดย่อ

ในการหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อหัดเยอรมันโดยวิธี hemagglutination inhibition test จากน้ำเหลืองตัวอย่างที่เก็บจากคนไม่แสดงอาการของโรคนั้นทั้ง เพศชายและเพศหญิง ในช่วงอายุต่างกัน ตั้งแต่อายุน้อยกว่า 1 ปี จนถึงอายุมากกว่า 65 ปี เป็นจำนวน 268 ราย ในหญิงตั้งครรภ์ในช่วงอายุของการตั้งครรภ์ 1-5 เดือน จำนวน 300 ราย และจาก cord blood รวมทั้งหมดจำนวน 61 ราย จากผลของการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการของโรค ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคหัดเยอรมันในเพศชายและหญิง ไม่แตกต่างกัน และพบว่าพวกที่มีอายุต่ำกว่า 9 ปี, 50-66% มีระดับภูมิคุ้มกัน $\geq 1:4$ ในช่วงอายุ 10-14 ปี 57.4% พบว่ามีระดับภูมิคุ้มกัน $\geq 1:64$ ส่วนในช่วงอายุอื่น ๆ จะพบภูมิคุ้มกันระดับต่าง ๆ กระจายกันไป ในหญิงมีครรภ์พบว่า 18.3% มีภูมิคุ้มกัน $\leq 1:4$ และ 52.1% มีภูมิคุ้มกัน $\geq 1:64$ ส่วนใน cord blood และของมารการะดับภูมิคุ้มกันไม่แตกต่างกัน เมื่อเอาพวกที่มี titer สูง $\geq 1:64$ treat ด้วย 2-mercaptoethanol ระดับ antibody ไม่ลดลงแสดงว่าภูมิคุ้มกันที่พบเป็น IgG antibody.

*ภาควิชาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รับตีพิมพ์ : 20 พฤศจิกายน 2521

บทนำ

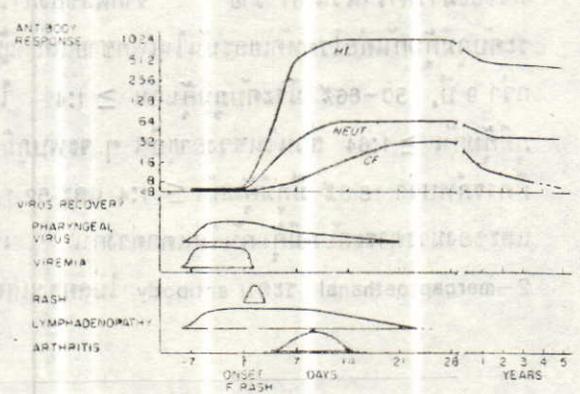
Infection ที่เกิดจาก rubella virus ในหญิงมีครรภ์ เป็นโรคหนึ่งที่ทำให้เกิด abortion และ embryopathies ได้ แม้ว่าจะมีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติอยู่บ้างแล้วก็ตาม อย่างเช่นในประเทศเยอรมันพบว่า 10% ของหญิงที่มีอายุช่วงที่ตั้งครรภ์ได้ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อนี้ สำหรับในไทยเราพบว่ามีเปอร์เซ็นต์สูงกว่า ซึ่งก็มีอันตรายสูงเมื่อตั้งครรภ์ สำหรับการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อหัดเยอรมัน เป็นวิธีการที่สำคัญสำหรับการวินิจฉัย และก่อนการให้วัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อในระยะตั้งครรภ์

Rubella เป็นโรคติดต่อที่ทราบกันมานานหลายร้อยปีมาแล้ว โดยถือว่าเป็น milder form ของ measles หรือไม่กี่ scarlet fever หรือเป็น hybrid ของโรคนั้นๆ ในปี 1834 พบว่า rubella เป็นโรคอีกโรคหนึ่ง ซึ่งคณะแพทยนาานาชาติได้มีมติให้เรียกว่า German measles แยกจาก measles หรือ English measles ต่อมาในปี 1941 จักษุแพทย์ชาวออสเตรเลียให้ข้อสังเกตว่า rubella virus สามารถผ่าน placenta แล้วทำลาย cell ใน fetus ขณะที่มารดาได้รับเชื้อ rubella ใน first trimester ของการตั้งครรภ์

