

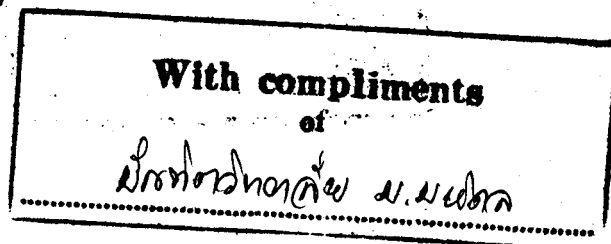
21 JUL 1999



A STUDY ON VIRUSES, CHLAMYDIA TRACHOMATIS, AND MYCOPLASMA PNEUMONIAE  
IN PEDIATRIC CASES ADMITTED WITH LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTION  
AT SIRIRAJ HOSPITAL

KANCHANA RAKSAKAIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(MICROBIOLOGY)



IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1991

TH  
K16A  
1991  
C.2

310528

ชื่อวิทยานิพนธ์ การติดเชื้อไวรัส, แคลมิเดีย ทราโคมาติส, และมัยโคพลาสมา นิวโมเนียอี ในผู้ป่วยที่รับตัวไว้รักษาในโรงพยาบาลศิริราช ด้วยโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง

ผู้วิจัย กาญจนา รักษาเกียรติ

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬารัตนาวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

พิไลพันธ์ พุชวัฒน์ , ปร.ด. (จุฬารัตนาวิทยา)

จันทพงษ์ วะลี , พ.บ.

อุไรวรรณ โฆสิตานนท์ , วท.ม. (จุฬารัตนาวิทยา)

วันที่สำเร็จการศึกษา 22 พฤษภาคม พ.ศ. 2534

### บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจส่วนล่างชนิดเฉียบพลัน เป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปีทั่วโลก จุลชีพที่เป็นเชื้อต้นเหตุของโรคมียังได้หลายชนิด และจากลักษณะอาการทางคลินิกที่พบ ไม่สามารถบอกถึงเชื้อต้นเหตุได้ การศึกษาเชื้อต้นเหตุจำเป็นต้องอาศัยการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ข้อมูลจากหลายแหล่งบ่งชี้ว่า ไวรัสเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจของเด็กเล็ก ส่วนการติดเชื้อแบคทีเรียพบได้น้อย การวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปฏิบัติการของเชื้อไวรัส และ เชื้อมัยโคพลาสมา นิวโมเนียอี ในผู้ป่วยเด็กอายุระหว่าง 1 เดือน ถึง 12 ปี และศึกษาปฏิบัติการของการติดเชื้อแคลมิเดีย ทราโคมาติส ในผู้ป่วยปอดบวมที่มีอายุไม่เกิน 6 เดือน ผู้ป่วยเหล่านี้ถูกรับตัวไว้รักษาในหอผู้ป่วยเด็ก (ตึกข้าวไทย อุทิศ) ของโรงพยาบาลศิริราช ด้วยโรคระบบทางเดินหายใจส่วนล่างชนิดเฉียบพลัน ในช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2532 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2533 นอกจากนี้ยังได้ศึกษาปฏิบัติการ การติดเชื้อแต่ละชนิดในแต่ละเพศ กลุ่มอายุ และฤดูกาลต่างๆของปี

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย 1) การย้อมหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสในเซลล์ที่ดูดจาก นาโสภาพารังซ์ของผู้ป่วย ด้วยวิธีอิมมูโนเรืองแสง แอนติบอดีที่ใช้ใน

การทดสอบมี 6 ชนิด คือ แอนติบอดี จำเพาะต่อ ไวรัสอะดีโน, ไวรัสไข้หวัดใหญ่ เอ และ บี ไวรัสปาราอินฟลูเอนซ่าทัยป์ 1 และ 3 และ ไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียล 2) การเพาะเลี้ยงแยกเชื้อไวรัส ทำในเซลล์เพาะเลี้ยง HEP-2, MDCK, และ LLC-MK2 และ 3) การวินิจฉัยโดยการตรวจหา ระดับแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย โดยวิธีตรงคอมพลีเมนต์ เพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัส อะดีโน, ไวรัสปาราอินฟลูเอนซ่า ทัยป์ 1 และ 3 และเชื้อไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียล และใช้วิธียับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง เพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ เอ และ บี ส่วนการวินิจฉัยการติดเชื้อมีโคพลาสมา นิวโมเนียอี ทำโดยการตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมผู้ โดยวิธีตรงคอมพลีเมนต์ และวิธีการเกาะกลุ่มของอนุภาควันที่เคลือบด้วยแอนติเจนของเชื้อมีโคพลาสมา นิวโมเนียอี (passive gelatin particle agglutination) สำหรับการวินิจฉัยการติดเชื้อแคลมิเดีย ทราโคมาติส ใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแยกเชื้อในเซลล์ McCoy

