ว กรมวิทย พ 2568; 67 (3): 403-416

การตรวจพบไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันสายพันธุ์วัคซีนจากตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2567

อัจฉริยา ลูกบัว กรรณิการ์ ขวัญชุม นราวรรณ ปั้นงาม เดือนเพ็ญ เชื้อผู้ดี ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์ ธนธรณ์ ฉันทวรกิจ ธนพนธ์ เปรมกมล ธัญชนก สุทธิบูลย์ เพียงใจ อามีนเจริญ และ พิไลลักษณ์ อัคคไพบูลย์ โอกาดะ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ วัคซีนรวมป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (Measles-Mumps-Rubella, MMR Vaccine) เป็นวัคซีนของเชื้อมีชีวิตที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ (Live Attenuated Vaccine) ถึงแม้ MMR Vaccine จะมีความปลอดภัย แต่อาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ เช่น ไข้สูง ปวดข้อ ผื่น หรือต่อมน้ำลายพาโรติดบวม นอกจากนี้ยังมีโอกาสเกิดการติดเชื้อจากสายพันธุ์ของวัคซีนเองได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ด้วยวิธี Sanger Sequencing จากสายพันธุ์ที่ตรวจพบในตัวอย่างเชื้อไวรัสจากผู้ป่วยระหว่างปี พ.ศ. 2560-2567 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก เพื่อเป็นการเฝ้าระวังสายพันธุ์นำเข้าและติดตามการกลายพันธุ์ รวมถึงเฝ้าระวังสายพันธุ์ของไวรัสที่นำมาเป็นวัคซีนในประเทศไทย ผลการศึกษาตัวอย่างไวรัสหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง ไวรัสคางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง และไวรัสหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ ตรวจพบสายพันธุ์วัคซีนในไวรัสหัด จำนวน 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.21) ไวรัสคางทูม จำนวน 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 14.29) และไวรัสหัดเยอรมัน จำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 8.33) ข้อมูลจากการศึกษานี้เป็นหลักฐานช่วยสนับสนุนโอกาสติดเชื้อที่มาจากวัคซีนและชี้ให้เห็นถึงการระบาดของสายพันธุ์ท้องถิ่นในประเทศ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเฝ้าระวังเพื่อควบคุมการระบาดของโรคและป้องกันผลข้างเคียงจากการได้รับวัคซีนในประชากร เป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการนำข้อมูลไปใช้สำหรับการวางแผนการให้วัคซีนของประเทศต่อไปเพื่อการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีน, ไวรัสคางทูมสายพันธุ์วัคซีน, ไวรัสหัดเยอรมันสายพันธุ์วัคซีน

Corresponding author E-mail: atchariya.l@dmsc.mail.go.th

Received: 18 March 2025 *Revised: 24 June 2025* *Accepted: 15 July 2025*

บทนำ

ประเทศไทยได้มีโครงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศ (Expanded Program on Immunization, EPI) เมื่อปี พ.ศ. 2520 โดยวัตถุประสงค์เพื่อลดการป่วยและการตายจากโรคพื้นฐานที่ป้องกันได้ด้วยวัคซีน ซึ่งเริ่มด้วยการให้วัคซีน 4 ชนิด คือ วัคซีนป้องกันวัณโรค (BCG) และวัคซีนคอตีบ ไอกรน และบาดทะยัก (DTP) และวัคซีนโปลิโอชนิดกินในเขตกรุงเทพมหานคร ปัจจุบันวัคซีนที่อยู่ในโครงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคที่จำเป็นต้องให้กับเด็กทุกคน ประกอบด้วย วัคซีน BCG วัคซีนป้องกันโรคตับอักเสบบี (HB) วัคซีนรวมป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยัก ไอกรน ตับอักเสบบีและฮิบ (DTP-HB-Hib1) วัคซีนป้องกันโรคโปลิโอชนิดฉีด (IPV) วัคซีนโรต้า (Rota) วัคซีนป้องกันโรคโปลิโอชนิดกิน (OPV) วัคซีนรวมป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (MMR) วัคซีนป้องกันโรคไข้สมองอักเสบเจอีชนิดเชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์ (LAJE) วัคซีนรวมป้องกันโรคคอตีบและบาดทะยัก (dT) และวัคซีนป้องกันโรคมะเร็งปากมดลูกจากการติดเชื้อเอชพีวี (HPV)[1]

โรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน เป็นโรคติดเชื้อที่สามารถป้องกันได้ด้วยวัคซีน ซึ่งวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (Measles, Mumps and Rubella: MMR vaccine) บรรจุอยู่ในโครงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 ซึ่งเป็นการให้วัคซีนแบบเข็มเดียวเมื่อเด็กอายุ 9–12 เดือน นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2529 ประเทศไทยได้เคยให้วัคซีนหัดเยอรมันเดี่ยว ๆ โดยให้ในเด็กหญิงก่อนและให้ทั้งในเด็กหญิงและเด็กชายในปี พ.ศ. 2536 ต่อมาในปี พ.ศ. 2539 ได้เปลี่ยนเป็นให้วัคซีนหัดแบบ 2 เข็ม โดยให้เข็มแรกในเด็กอายุ 9 เดือน และเข็มที่ 2 เมื่อเด็กเข้าเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 1 ที่อายุประมาณ 6–7 ปี ต่อมาในปี พ.ศ. 2540 ได้เปลี่ยนวัคซีนป้องกันโรคหัดสำหรับเด็กนักเรียนชั้นประถมปีที่ 1 เป็นวัคซีนรวม หัด คางทูม และหัดเยอรมัน (MMR) และในปี พ.ศ. 2553 ได้เปลี่ยนวัคซีนป้องกันโรคหัดสำหรับเด็กอายุ 9-12 เดือน เป็นวัคซีนรวม MMR ด้วย ต่อมาในปี พ.ศ. 2557 ได้เปลี่ยนการให้วัคซีน MMR เข็มที่ 2 ที่อายุ 6-7 ปี เป็นเด็กอายุ 2 ปี โดยมีการให้วัคซีนแบบเก็บตกในเด็กอายุ 2-7 ปี ในปี พ.ศ. 2558 เพื่อให้เด็กทุกช่วงอายุไม่พลาดในการได้รับวัคซีน ซึ่งเป็นโครงการในสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี ต่อมาในปี พ.ศ. 2563 ได้เปลี่ยนคำแนะนำในการให้วัคซีน MMR เข็มที่ 2 เมื่อเด็กอายุ 18 เดือน เพื่อลดช่วงเวลาระหว่างวัคซีน 2 เข็ม ทำให้เด็กที่ไม่ตอบสนองต่อเข็มแรกมีช่วงเวลาที่ไม่มีภูมิคุ้มกันสั้นลงก่อนที่จะได้รับวัคซีนเข็มที่สองเพื่อให้กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น ลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสหัดจนถึงปัจจุบันผู้ที่อายุน้อยกว่า 18 ปี ในประเทศไทยน่าจะได้รับวัคซีน MMR ครบทั้ง 2 เข็ม ตามแผนสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศ กระทรวงสาธารณสุข[2]