Rubella เป็น RNA virus ที่มี envelope ลักษณะเป็น cubic icosahedral symmetry ขนาดประมาณ 35-40 n.m. Virus ตัวนี้จัดอยู่ใน family Togavirus, genus alpha virus (1) มีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงของนกพิราบ เบ็ด และก่อให้เกิด hemagglutination มี antigenic type เพียง type เดียว ไวรัสตัวนี้ติดต่อโดยทางหายใจเหมือนกับโรคหัด ไวรัสจะเพิ่มจำนวนที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณหลังอกหู และ

ท้ายทอย ทำให้เกิดการอักเสบของต่อมน้ำเหลือง ระยะพักตัวประมาณ 12-22 วัน ทำให้เกิดพยาธิสภาพได้ 2 ชนิด คือ Postnatal Rubella และ Prenatal Rubella ผู้ป่วยมีอาการเป็นไข้ไม่สูงนักมีผื่นขึ้นทั่วร่างกาย บางรายก็ไม่ปรากฏผื่นในขณะเดียวกันก็จะมี antibody เกิดขึ้น ในรายที่เป็น primary infection, antibody ที่เกิดขึ้นและตรวจพบได้ก่อนเป็น Hemagglutination-inhibition antibody (HI-Ab) และ Neutralizing antibody (NT-Ab) พบภายใน 24-48 ชั่วโมง หลังจากที่มีผื่น peak จะสูงขึ้นภายใน 7-14 วัน ต่อมาจะลดลงช้าๆ คงอยู่นานตลอดชีวิต ในระดับต่ำๆ (2) ส่วน Complement fixation Ab (CF-Ab) พบหลังจากเกิดผื่น 4 วัน มี peak สูง ภายใน 2 อาทิตย์ ต่อมาจะลดลงเร็ว อยู่ได้ไม่นาน ประมาณ 2-3 เดือน (3) Ab ที่เกิดในอาทิตย์แรกเป็น Ig M ช่วงอาทิตย์ต่อมา เป็นพวก Ig G.

สำหรับ Prenatal Rubella (Congenital Rubella) ในหญิงที่ตั้งครรภ์หากไม่มีระดับภูมิคุ้มกัน แล้วได้รับเชื้อในระยะ 3 เดือนแรกของ

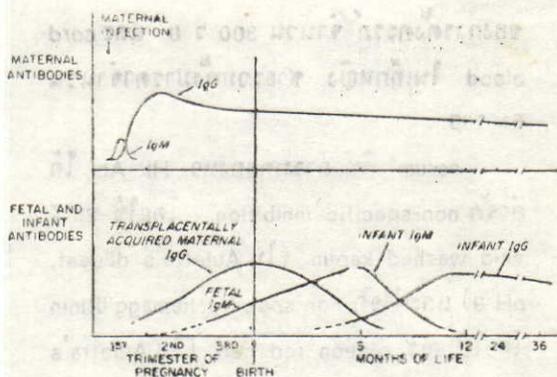


Clinical and virologic features of natural rubella. Frhm Am. J. clin Path. 58: 003-818, 1972 (4)

การตั้งครรภ์ที่เชื่อว่าผ่านจากรกมารดาเข้าสู่ endothelial cell ของ chorionic blood vessel แล้วเข้าทำลาย cell ทำให้เกิด abortion บางทีเชื่อเข้าสู่ fetus circulation โดยตรงแล้วทำลาย developing organs ต่าง ๆ ใน fetus ทำให้การเจริญเติบโตของเด็กผิดปกติ (5) เด็กที่คลอดออกมาจึงมีอาการพิการแต่กำเนิด (Congenital malformities) ประกอบด้วยอาการสำคัญ 3 อย่าง เรียกว่า "Gregg's syndrome" หรือ Triad Rubella คือ Cataract เกิดเมื่อมารดาได้รับเชื้อในอาทิตย์ที่ 6 ของการตั้งครรภ์ Deafness เกิดเมื่อมารดาได้รับเชื้อในอาทิตย์ที่ 9 ของการตั้งครรภ์ Heart Diseases เกิดเมื่อมารดาได้รับเชื้อในอาทิตย์ที่ 5-10 ของการตั้งครรภ์ นอกจากนี้ยังมีอาการของ Mental retardation ร่วมด้วย