การศึกษาครั้งนี้มีจำนวนผู้ป่วยทั้งสิ้น 138 ราย ในจำนวนนี้เป็นผู้ป่วยอายุต่ำกว่า 2 ปีถึง 119 ราย (86.2%) จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ สามารถวินิจฉัยสาเหตุได้ในผู้ป่วยจำนวน 87 ราย (63.0%) โดยผู้ป่วย 82 ราย (59.4%) ติดเชื้อไวรัส และพบการติดเชื้อมากกว่า 1 ชนิดในผู้ป่วย 8 ราย (5.8%) เชื้อไวรัสที่พบมากที่สุดได้แก่ ไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียล (34.8%) ไวรัสอะดีโน (7.9%) ไวรัสปาราอินฟลูเอนซ่า ทัยป์ 1 (7.2%) ไวรัสปาราอินฟลูเอนซ่า ทัยป์ 3 (3.6%) และ ไวรัสอินฟลูเอนซ่า เอ (2.2%) จากการศึกษากลุ่มย่อย (subgroup) ของ ไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียล โดยการย่อยเซลล์ที่คัดจากนาโสะฟาริงซ์ และ/หรือ เซลล์เพาะเลี้ยงที่ติดเชื้อไวรัสที่แยกได้จากผู้ป่วย ด้วยวิธีอิมมูโน เรืองแสงโดยใช้ monoclonal antibodies 3 ชนิด คือ 92-11C, 102 10B, และ 131-2A พบว่า เชื้อที่จัดอยู่ในกลุ่ม เอ มีมากกว่าในกลุ่ม บี ในอัตราส่วน 4.5:1

อุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียล มีมากที่สุดในเด็กอายุระหว่าง 6 เดือน ถึง 1 ปี และพบในเด็กชายมากกว่าเด็กหญิง แต่ไม่มีความสำคัญทางสถิติ

สำหรับฤดูกาลระบาดของ เชื้อไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียลจะพบในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงธันวาคม พ.ศ. 2532 ซึ่งเป็นฤดูฝนจนถึงต้นฤดูหนาว โดยมีอุบัติการณ์สูงสุดในเดือน สิงหาคม และ ไวรัสปาราอินฟลูเอนซ่า ทัยป์ 1 และ 3 พบได้ในช่วงเดือน มกราคม ถึง พฤษภาคม โดยมีอุบัติการณ์สูงสุดในเดือน พฤษภาคม และ กุมภาพันธ์ สำหรับไวรัสอะดีโนนั้น สามารถตรวจพบการติดเชื้อได้ตลอดปี โดยไม่มีช่วงการระบาดที่เห็นเด่นชัด ส่วนไวรัสตัวอื่นๆ ไม่สามารถบอกฤดูกาลได้เนื่องจากอัตราการศึกษาพบเชื้อมีน้อย

จากจำนวนผู้ป่วย 138 รายนี้ มีผู้ป่วยจำนวน 84 ราย (60.9%) ที่สามารถเจาะเลือด 2 ครั้ง เก็บซีรัมคู่ได้ และในจำนวนนี้ มีซีรัมเพียง 1 (1.2%) เท่านั้น ที่แสดงการติดเชื้อ มัยโคพลาสมา นิวโมเนียอี

สำหรับผู้ป่วยปอดบวม ที่มีอายุไม่เกิน 6 เดือน มีจำนวนทั้งสิ้น 31 ราย มี 23 รายที่ส่งตัวอย่างตรวจหา การติดเชื้อแคลมิเดีย ทราโคมาติส และ ผู้ป่วย 5 ราย (21.7%) ให้ผลบวกโดยที่ทุกรายมีอายุไม่เกิน 3 เดือน

ในแง่ของวิธีวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสทางห้องปฏิบัติการนั้น พบว่าวิธีอิมมูโนเรืองแสงใช้ได้ผลดีสำหรับการวินิจฉัย เชื้อไวรัสเรสไพราตอรี ซินซียเตียล สำหรับวิธีแยกเชื้อ แม้ขั้นตอนการวินิจฉัยจะยุ่งยาก และราคาแพง แต่ก็ให้ผลดีในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสอะดิโน, ไวรัสพาราอินฟลูเอนซ่า และ เชื้อไวรัสอื่นๆ ที่ไม่สามารถวินิจฉัยได้ด้วยวิธีอิมมูโนเรืองแสง หรือวิธีการตรวจหา แอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย เนื่องจากไม่มีแอนติเจน และ แอนติบอดีจำเพาะสำหรับใช้ในการทดสอบ

ในการศึกษารั้งนี้ พบว่า เชื้อไวรัสเป็นต้นเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง ในเด็กเล็กที่รับไว้รักษาในโรงพยาบาลศิริราช สำหรับเชื้อ มัยโคพลาสมา นิวโมเนียอี พบได้น้อยมาก และพบว่าเชื้อแคลมิเดีย ทราโคมาติส เป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งของโรคปอดบวมในเด็กเล็ก โดยเฉพาะเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 3 เดือน