วัคซีน MMR ผสมรวมฉีดในครั้งเดียวนี้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นไม่ด้อยกว่าการฉีดวัคซีนแต่ละชนิด ทำให้สะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการ และลดความเจ็บปวดจากการฉีดวัคซีนหลายเข็ม ซึ่งวัคซีนนี้เป็นวัคซีนมีชีวิตชนิดอ่อนฤทธิ์ (Live-attenuated vaccine) ประกอบด้วย เชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ 1) เชื้อไวรัสหัดมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ ได้มาจากสายพันธุ์ Ender's Attenuated Edmonston หรือสายพันธุ์ Edmonston-Zagreb (EZ19) หรือ Schwarz 2) เชื้อไวรัสคางทูมมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ที่ใช้อยู่ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ Jeryl Lynn, Urabe-Am 9 และ Leningrad-Zagreb ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับบริษัทผู้ผลิต และ 3) เชื้อไวรัสหัดเยอรมันมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ได้จากสายพันธุ์ Wistar RA 27/3[2,3] เนื่องจากเป็นวัคซีนชนิดมีชีวิต ผู้รับวัคซีนบางรายจึงมีโอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์หลังการได้รับวัคซีน (Adverse Event Following Immunization, AEFI) เช่น มีไข้สูง 7–12 วันหลังได้รับวัคซีน ซึ่งพบได้ร้อยละ 5–15 ปวดข้อ บวม แดงบริเวณที่ฉีด มีผื่นขึ้น 7–10 วันหลังได้รับวัคซีน เฉลี่ยร้อยละ 5 และต่อมน้ำลายพาโรติดอักเสบ ปวด บวม[4] รวมทั้งอาจเกิดการติดเชื้อจากสายพันธุ์วัคซีนได้

เนื่องจากการติดตามการกลายพันธุ์มีความสำคัญและจำเป็นต้องเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากจะช่วยให้ทราบวิวัฒนาการของไวรัส ทราบอุบัติการณ์ แนวโน้มการระบาด การกลายพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ที่ต่างไปจากเดิม และช่วยให้หน่วยงานสาธารณสุขไทยสามารถปรับปรุงมาตรการควบคุมและป้องกันโรคให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถเตรียมความพร้อมและดำเนินมาตรการป้องกันได้ทันท่วงที ความเข้าใจเกี่ยวกับ

การกลายพันธุ์มีส่วนสำคัญในการพัฒนาวัคซีนและวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะหากพบว่าการกลายพันธุ์มีผลต่อความรุนแรงของโรคหรือการตอบสนองต่อการรักษา นอกจากนี้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างที่พบในประเทศไทยเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลจากประเทศอื่น ๆ ในฐานข้อมูลขององค์การอนามัยโลกจะช่วยให้เข้าใจบทบาทของประเทศไทยในการแพร่กระจายของไวรัสในระดับภูมิภาคและระดับโลก สามารถประเมินได้ว่าการติดเชื้อที่พบในประเทศไทยเป็นผลมาจากสายพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศหรือเกิดจากสายพันธุ์ท้องถิ่น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามการกลายพันธุ์และเฝ้าระวังสายพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ โดยวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน จากสายพันธุ์ที่ตรวจพบในตัวอย่างเชื้อไวรัสจากผู้ป่วยระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก (WHO) รวมถึงการเฝ้าระวังสายพันธุ์ของไวรัสที่นำมาเป็นวัคซีนที่ใช้ในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลสายพันธุ์ที่สามารถนำไปใช้สนับสนุนความสำเร็จของโครงการกำจัดโรคหัดและหัดเยอรมันของประเทศไทย ตามพันธะสัญญานานาชาติและของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตามเป้าหมายที่องค์การอนามัยโลกกำหนด นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ในการตรวจพบไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันสายพันธุ์วัคซีนจากตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ อาจส่งผลให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการบริหารจัดการการนำเข้าวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมันของประเทศ เพื่อประชาชนมีความปลอดภัยจากการรับวัคซีนและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างและเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นตัวอย่างส่งตรวจเพื่อหาสารพันธุกรรมไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในช่วงปี พ.ศ. 2560–2567 โดยมีจำนวนตัวอย่างส่งตรวจไวรัสหัด จำนวน 2,946 ตัวอย่าง คางทูม จำนวน 98 ตัวอย่าง และหัดเยอรมัน จำนวน 1,016 ตัวอย่าง ชนิดตัวอย่างส่งตรวจหัดและหัดเยอรมัน ได้แก่ throat swab หรือ nasal swab ซึ่งเก็บจากผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อที่มีอาการแสดงตามเกณฑ์ทางคลินิก คือ มีไข้มากกว่า 38 องศาเซลเซียส มีผื่นนูนแดง ร่วมกับอาการไอ และมีอาการอื่นอีกอย่างน้อยหนึ่งอาการ คือ มีน้ำมูก หรือเยื่อบุตาอักเสบ หรือตรวจพบ Koplik's spot 1–2 วันก่อนและหลังผื่นขึ้น โดยตัวอย่างถูกเก็บภายในระยะเวลาไม่เกิน 14 วันหลังพบผื่น สำหรับตัวอย่างส่งตรวจคางทูม คือ ตัวอย่าง buccal swab ที่เก็บจากบริเวณต่อมน้ำลายพาโรติดใต้กกหูหลังวันที่แสดงอาการบวมของต่อมน้ำลายดังกล่าว ตัวอย่างที่ให้ผล RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR เป็นบวก นำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อหาสายพันธุ์ด้วยเทคนิค Sanger Sequencing กรณีตัวอย่างที่ให้ผล RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR เป็นลบถูกคัดออกไม่นำมาศึกษาวิจัยในครั้งนี้

การสกัดสารพันธุกรรม และการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันด้วยวิธี Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

สกัดสารพันธุกรรมไวรัสจากตัวอย่าง throat swab, nasal swab หรือ buccal swab โดยใช้ตัวอย่างปริมาตร 140 ไมโครลิตร ใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany) ตามวิธีการของชุดน้ำยา โดยในการสกัดสารพันธุกรรมมี Nuclease-free water เป็นตัวอย่างควบคุมลบ (Negative extraction control) ในการสกัดทุกครั้ง เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมไวรัสหัดในส่วนยีน Nucleoprotein (N) ความยาว 634 นิวคลีโอไทด์ โดยมีตัวอย่างควบคุมบวก (Positive control) ซึ่งเป็น Control RNA สังเคราะห์ความยาว 854 นิวคลีโอไทด์[5] ไวรัสคางทูมเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในส่วนยีน Small Hydrophobic (SH) ความยาว 676 นิวคลีโอไทด์ และตัวอย่างควบคุมบวก (Positive control) ซึ่งเป็น Control RNA สังเคราะห์ ความยาว 476 นิวคลีโอไทด์[6] ส่วนไวรัสหัดเยอรมันเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมรอบแรกในส่วน Non-structural Protein ด้วยเทคนิค Real Time RT-PCR โดยใช้ Primers 1 คู่ และ Probe 1 เส้น และควบคุมคุณภาพวิธีทดสอบด้วยการเพิ่มปริมาณ