สำหรับ Ab responses ใน Maternal-Fetus Rubella ดังภาพข้างล่างนี้

การวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ อาศัยหลักการเช่นเดียวกับโรคติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น ๆ คือ การแยกเชื้อไวรัส (Isolation) หรือตรวจหา antigen ของเชื้อไวรัส ต้องทำการตรวจตั้งแต่เริ่มมีอาการของโรค เช่นการเพาะเลี้ยงเชื้อใน Tissue culture สังเกตดูการเกิด CPE (cytopathogenic effect) แล้วนำไป identify และ การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อไวรัส (serology) โดยเก็บเลือด 2 ระยะ คือ หลังจากเกิดผื่นแดง 2-3 วัน เป็น Acute phase และหลังจากนั้นอีก 2-3 อาทิตย์ เป็น Convalescent phase ที่ rising titer antibody ถ้า titer ใน Convalescent phase สูงกว่า Acute phase เกิน 4 เท่า ถือว่าเกิด infection จาก Rubella วิธีตรวจทาง serology มี 4 วิธีคือ Neutraliza-



From Am J.clin Path. 57:803-813, 1972 (4)

tion test (6,7) Complement fixation test (3) Immunofluorescence test, Hemagglutination Inhibition test, (8)

วิธีการที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ เป็น Hemagglutination-Inhibition โดย Rubella virus มีสาร hemagglutinin จะทำให้เม็ดเลือดแดงของลูกไก่อายุ 1 วัน หรือของนกพิราปเกิดการเกาะกลุ่มเรียกว่า "hemagglutination" แต่ถ้าใน serum มี Ab ที่ specific ต่อ Rubella virus จะทำให้ไม่เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่เดิมลงไปเรียกว่า "hemagglutination-inhibition" ซึ่งจุดประสงค์ของการศึกษาหาระดับภูมิคุ้มกันของโรคหัดเยอรมันครั้งนี้ เป็นการ survey ในคนปกติ เพื่อดูว่าประชากรจะมีภูมิคุ้มกันต่อโรคนี้นานน้อยเพียงใด

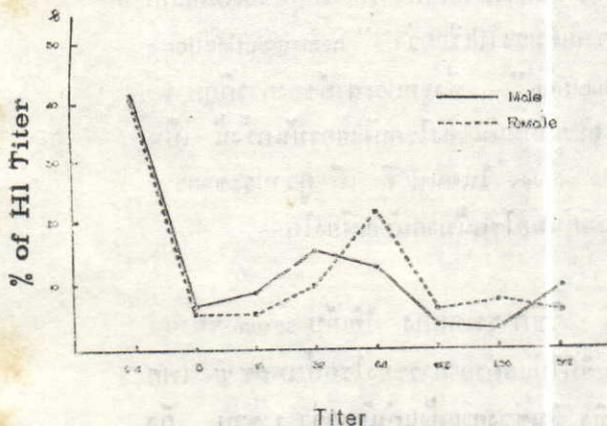
วิธีการทดลอง ได้เก็บ serum ของคนปกติที่ไม่แสดงอาการของโรคหัดเยอรมัน เพศหญิง ในช่วงอายุตั้งแต่ไม่น้อยกว่า 1 ขวบ ถึงมากกว่า 55 ปี จำนวน 268 ราย หญิงตั้งครรภ์ ช่วงอายุของการตั้งครรภ์ 1-5 เดือน

ของการตั้งครรภ์ จำนวน 300 ราย และ cord blood ในเด็กหญิง ชายรวมทั้งมารดาจำนวน 61 ราย

serum ที่ทำการทดสอบหา HI-Ab ได้ กำจัด non-specific inhibition โดยใช้ 25% acid washed kaolin (ใน Auletta's diluent, pH 9) และกำจัด non-specific hemagglutinin โดยใช้ 50% pigeon red cell (ใน Auletta's diluent) แล้ว inactivate ที่ 56°C 30 นาที serum ที่ treat แล้วจะมี dilution 1:4 สำหรับ serum ที่ต้องการตรวจหา Ig M treat ด้วย 2-Mercaptoethanol.