โดยสรุปแล้ว ความรู้ที่ได้จากการศึกษารั้งนี้ จะเป็นข้อมูลทางระบาดวิทยาที่ทำให้ทราบถึงความสำคัญของเชื้อไวรัสและสามารถนำไปใช้ประกอบการวางแผนควบคุมโรค เช่นการพิจารณาถึงความจำเป็นของวัคซีนไวรัสที่จะนำมาใช้ในอนาคต และการพัฒนาวัคซีน โดยเฉพาะ วัคซีนเรสไพราตอรี ซินซียเตียล ซึ่งควรจะประกอบด้วยเชื้อทั้งสอง subgroup และสำหรับข้อมูลทางด้าน การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสในห้องปฏิบัติการ พบว่าการตรวจหาระดับแอนติบอดีในซีรัมเป็นวิธีที่สามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป แต่เนื่องจากวิธีที่ใช้ในงานนี้ยังมีความไวน้อย จึงควรที่จะพัฒนาวิธีการทดสอบให้มีความไวเพิ่มขึ้นกว่านี้ต่อไป

Thesis Title    A Study on Viruses, *Chlamydia trachomatis* and  
*Mycoplasma pneumoniae* in Pediatric Cases Admitted with  
Lower Respiratory Tract Infection at Siriraj Hospital

Name            Kanchana Raksakait

Degree          Master of Science (Microbiology)

Thesis Supervisor committee

Pilaipan        Puthavathana , Ph.D. (Microbiology)

Chantapong    Wasi , M.D.

Uraiwat        Kositanont , M.Sc. (Microbiology)

Date of Graduation    22 May B.E. 2534 (1991)

#### ABSTRACT

Acute lower respiratory tract infection (ALRI) is the important cause of death in children under 5 years of age worldwide. ALRI can be caused by many infectious agents, and each of these agents can elicit various clinical symptoms which cannot distinguish them apart. Many reports show that viruses are the major cause of respiratory infection in children, while bacteria participate in a smaller proportion. This study planned to investigate role of viruses and *Mycoplasma pneumoniae* in all pediatric cases aged between 1 month and 12 years who were admitted to Siriraj Hospital with community acquired lower respiratory tract infection during the period of June 1989 to May 1990. Incidence of the infection by age, sex and season were also determined. In addition, incidence of *C. trachomatis* was determined, but only limited to pneumonic cases aged under 6 months. Laboratory investigations of virus infections were performed by 1) immunofluorescence test (IF) of nasopharyngeal aspirate using

polyclonal specific antisera to adenovirus, influenza A and B, parainfluenza 1 and 3 and respiratory syncytial virus (RSV); 2) isolation of virus in HEp-2, MDCK, and LLC-MK2 cell cultures and 3) serodiagnosis of adenovirus, parainfluenza virus type 1 and 3, and RSV by complement fixation test (CF), and of influenza A and B by hemagglutination inhibition test (HI). Laboratory investigation for *M. pneumoniae* infection was based solely on serodiagnosis by CF and passive particle-agglutination tests, and that of *C. trachomatis* was based on isolation of the bacteria in McCoy cell culture.

A total of 138 children was included in this study, of which 119 cases (86.2%) are under 2 years of age. Etiologic agents could be diagnosed in 87 cases (63.0%). Eighty-two cases (59.4%) were positive for viral infection, of which 8 (5.8%) of them had mixed infection with 2 agents. RSV was the most common virus found (34.8%), followed by adenoviruses (7.9%), parainfluenza type 1 (7.2%), parainfluenza type 3 (3.6%), and influenza A (2.2%). RSV subgroup A was more common than subgroup B with subgroup A to subgroup B ratio of 4.5:1.

Of all study cases, only 84 paired sera were available. One case (1.2%) was positive for *M. pneumoniae* infection. This result showed that *M. pneumoniae* was less important than viruses in ALRI in children. Of 31 pneumonic cases aged under 6 months, 23 cases were investigated for *C. trachomatis* infection, and 5 (21.7%) of them were positive. All of the positive cases were less than three months old which correlate to incubation period of *Chlamydial* infection acquired via intrapartum infection.

The present study also demonstrated that there was no significant difference in incidence of RSV infection by sex (M:F ratio of 1.7:1). Incidence of RSV infection was highest in patients 6-12 months old. Data from other viral infection was not obtained which was

according that few number of the infected cases were obtained.

Concerning seasonal incidence, it is found that RSV is prevalent during June to December (rainy season), and parainfluenza viruses were prevalent during January to May (cool season to middle summer) , while adenovirus infection was found throughout the year. For other viruses, seasonal pattern is not seen because of the low incidence rate.

The three laboratory methods used for diagnoses of viral infections were evaluated. IF was good to diagnose RSV infection, while isolation method was good for parainfluenza type 1 and adenovirus. Serological methods, was good for diagnosis of influenza A and parainfluenza type 3 infections, but not sensitive enough for other viral infections.

This study clearly demonstrates the important role of viruses in children hospitalized with ALRI, and *C. trachomatis* in young infants with symptoms of pneumonia, but role of *M. pneumoniae* was negligible in this age-group. Unfortunately, role of bacteria in ALRI has not been determined in our study.

In conclusion, this study has emphasized on important role of viruses in young children. Information obtained will be beneficial to strategy for controlling the infection. As the most important agent of ALRI, RSV should be extensively investigated, either in term of immunity to the infection, relationship between subgroup and disease severity and also in vaccine development.

Regarding laboratory methodology, serodiagnostic test should be further developed for its higher sensitivity.