สารพันธุกรรมของ Housekeeping Gene (Human RNase P gene) ควบคู่ไปกับตัวอย่างทดสอบด้วย โดยใช้ Primers 1 คู่ และ Probe 1 เส้น[7] ตัวอย่างที่ให้ผล Real Time RT-PCR เป็นบวกจะนำไปวิเคราะห์หาสายพันธุ์ไวรัสหัดเยอรมันต่อไป ซึ่งการหาสายพันธุ์ไวรัสหัดเยอรมันจะใช้ยีนในส่วน Envelop Protein 1 (E1) ซึ่งใช้ Primers จำนวน 2 คู่ ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม 2 Fragments โดย Fragment 1 ขนาด 480 นิวคลีโอไทด์ Fragment 2 ขนาด 633 นิวคลีโอไทด์ โดยมีตัวอย่างควบคุมบวก (Positive control) ซึ่งเป็น Control RNA สังเคราะห์ สำหรับ Fragment 1 และ 2 ขนาดความยาว 400 และ 533 นิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ[8] โดยขนาดของตัวอย่างควบคุมผลบวกของแต่ละยีนของไวรัสแต่ละชนิดออกแบบให้มีขนาดความยาวแตกต่างจากขนาดจำเพาะของผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ซึ่งง่ายต่อการวิเคราะห์หากเกิดการปนเปื้อน ทั้งนี้ Primers, Probe และมาตรฐานวิธีการตรวจที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมไวรัสหัดและหัดเยอรมัน ได้รับสนับสนุนจากศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (US-CDC) ซึ่งรายละเอียดชุด Primers ที่ใช้ ดังแสดงในตารางที่ 1

เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา RT-PCR ตรวจสอบหาแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะของ PCR product โดยการทำ gel electrophoresis ผลผลิตพีซีอาร์ของตัวอย่างที่ให้ผลบวกจะถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยา QIAQuick Gel Extraction kit (QIAGEN, Germany) และวัดความเข้มข้นดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer (NanoDrop ND-1000, Thermo Scientific, USA) เก็บรวบรวมตัวอย่างผลผลิตพีซีอาร์ที่บริสุทธิ์เพื่อทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อหาสายพันธุ์ไวรัสต่อไป

ตารางที่ 1 Primers และ Probe ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ด้วยวิธี RT-PCR, Real Time RT-PCR และที่ใช้ในการทำ Sanger Sequencing

ไวรัส	Primer	ลำดับนิวคลีโอไทด์	ตำแหน่ง (5'→3')	ขนาด amplicon (bp)
หัด	Forward primer (MeV216)	5'-TGG AGC TAT GCC ATG GGA GT -3'	1104-1123	634
	Reverse primer (MeV214)	5'-TAA CAA TGA TGG AGG GTA GG- 3'	1718-1737	
คางทูม	Forward SH1	5'-AGT AGT GTC GAT GAT CTC AT -3'	6133-6152	676
	Reverse SH2	5'-GCT CAA GCC TTG ATC ATT GA-3'	6789-6808	
หัดเยอรมัน	Forward primer RuV98	5' GGC AGT TGG GTA AGA GAC CA 3'	98-117	154
	Reverse primer RuV251	5' CGT GGA GTG CTG GGT GAT 3'	234-251	
	Probe (RuVNSP)	5' FAM ACA TCG CGC ACT TCC CAC G BHQ 3'	141-159	19
	Forward Primer (HURNASE-P)	5' AGA TTT GGA CCT GCG AGC G 3'	28-46	65
	Reverse Primer (HURNASE-P)	5' GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT 3'	73-92	
	Probe (BHQ1 HURNASE-P)	5' FAM TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG BHQ1 3'	49-71	23
	Fragment 1 forward (8633)	5' AGC GAC GCG GCC TGC TGG GG 3'	8633-8652	480
	Fragment 1 Reverse (9112)	5' GCG CGC CTG AGA GCC TAT GAC 3'	9112-9092	
	Fragment 2 forward (8945)	5' TGG GCC TCC CCG GTT TG 3'	8945-8961	633
	Fragment 2 Reverse (9577)	5' CGC CCA GGT CTG CCG GGT CTC 3'	9557-9577	

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ด้วยวิธี Sanger Sequencing

นำตัวอย่าง PCR product ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มาวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Sanger Sequencing การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสหัดและคางทูมใช้ Forward primer และ Reverse primer คู่เดียวกับที่ใช้ในการทำ RT-PCR เป็น Sequencing primer ส่วนไวรัสหัดเยอรมันใช้ Primers คู่เดียวกันกับที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในส่วน E1 Fragment 1 และ Fragment 2 เป็น Sequencing primer โดยใช้ชุดน้ำยา BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied BioSystem, USA) ซึ่งเตรียมแยกเป็น 2 หลอด สำหรับ Forward primer และ Reverse primer ที่ความเข้มข้น 2 μM ใช้ DNA template ปริมาตร 5 μL ซึ่งมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 40–80 ng/μL โดยมีปริมาตรสุดท้าย 20 μL ทำการ purify ด้วยชุด DNA purification สำเร็จรูป (Agencourt CleanSEQ, USA) จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Sequencer Genetic Analyzer 3500 หรือ 3500XL (Applied BioSystem, USA) นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Sequencher version 5.4.6 (Gene Code Corporation, USA) และโปรแกรม RECall ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเครือข่ายหัดและหัดเยอรมันทั่วโลก[9] จากนั้นสร้าง Phylogenetic Tree โดยใช้โปรแกรม The 12th Version of the Molecular Evolutionary Genetics Analysis, MEGA12[10] เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก (WHO Reference Strains) เพื่อวิเคราะห์หาสายพันธุ์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน

การวิเคราะห์ Phylogenetic Tree ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ลำดับพันธุกรรมของไวรัสหัดจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทำ Sanger Sequencing ในส่วนของ Nucleoprotein (N) gene ความยาว 450 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสหัดสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก[11] ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้แบ่งสายพันธุ์ไวรัสหัดออกเป็น 24 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ A, B1-B3, C1-C2, D1-D11, E, F, G1-G3, และ H1–H2 โดยสายพันธุ์วัคซีน คือ สายพันธุ์ A[11] ใช้โปรแกรม MEGA12 สร้าง Phylogenetic Tree ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยเลือก Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ[10]

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ลำดับพันธุกรรมของไวรัสคางทูมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทำ Sanger Sequencing ในส่วนของยีน Small Hydrophobic (SH) ความยาว 150 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสคางทูมสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก[12] ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้จัดแบ่งสายพันธุ์ไวรัสคางทูมออกเป็น 12 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L และสายพันธุ์ N ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน[12] โดยใช้โปรแกรม MEGA12 สร้าง Phylogenetic Tree ด้วยวิธี Maximum Parsimony เลือก Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ[10]