serum ที่ treat แล้วตรวจหา antibody โดยวิธี Hemagglutination inhibition test (9) ใช้ Microtiter method ใช้ Rubella Ag 4-8 HA units (Hhechst Behringwerke, Co)

ผลการทดลอง คนปกติทั้งเพศชายและเพศหญิงอายุต่างๆ จำนวน 268 ราย จะพบมีระดับ antibody เปอร์เซ็นต์ค่าๆ กัน แสดง



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ Percent Rubella HI-Antibody titer ในเพศหญิงและชายปกติ

ไว้ในรูปที่ 1 ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนัก ส่วนที่มี antibody titer ≤ 4 และ ≥ 64 แสดงในการครั้งที่ 1. รูปที่ 2 พบว่าช่วงอายุ 10-14 ปี มีระดับ antibody titer ≥ 64 สูงกว่าช่วงอายุอื่น ๆ

antibody ที่พบในคนตั้งครรภ์ช่วงอายุของการตั้งครรภ์ 1-5 เดือน จำนวน 300 ราย มี titer ต่าง ๆ กัน ตามรูปที่ 3 25.1% มี titer ≥ 64 และ 18.3% มี titer ≤ 4

ระดับ antibody ที่พบใน cord blood ของเด็กชายและเด็กหญิงแสดงในรูปที่ 4 ที่มี titer ≥ 64 มี 47.5% ส่วน titer ≤ 4 ประมาณ 14.7% เมื่อเปรียบเทียบระดับ antibody ใน cord blood และของมารดาพบว่าไม่แตกต่างกันแสดงไว้ในรูปที่ 5

วิจารณ์

ระดับ Rubella HI-antibody ค่า positive titer และ negative titer ตามมาตรฐานของ WHO โดยถือว่า

titer 4 เป็น negative titer ไม่เคยได้รับ infection

titer 8 เป็น positive (low) titer ได้รับ infection มาก่อน

titer 64 เป็น positive (high) titer ได้รับ infection มาก่อน

ระดับ antibody ในคนปกติจำนวน 268 ราย รูปที่ 1 พบว่าในชาย 41.2% และหญิง 40.5% มีระดับ 4 พวกนี้จะติดเชื้อได้ง่าย ส่วนพวกที่มี antibody แต่เป็น low titer ถ้าได้รับเชื้อปริมาณมากและสภาพร่างกายอ่อนแอ ลงก็อาจติดเชื้อได้เช่นกัน ส่วนพวกที่มี antibody

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ Rubella HI-Antibody ของคนปกติในช่วงอายุต่าง ๆ

Age (year)	Case	% HI Titer	
		≥ 4	≥ 64
1-4	30	60.0	20.0
5-9	21	66.6	24.4
10-14	23	30.4	57.4
15-24	60	28.3	38.3
25-34	43	43.0	38.0
35-44	34	38.2	36.0
45-54	33	39.3	22.2
55	40	25.0	7.5