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ลำดับพันธุกรรมของไวรัสหัดเยอรมันจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทำ Sanger Sequencing ในส่วนของยีน E1 ความยาว 739 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสหัดเยอรมันสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก[13] ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้แบ่งสายพันธุ์ไวรัสหัดเยอรมันออกเป็น 12 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, 2A, 2B, 2C และ Provisional Genotype คือ สายพันธุ์ 1a ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน[13] โดยใช้โปรแกรม MEGA12 สร้าง Phylogenetic Tree ด้วยวิธี Neighbor Joining เลือก Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ[10]

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

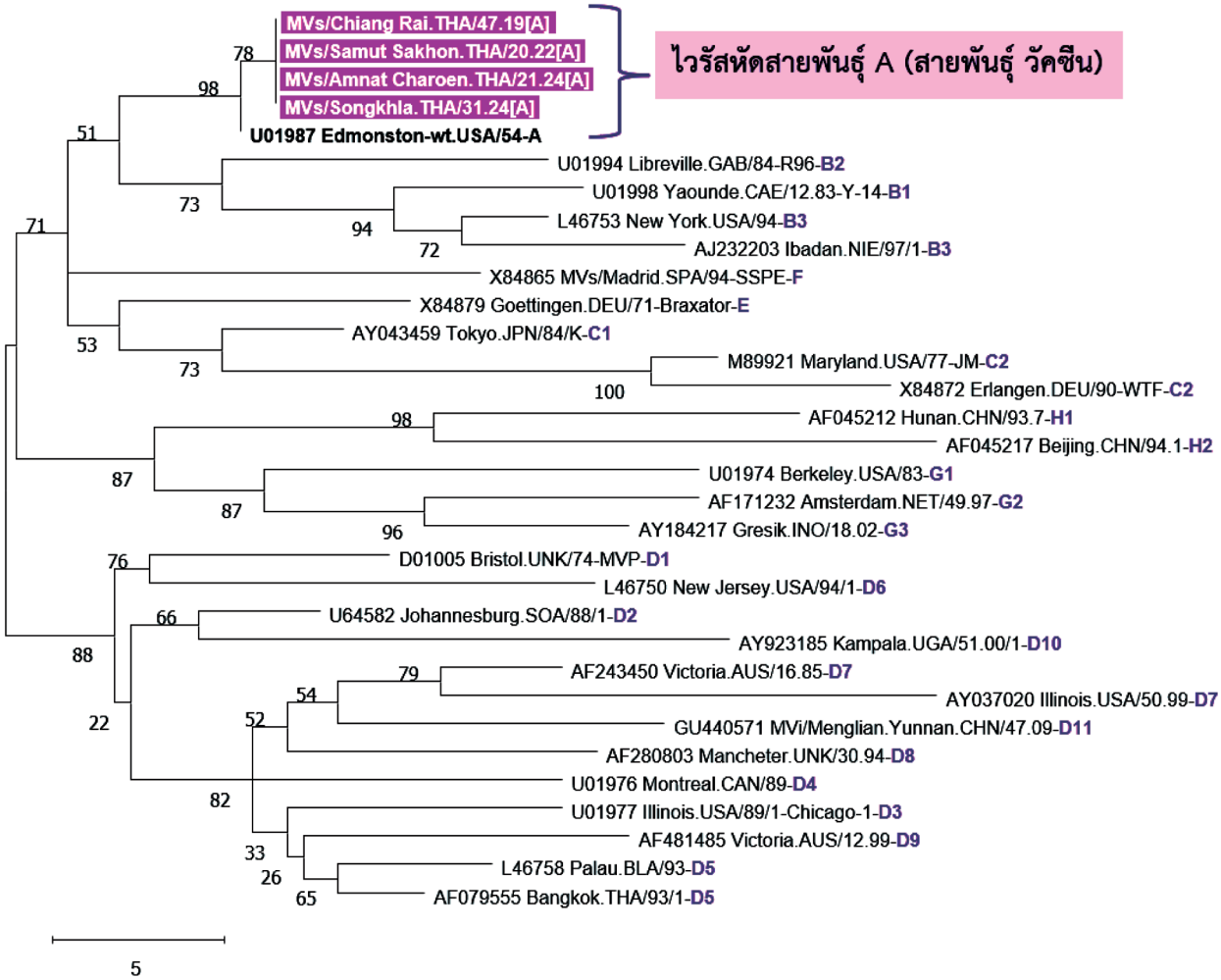
โครงการการศึกษานี้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมในคนจากคณะกรรมการพิจารณาการศึกษาวิจัยในคน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข รหัสโครงการวิจัย 6/2568 รหัสเอกสารรับรอง DMSc-EC043 วันที่ให้การรับรอง 15 มกราคม พ.ศ. 2568

ผล

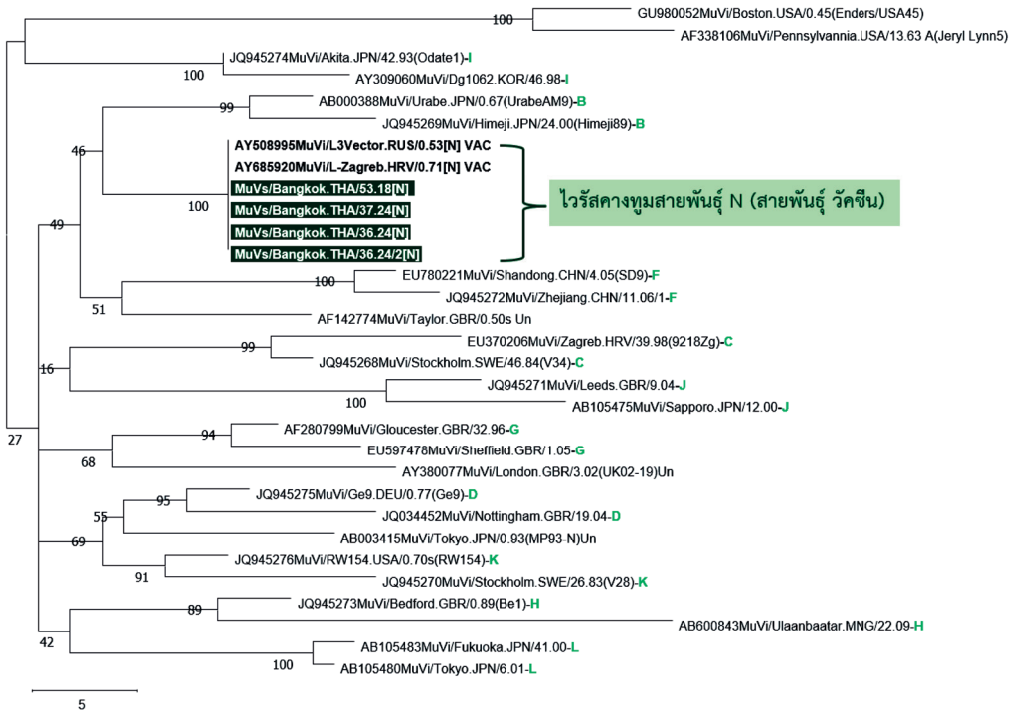
จากจำนวนตัวอย่างส่งตรวจหาสารพันธุกรรมไวรัสหัด จำนวน 1,930 ตัวอย่าง (ร้อยละ 65.51) คางทูม จำนวน 28 ตัวอย่าง (ร้อยละ 28.57) และหัดเยอรมัน จำนวน 14 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.38) ระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 พบตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกไวรัสหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก พบว่าเป็นสายพันธุ์ B3, D8 และ H1 จำนวน 192, 1,659 และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับ และสายพันธุ์ A ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.21 โดยเป็นตัวอย่างส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 จำนวน 1 ตัวอย่าง พ.ศ. 2565 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2567 จำนวน 2 ตัวอย่าง ไวรัสคางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลกพบเป็นสายพันธุ์ G และ K จำนวน 5 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ และสายพันธุ์ N ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.29 เป็นตัวอย่างส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2567 จำนวน 3 ตัวอย่าง ไวรัสหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับสายพันธุ์อ้างอิงพบเป็นสายพันธุ์ 2B และ 1E จำนวน 1 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ และสายพันธุ์ 1a ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8.33 เป็นตัวอย่างที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 ทั้งนี้ในจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ส่งตรวจระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 มีตัวอย่างที่ให้ผล RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR เป็นบวก แต่มีปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอไม่เพียงพอไม่สามารถวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ ประกอบด้วย ไวรัสหัด จำนวน 68 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.52) คางทูม จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 7.14) และหัดเยอรมัน จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 14.29) จำนวนและชนิดสายพันธุ์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันที่ตรวจพบระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 ดังแสดงในตารางที่ 2 และ Phylogenetic Tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลกที่ถูกจัดเป็นสายพันธุ์วัคซีน ดังแสดงในภาพที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างส่งตรวจ และจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบในแต่ละสายพันธุ์ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย ระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567