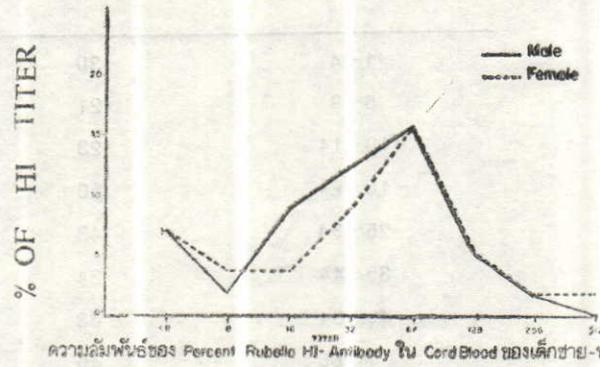
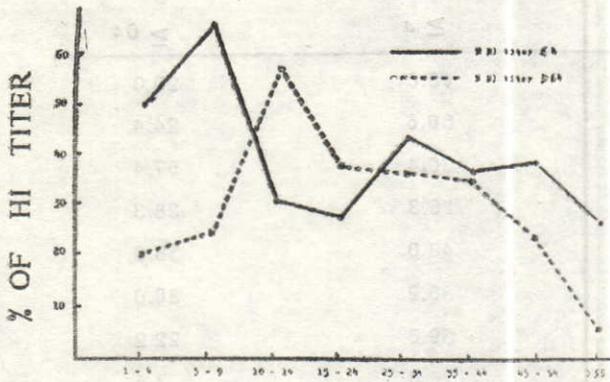
เป็น high titer จะป้องกันการติดเชื้อได้ เมื่อศึกษาถึงระดับ antibody ในช่วงอายุต่างๆ กัน (ตารางที่ 1, รูปที่ 2) พบว่าเด็กอายุ 1-4 ปี และ 5-9 ปี มี percent negative สูงถึง 50-66% แต่ช่วงอายุ 10-14 ปี และ 15-24 ปี percent negative ลดลงขณะเดียวกัน percent positive เพิ่มขึ้นซึ่งในเด็กอายุต่ำกว่า 9 ปี และระยะ puberty ถ้าได้ contract กับผู้ป่วย กลุ่มที่ไม่มี antibody จะเกิดติดเชื้อได้ จึงพบการระบาดมากในเด็ก และระยะ puberty เมื่อมีอายุสูงขึ้น percent positive สูงขึ้น ซึ่ง antibody นี้ อาจจะเกิดจาก natural contact ส่วนรายที่มี titer สูงมาก อาจเป็นพวกที่ได้รับ infection มาก่อนแล้วสร้าง long-life antibody หรือเป็นพวกที่ได้รับ natural booster เป็นแบบ mild infection ซึ่งไม่ปรากฏอาการ

ระดับ antibody ในคนตั้งครรภ์ช่วง 1-5 เดือน จำนวน 300 ราย (รูปที่ 3) พบว่า

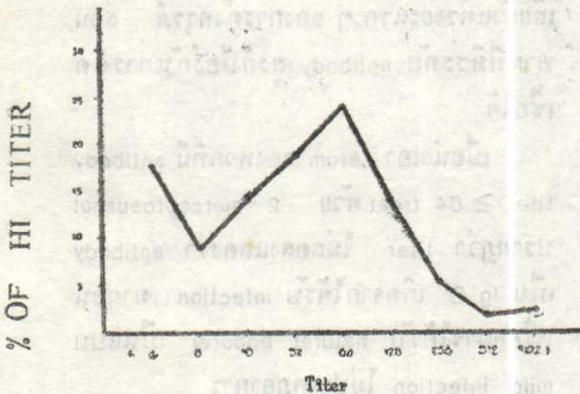
13.8% มี titer 4 นอกจากนี้พบว่ามี antibody ระดับสูง ซึ่ง 52.1% มี titer ≥ 64 สำหรับพวกที่มี titer ≤ 4 ควรระวังไม่ให้ติดเชื้อในระหว่างตั้งครรภ์ เพราะจะทำให้เด็กในครรภ์ เกิด congenital Rubella ในบางประเทศจะ ให้ Human γ-globulin เข้าไปป้องกัน infection เสียตั้งแต่ระยะแรก ๆ ของการตั้งครรภ์ ส่วนพวกที่มีระดับ antibody สูงก็ป้องกันการติดเชื้อได้

เมื่อนำเอา serum ของพวกที่มี antibody titer ≥ 64 treat ด้วย 2-mercaptoeuanal ปรากฏว่า titer ไม่ลดลงแสดงว่า antibody เป็น Ig G เกิดจากได้รับ infection มาก่อน หรืออาจได้รับ natural booster เป็นแบบ mild infection ไม่ปรากฏอาการ

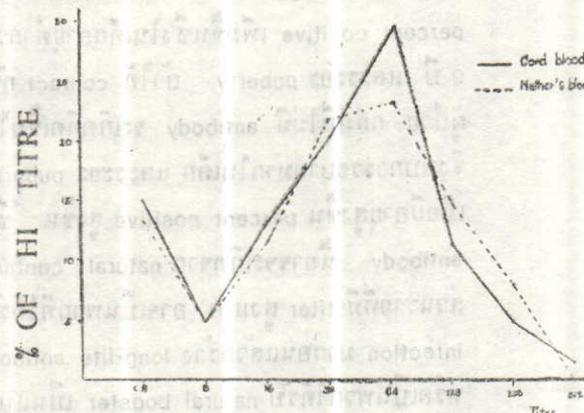
ในการศึกษาระดับ antibody ใน cord blood ของเด็กชาย หญิง (รูปที่ 4) พบว่าส่วนมาก 47.5% มี titer ≥ 64 มีส่วนน้อย 14.7%