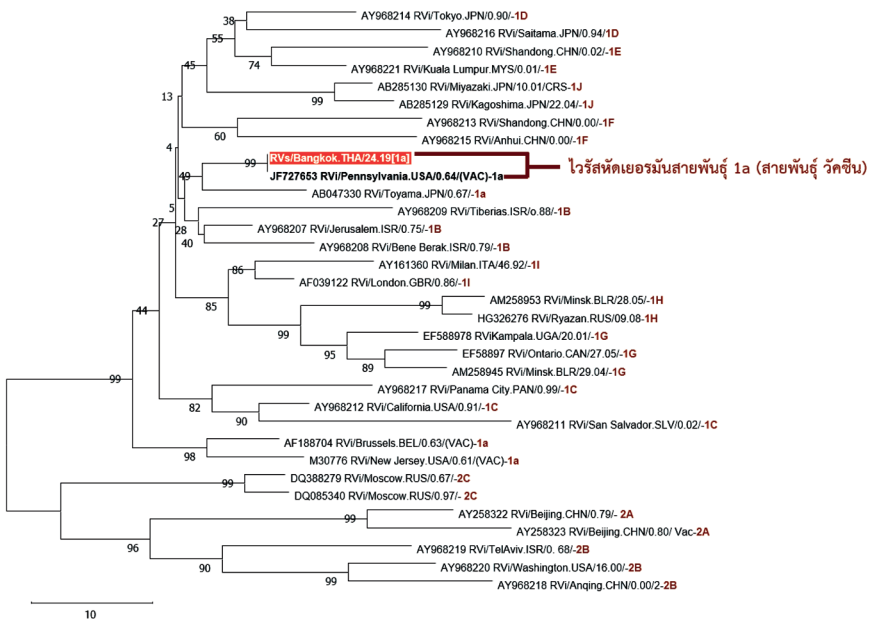
	ไวรัสหัด		ไวรัสคางทูม		ไวรัสหัดเยอรมัน	
	สายพันธุ์	จำนวน/ (ร้อยละ)	สายพันธุ์	จำนวน/ (ร้อยละ)	สายพันธุ์	จำนวน/ (ร้อยละ)
จำนวนตัวอย่างส่งตรวจ	-	2,946	-	98	-	1,016
- ผล RT-PCR Positive	-	1,930 (65.51)	-	28 (28.57)	-	14 (1.38)
- ผล RT-PCR Negative	-	1,016 (34.49)	-	70 (71.43)	-	1,002 (98.62)
สายพันธุ์ที่ตรวจพบ	A (วัคซีน)	4 (0.21)	N (วัคซีน)	4 (14.29)	1a (วัคซีน)	1 (7.14)
	B3	192 (9.95)	G	5 (17.86)	2B	1 (7.14)
	D8	1,659 (85.96)	K	17 (60.71)	1E	10 (71.43)
	H1	7 (0.36)				
ไม่สามารถหาสายพันธุ์ได้		68 (3.52)		2 (7.14)		2 (14.29)



ภาพที่ 1 Phylogenetic Tree ของไวรัสหัด สายพันธุ์ A (สายพันธุ์วัคซีน) ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 4 ราย (ในปี พ.ศ. 2562, 2565 และ 2567) ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยใช้ค่า Bootstraps ที่ 1,000 replications ตัวเลขบนแผนภาพแสดงค่าร้อยละความเชื่อมั่นของการใช้ Bootstraps โดยความยาวของแต่ละ Branches อยู่ในหน่วยของจำนวนการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งลำดับตามค่าสเกลบาร์แสดงสัดส่วนความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 2 Phylogenetic Tree ของไวรัสคางทูม สายพันธุ์ N (สายพันธุ์วัคซีน) ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 4 ราย (ในปี พ.ศ. 2561 และ 2567) ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยใช้ค่า Bootstraps ที่ 1,000 replications ตัวเลขบนแผนภาพแสดงค่าร้อยละความเชื่อมั่นของการใช้ Bootstraps โดยความยาวของแต่ละ Branches อยู่ในหน่วยของจำนวนการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งลำดับตามค่าสเกลบาร์แสดงสัดส่วนความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 3 Phylogenetic Tree ของไวรัสหัดเยอรมัน สายพันธุ์ 1a (สายพันธุ์วัคซีน) ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 1 ราย ในปี พ.ศ. 2562 ด้วยวิธี Neighbor Joining โดยใช้ค่า Bootstraps ที่ 1,000 replications ตัวเลขบนแผนภาพแสดงค่าร้อยละความเชื่อมั่นของการใช้ Bootstraps โดยความยาวของแต่ละ Branches อยู่ในหน่วยของจำนวนการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งลำดับตามค่าสเกลบาร์แสดงสัดส่วนความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง

วิจารณ์

ผลการศึกษาในตัวอย่างผู้ป่วยโรคหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง พบ 4 ราย (ร้อยละ 0.21) ที่เป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ A) โดยผู้ป่วยหัด 4 ราย ที่พบเป็นสายพันธุ์วัคซีน เมื่อพิจารณาจากประวัติการสอบสวนโรค พบว่ารายแรกเป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 เป็นเด็กชายอายุ 9 เดือน และได้รับวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (MMR vaccine) เข็มแรก ซึ่งตรงตามแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุข[1] มีอาการไข้และมีผื่นหลังจากได้รับวัคซีนแล้ว 7 วัน รายที่ 2 เป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2565 เป็นเด็กชายอายุ 10 เดือน มารับการรักษาที่โรงพยาบาลหลังจากที่มีไข้และมีผื่นแล้วสองวัน แต่ประวัติการรับวัคซีน MMR ไม่ชัดเจน จากข้อมูลในแบบสอบสวนโรคระบุประวัติการรับวัคซีน “ไม่ทราบ/ไม่แน่ใจ” อย่างไรก็ตามจากอายุผู้ป่วยซึ่งมีอายุ 10 เดือน มีอายุอยู่ในช่วงที่ควรได้รับวัคซีน MMR เข็มแรกตามแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุข ผู้ป่วยรายที่ 3 เป็นเด็กหญิงอายุ 1 ปี มารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการมีไข้และมีผื่น หลังได้รับวัคซีน MMR เข็มแรก 2 วัน ผู้ป่วยรายที่ 4 เป็นเด็กหญิงอายุ 10 เดือน เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการมีไข้ ผื่น ไอ มีน้ำมูก ตาแดง เยื่อบุตาอักเสบ ถ่ายเหลว และปอดอักเสบ โดยอาการดังกล่าวเกิดขึ้นหลังได้รับวัคซีน MMR เข็มแรก 18 วัน โดยผู้ป่วยรายที่ 3 และ 4 เป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2567 นอกจากตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค RT-PCR แล้ว เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลได้เก็บตัวอย่างซีรัมจากผู้ป่วยทั้ง 4 ราย เพื่อตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วย ซึ่งผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดให้ผลเป็นบวกในผู้ป่วยรายที่ 3 และ 4 ส่วนรายที่ 1 และ 2 ให้ผลเป็นลบ เนื่องจากเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสม ซึ่งเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างซีรัม คือ เก็บหลังจากที่ออกผื่นแล้ว 4 วัน แต่ไม่เกิน 30 วัน ทั้งนี้ผู้ป่วยทั้ง 4 ราย ให้ผลการตรวจแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดเยอรมันเป็นลบ

ในตัวอย่างผู้ป่วยโรคคางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง พบ 4 ราย (ร้อยละ 15.38) ที่ตรวจพบเป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ N) ได้แก่ ผู้ป่วยรายแรกเป็นตัวอย่างที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2561 เป็นเด็กชายอายุ 1 ปี มีประวัติรับวัคซีน MMR เข็มแรกเมื่ออายุ 1 ปี แต่ไม่ได้ระบุวันที่ได้รับวัคซีนชัดเจน เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการต่อมน้ำลายพาโรติดบวม ผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ให้ผลเป็นบวก ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี RT-PCR ผู้ป่วยรายที่ 2–4 เป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2567 โดยผู้ป่วยรายที่ 2 และ 3 เป็นหญิงอายุ 25 ปี และ 18 ปี ตามลำดับ และผู้ป่วยรายที่ 4 เป็นชายอายุ 20 ปี ผู้ป่วยทั้ง 3 รายมีอาการไข้ต่ำ ๆ ต่อมน้ำลายพาโรติดบวม และปวดบริเวณกรามหลังจากที่ได้รับวัคซีน MMR โดยผู้ป่วยรายที่ 2 และ 3 มีไข้และต่อมน้ำลายพาโรติดบวมภายหลังได้รับวัคซีน 18 และ 19 วัน ตามลำดับ ส่วนผู้ป่วยรายที่ 4 มีอาการไข้และต่อมน้ำลายพาโรติดบวมภายหลังได้รับวัคซีน 17 วัน ทั้งนี้ผู้ป่วยทั้ง 3 ราย เก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสคางทูมด้วย โดยผู้ป่วย 2 ใน 3 ราย ให้ผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสคางทูมเป็นบวก ในตัวอย่างผู้ป่วยโรคหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง พบ 1 ราย (8.33%) ที่เป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ 1a) เป็นตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 ผู้ป่วยเป็นเด็กชายอายุ 9 ปี 8 เดือน เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการมีไข้ และผื่น หลังได้รับวัคซีน MMR 11 วัน และผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดให้ผลเป็นบวก แต่ผลการตรวจหาสารพันธุกรรมไวรัสหัดด้วยเทคนิค RT-PCR ให้ผลเป็นลบ จึงไม่สามารถวิเคราะห์หาสายพันธุ์ไวรัสหัดได้ ทั้งนี้ตัวอย่างดังกล่าวไม่มีข้อมูลผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดเยอรมัน

ในการศึกษาครั้งนี้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นการวิเคราะห์เพียงบางส่วนของยีนเป้าหมายด้วยเทคนิค Sanger Sequencing ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกไม่ซับซ้อน ห้องปฏิบัติการทั่วไปสามารถดำเนินการได้ รวมถึงโปรแกรมการวิเคราะห์ MEGA ซึ่งเป็นโปรแกรมที่สามารถนำมาใช้ได้โดยไม่มีค่าใช้จ่ายและไม่จำเป็นต้องใช้ระบบคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูงช่วยในการวิเคราะห์ผลส่วนการวิเคราะห์ Phylogenetic Tree เพื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน กับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก ยึดหลักปฏิบัติ

ตามมาตรฐานวิธีปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจหัด คางทูม หัดเยอรมันขององค์การอนามัยโลกทุกแห่ง อย่างไรก็ตาม ความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์เป้าหมายของยีน SH ของไวรัสคางทูมซึ่งมีความยาวเพียง 150 นิวคลีโอไทด์ อาจมีข้อมูลไม่เพียงพอสำหรับการจำแนกสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกันมาก การเลือกใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความยาวมากกว่านี้อาจเพิ่มความแม่นยำมากขึ้น วิธีการสร้าง Phylogenetic Tree ของไวรัสหัดและคางทูมใช้วิธี Maximum Parsimony สำหรับไวรัสหัดเยอรมันใช้วิธี Neighbor Joining ตามมาตรฐานวิธีปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก[12,14] อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งต่อไปอาจพิจารณาใช้ Maximum Likelihood หรือ Bayesian Inference ซึ่งเป็นวิธีที่มีความละเอียดสูงและนิยมใช้ในงานวิเคราะห์ Phylogenetics Tree ในปัจจุบัน[15,16]

ผลจากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Churchill L และคณะ ที่ได้รายงานการติดเชื้อไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีนในหญิงที่มีสุขภาพดีวัย 40 ปี ในประเทศอาร์เมเนียภายหลังการได้รับวัคซีนรวมหัด คางทูม หัดเยอรมัน[17] นอกจากนี้ Bitnun A และคณะได้รายงานการติดเชื้อไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีนในเด็กชายที่มีสุขภาพดี อายุ 21 เดือน[18] ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกาได้รายงานผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการปอดอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสหัดหลังได้รับวัคซีน[19] นอกจากนี้ Hagan JE และคณะได้รายงานพบการติดเชื้อไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีนในผู้ที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน (Breakthrough Measles) ในประเทศมองโกเลีย[20] Bakker W และ Mathia R ได้รายงานการติดเชื้อไวรัสคางทูมสายพันธุ์วัคซีนในกลุ่มนักเรียนที่สาธารณรัฐซูรินาม ทวีปอเมริกาใต้ (Western Suriname) ภายหลังได้รับวัคซีนรวมหัด คางทูม หัดเยอรมัน[21] และมีรายงานในประเทศไทยโดย Gilliland SM และคณะ ได้รายงานเหตุการณ์การติดเชื้อไวรัสคางทูมสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ L-Zagreb) ในกลุ่มนักเรียนพยาบาล[22] รวมถึง Paz M และคณะได้รายงานการติดเชื้อไวรัสหัดเยอรมันสายพันธุ์วัคซีนสายพันธุ์ RA 27/3 ในหญิงวัย 40 ปี ที่เม็กซิโก โดยมีอาการไข้และมีผื่นขึ้นภายใน 14 วันหลังจากได้รับวัคซีนรวมหัดและหัดเยอรมัน[23]

องค์การอนามัยโลกมีเกณฑ์ในการจำแนกผู้ป่วยหัดและหัดเยอรมันหลังจากได้รับวัคซีน MMR กรณีที่ไม่สามารถหาสายพันธุ์ได้ แนะนำให้จำแนกจากผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดและหัดเยอรมันดังนี้ คือ ผู้ป่วยมีผื่นขึ้นหลังจากได้รับวัคซีน MMR ในช่วง 8-56 วันหลังรับวัคซีน เก็บตัวอย่างซีรัมส่งตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM โดยมีการสอบสวนโรคแล้วไม่พบผู้ป่วยรายที่สองตามมาและแพทย์ผู้รักษาไม่ได้สงสัยสาเหตุการติดเชื้อจากไวรัสชนิดอื่น[24] การศึกษาครั้งนี้สามารถวิเคราะห์หาสายพันธุ์ของไวรัสได้ทั้งไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน พบเป็นสายพันธุ์วัคซีนและบางรายสามารถตรวจพบ IgM จำเพาะร่วมด้วย ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าเป็นการติดเชื้อภายหลังจากได้รับวัคซีน MMR อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัด คือ เป็นการศึกษาเพียงยีนเดียวของแต่ละไวรัส ทำให้ได้ข้อมูลไม่ครบทั้งจีโนม ดังนั้นเพื่อให้การเฝ้าระวังติดตามการกลายพันธุ์ของไวรัส และเฝ้าระวังสายพันธุ์นำเข้าได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ควรทำการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสทั้งจีโนม (Whole Genome Sequencing) นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดด้านการเก็บข้อมูล เช่น ประวัติการได้รับวัคซีนที่ไม่สมบูรณ์ในผู้ป่วยบางราย ไม่มีการวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงเพิ่มเติม เช่น สถานะภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย และกรณีผู้ป่วยที่มีข้อมูลประวัติการได้รับวัคซีน แต่ไม่มีข้อมูลรายละเอียด ยี่ห้อ บริษัทผู้ผลิต และรุ่นการผลิตของวัคซีนที่ได้รับ ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในกรณีที่ต้องเรียกคืนวัคซีนในรุ่นการผลิตที่เกิดปัญหา ผลจากการศึกษาครั้งนี้มีประโยชน์ต่อการบริหารจัดการวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมันของประเทศ ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้ช่วยยืนยันการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับวัคซีน ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับการวางแผนการให้วัคซีนของประเทศในอนาคตต่อไป

สรุป

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน จากตัวอย่างผู้ป่วยที่ส่งตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR ระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 พบผลเป็นบวกของไวรัสหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง คางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง และหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง ผลการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์สายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก พบว่าไวรัสหัดมี 4 ตัวอย่าง (0.21%) ที่เป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ A) นอกนั้นพบเป็นสายพันธุ์ท้องถิ่นที่พบแพร่กระจายในประเทศ ได้แก่ B3, D8 และ H1 ไวรัสคางทูมมี 4 ตัวอย่าง (14.29%) ที่ตรวจพบเป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ N) ส่วนสายพันธุ์ท้องถิ่นที่ตรวจพบ ได้แก่ สายพันธุ์ G และ K ส่วนไวรัสหัดเยอรมันมี 1 ตัวอย่าง (8.33%) ที่ตรวจพบเป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ 1a) ส่วนสายพันธุ์ท้องถิ่นที่ตรวจพบ ได้แก่ สายพันธุ์ 2B และ 1E ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นถึงการแพร่ระบาดของสายพันธุ์ท้องถิ่นในประเทศและการติดเชื้อจากวัคซีนในบางราย ซึ่งมีความสำคัญต่อการเฝ้าระวังและการวางแผนการให้วัคซีนในอนาคต เพื่อควบคุมการระบาดของโรคและป้องกันผลข้างเคียงจากการได้รับวัคซีนในประชากร อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้จำนวนตัวอย่างไวรัสคางทูมและหัดเยอรมันมีจำนวนน้อย ข้อเสนอแนะในอนาคตควรประสานความร่วมมือกับทุกเขตสุขภาพให้เก็บตัวอย่าง buccal swab และ throat swab เพื่อตรวจยืนยันและหาสายพันธุ์ไวรัสจากผู้ป่วยสงสัยทุกราย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ องค์การอนามัยโลก และศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาครั้งนี้ ขอบคุณนางสาวพัชชา อินคำสืบ ที่ช่วยสรุปและวิเคราะห์ข้อมูลสายพันธุ์ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ขอบคุณเจ้าหน้าที่กองระบาด กลุ่มโรคป้องกันด้วยวัคซีน กองโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค ที่สนับสนุนข้อมูลประวัติผู้ป่วย และขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจหัดและหัดเยอรมัน ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยประสานงานในพื้นที่ในการเก็บและส่งต่อตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข. กำหนดการให้วัคซีนตามแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุข ปี 2567. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 13 ก.พ. 2568]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://ddc.moph.go.th/uploads/publish/1510320231225092421.pdf.
2. ราชวิทยาลัยกุมารแพทย์แห่งประเทศไทย, สมาคมโรคติดเชื้อในเด็กแห่งประเทศไทย, กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางเวชปฏิบัติโรคหัด หัดเยอรมัน และหัดเยอรมันแต่กำเนิด ฉบับปรับปรุง เรื่องการเฝ้าระวังโรค ปี พ.ศ. 2565. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 15 ก.พ. 2568]; [84 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://www.ddc.moph.go.th/uploads/publish/1353820221130065311.pdf.
3. สถาบันวัคซีนแห่งชาติ. MMR Vaccine สถานการณ์การใช้วัคซีนรวม หัด คางทูม หัดเยอรมัน. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 15 ก.พ. 2568]; [10 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://vims.nvi.go.th/VIMSFile/Factsheet/MMR2.pdf.
4. สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ตำราวัคซีนและการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค ปี 2556. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 15 ก.พ. 2568]; [314 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://ddc.moph.go.th/uploads/publish/2941201912090240 47.pdf.
5. Mulders MN. Annex C1 measles genotyping RT-PCR (CDC). [online]. 2020; [cited 2025 Feb 15]; [6 screens]. Available from: URL: https://www.technet-21.org/en/resources/guidance/annex-c01-measles-genotyping-rt-pcr-cdc.
6. พัชชา อินคำสืบ, อัจฉริยา ลูกบัว, อธิวัฒน์ ปริมสิริคุณาวุฒิ, ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์, เพียงใจ อามีนเจริญ, จารุวรรณ ใจอ้าย, และคณะ. การพัฒนาวิธีตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างส่งตรวจด้วยวิธี Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). ว กรมวิทย พ 2557; 56(1): 20–8.