รูปที่ 2 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ Rubella HI Antibody ของคนปกติในช่วงอายุต่าง ๆ



รูปที่ 3 แสดงถึง Percent Rubella HI Antibody Titer ใน Pregnancy



รูปที่ 4 แสดงถึง Percent Rubella HI Antibody Titer ใน Cord Blood

มี titer ≤ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ antibody ใน cord blood และของมารดาพบว่าไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 5) เมื่อเอา serum ไป treat ด้วย 2-mercaptoethanol titer ไม่ลดลงแสดงว่า antibody เป็น Ig G และเด็กได้รับจากมารดา และยังพบว่าระดับ antibody ที่พบใน cord blood จะสัมพันธ์กับของมารดาคือ

เอกสารอ้างอิง

- Horzinek, M. and Mussgay, M. Studies on the Nucleocapsid Structure of a Group of Arbovirus. *J. Virol.* 4:514, 1969.
- Desmond, M.M., Wilson, G.S., Melnick, J.L., Singer, D.B., Zion, T.E., Rudolph, A.J., Pineda, R.G., Ziai, M.H. and Blatner, R.J., Congenital Rubella Encephalitis: Course and Early Sequelae. *J. Pediat.* 71:311-331, 1967.
- Sever, J.I., Huebner, R.J., Cestellano, G.A., Sarma, P.S., Fabiyi, A., Schiff, G.M. and Csumano, C.L. Rubella Complement Fixation Test. *Science.* 148:385, 1965.
- Meyer, H.M.Jr., Parkman, P.D. and Hopps, H.E. The Clinical Application of Laboratory Diagnostic Procedures for Rubella and Measles (Rubella). *Am. J. Clin. Path.* 57:805-813, 1972.
- Plotkin, S.A., Bove, A. and Bove, J.G. The In-Vitro Growth of Rubella Virus in Human Embryo Cell. *Am. J. Epidemiol.* 81:71-85, 1965.
- Parkman, P.D., Buescher, E.L. and Artenstein, M.S. Recovery of Rubella Virus from Army Recruits. *Proc. Exper. Biol. Med.* 111:225, 1962.
- Weller, T.H. and Neva, F.A. Propagation in Tissue Culture of Cytopathic Agents from Patients with Rubella-like illness. *Proc. Exper. Biol. Med.* 111:215, 1962.
- Stewart, G.L., Parkman, P.D., Hoops, H.E., Douglas, R.D., Hamiltol, J.P. and Meyer, H.M. Rubella Virus Hemagglutination Inhibition Test. *New. Engl. J. Med.* 276:554, 1976.
- Lenette, E.H., Spaulding, E.H. and truant, J.P. Manual of Clinical Microbiology 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp. 716:722, 1974.

SUMMARY OF THE PRECEDING ARTICLE**STUIES OF RUBELLA ANTIBODY LEVEL IN HEALTHY PERSONS
PREGNANT WOMEN AND CORD BLOOD BY HEMAGGLUTINATION
INHIBITION TECHNIQUE**

Jiraporn Supavadee B.Sc. (Med. Tech.)
Supatra Peerakome B.Sc. (Med. Tech.) M.Sc. (Micro) D.M.
Atchara Loychun B.Sc. (Med. Tech.)
Kumpol Panas-ampol, M.D.

ABSTRACT

Rubella antibody levels in healthy persons, pregnant women (1-5 months of pregnancy) and in cord blood, were studied by using hemagglutination inhibition test. Of 268 cases of healthy persons, no significant difference of the antibody levels between males and females was found. Fifty to sixty six percent of children less than 9 years as antibody titer not more than

1:4 while 57.4% of 10-14 years old group had the titer up to 1:64 or more. For the total number of 300 pregnant women, 18.3% had antibody titer not more than 1:4 while 52.1% had the titer of 1:64 or more. In 61 serum samples from cord blood and mother's blood, no significant difference in antibody levels between the two groups was found.