7. Mulders MN. Annex B12.2 real-time RT-PCR assays for the detection of rubella virus RNA and human RNase P mRNA using the ABI 7500 real-time thermocycler. [online]. 2021; [cited 2025 Feb 15]; [14 screens]. Available from: URL: https://www.technet-21.org/en/resources/guidance/annex-b12-2-real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-rubella-virus-rna-and-human-rnase-p-mrna-using-the-abi-7500-real-time-thermocycler.
8. Mulders MN. CDC protocols for the molecular epidemiology of measles virus and rubella virus; version of 03/06/2012. Annex C2 rubella genotyping RT-PCR 2-fragment, Qiagen (CDC). [online]. 2020; [cited 2025 Feb 15]; [6 screens]. Available from: URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/vpd_surveillance/lab_networks/measles_rubella/manual/updated-annexes-(as-on-2-aug-2021)/annex-c2-rubella-genotyping-rt-pcr_qiagen.docx.
9. Mulders MN. Using the RECall program for on-line sequence analysis of measles and rubella. [online]. 2020; [cited 2025 Feb 15]; [6 screens]. Available from: URL: https://www.technet-21.org/media/com_resources/trl/7641/multi_upload/UsingtheRECallprogram_V6.pdf.
10. MEGA Software. The 12th version of the molecular evolutionary genetics analysis, MEGA12. Constructing Phylogenetic tree MEGA12. [online]. 2024; [cited 2025 Feb 15]; [21 screens]. Available from: URL: https://www.megasoftware.net/web_help.
11. World Health Organization. Measles virus nomenclature update: 2012. Wkly Epidemiol Rec 2012; 87(9): 73-80.
12. World Health Organization. Mumps virus nomenclature update: 2012. Wkly Epidemiol Rec 2012; 87(22): 217-24.
13. World Health Organization. Rubella virus nomenclature update: 2013. Wkly Epidemiol Rec 2013; 88(32): 337-43.
14. Mulders MN. Annex C09. Phylogenetic analysis (MEGA v7 or X) of measles and rubella sequences assembled using GeneStudio. [online]. 2020; [cited 2025 Jun 24]; [5 screens]. Available from: URL: https://www.technet-21.org/en/resources/guidance/annex-c09-phylogenetic-analysis-mega-v7-or-x-of-measles-and-rubella-sequences-assembled-using-genestudio.
15. Kaye M, Chibo D, Birch C. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood phylogenetic approaches in two legal cases involving accusations of transmission of HIV. AIDS Res Hum Retroviruses 2009; 25(8): 741-8.
16. Ahmed AOM, Al-Kutubi HS, Ibrahim NA. Comparison of the Bayesian and maximum likelihood estimation for Weibull distribution. J Math Stat 2010; 6(2): 100-4.
17. Churchill L, Rizzuti FA, Fonseca K, Kim J. Vaccine-associated measles in a healthy 40-year-old woman. CMAJ 2018; 190(35): E1046-8.
18. Bitnun A, Shannon P, Durward A, Rota PA, Bellini WJ, Graham C, et al. Measles inclusion-body encephalitis caused by the vaccine strain of measles virus. Clin Infect Dis 1999; 29(4): 855-61.
19. Centers for Disease Control and Prevention. Measles pneumonitis following measles-mumps-rubella vaccination of a patient with HIV infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1996; 45(28): 603-6.
20. Hagan JE, Crooke SN, Gunregjav N, Sowers SB, Mercader S, Hickman CJ, et al. Breakthrough measles among vaccinated adults born during the post-soviet transition period in Mongolia. Vaccines 2024; 12(6): 695. (12 pages).

21. Bakker W, Mathias R. Mumps caused by an inadequately attenuated measles, mumps and rubella Vaccine. Can J Infect Dis 2001; 12(3): 144-8.
22. Gilliland SM, Jenkins A, Parker L, Somdach N, Pattamadilok S, Incomserb P, et al. Vaccine-related mumps infections in Thailand and the identification of a novel mutation in the mumps fusion protein. Biologicals 2013; 41(2): 84-7.
23. Paz M, Padilla M, Perez E, Sauceda J, Camacho A. Vaccine-associated rubella caused by the RA 27/3 strain. Vaccines 2022; 11(1): 65. (5 pages).
24. World Health Organization. Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Chapter 4 Antibody detection methods for laboratory confirmation of measles, rubella, and CRS. [online]. 2018; [cited 2025 Feb 15]; [15 screens]. Available from: URL: https://www.who.int/publications/m/item/chapter-4-manual-for-the-laboratory-based-surveillance-of-measles-rubella-and-congenital-rubella-syndrome.

Detection of Vaccine-Derived Measles, Mumps, and Rubella Viruses Found in Patient Specimens in Thailand, 2017–2024

Atchariya Lukebua, Kannikar Kwanchum, Narawan Punngram, Duanpen Chuapudee, Prasopchai Aramrungroj, Tanatorn Chantavorakit, Thanapol Preamkamol, Thanchanok Suttibul, Phiengjai Armeencharoen, and Pilailuk Akkapaiboon Okada

National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT The Measles-Mumps-Rubella (MMR) vaccine is a live attenuated vaccine. Although the MMR vaccine is generally safe, it may cause adverse effects such as high fever, joint pain, rash, or parotid gland swelling. In rare cases, infection may occur due to the vaccine strain itself. This study aimed to analyze the genetic sequences of measles, mumps, and rubella viruses using the Sanger sequencing method from viral isolates collected from patients during 2017 and 2024. The obtained sequences were compared with the World Health Organization (WHO) reference strains to monitor the presence of imported strains, mutations, and vaccine-derived virus strains in Thailand. The results showed that among 1,862 measles, 26 mumps, and 12 rubella virus samples, the vaccine strains were detected in 4 measles virus samples (0.21%), 4 mumps virus samples (14.29%), and 1 rubella virus sample (8.33%). These findings provided evidence supporting the possibility of vaccine-derived infections and indicated the circulation of local strains within the country. This information is essential for viral surveillance to control disease outbreaks and prevent adverse events related to the vaccination. The data from this study will be useful for public health authorities in developing future national immunization strategy planning to enhance disease control effectiveness.

Keywords: MMR vaccine-derived Measles virus, MMR vaccine-derived Mumps virus, MMR vaccine-derived Rubella virus