

การถ่ายทอดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อบาดทะยักในสตรีมีครรภ์
Maternofoetal Transmission of Tetanus Antitoxin

โดย

อุปมา ๕
สุมภ ๕
วไลยภรณ์ ๕
สุนา ๕
นิกร ๕
เฉลยงสว่างวงศ์
ฉิมพงศ์านุรักษ์
วจนะวิศิษฐ์
ร่มนุทวีป
ตุลิตสิน

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ และภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2531

จท
วพ 15
005194

รายงานการวิจัย



เรื่อง

การถ่ายทอดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อบาดทะยักในสตรีมีครรภ์
Maternofoetal Transmission of Tetanus Antitoxin

โดย

อุปมา	เสียงสว่างวงศ์
สมภพ	ฉมพศจำนรักษ์
วลัยภรณ์	วจนะวิศิษฐ์
สุนา	รับนุทวีป
นิกร	ตลิตสิน

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ และภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2531



รายงานการวิจัย

ชื่อโครงการ การถ่ายทอดภูมิคุ้มกันต่อ เชื้อบาดทะยักในสตรีมีครรภ์
Maternofoetal Transmission of Tetanus Antitoxin

ทุนอุดหนุนการวิจัย เงินทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินปี 2528

หน่วยงานร่วมวิจัย ฝ่ายเวชศาสตร์ประชากร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*
ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

ผู้ร่วมวิจัย
อุปมา เลียงสว่างวงศ์*
สมภพ ฉิมพงศ์านุรักษ์**
วัลย์ภรณ์ วจนะวิศิษฐ์**
สุนณา ช่มพู่ทวีป *
นิกร ตูสดีตสิน**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้เจือเพื่อ tetanus toxoid, standard antitoxin ตลอดจนให้คำแนะนำต่าง ๆ แขนงสูติ-นรีเวช โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้ให้สถานที่ในการเก็บตัวอย่าง-ข้อมูลและให้ทำการวิจัย เจ้าหน้าที่ห้องตรวจครรภ์ ห้องคลอดที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเจาะเก็บตัวอย่าง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยชีววิทยาการเจริญพันธุ์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในตามห้องปฏิบัติการและความร่วมมือทั่วไป แขนงศัลยกรรม สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ได้ให้ความร่วมมือในการเตรียมและพิมพ์รายงานฉบับนี้ และที่สุดขอขอบคุณสถาบันวิจัย-วิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ให้การสนับสนุน และให้เงินอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดินแก่โครงการนี้



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



บทคัดย่อ

ได้ศึกษาถึงภาวะภูมิคุ้มกัน โรคต่อเชื้อบาดทะยักในสตรีตั้งครรภ์ที่ได้รับเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับท็อกซอยด์ พบว่าในสตรีตั้งครรภ์ที่ได้รับท็อกซอยด์ ตรวจพบปริมาณภูมิคุ้มกัน ได้โดยเฉลี่ย 0.045 iu/ml , 0.077 iu/ml และ 0.126 iu/ml ในช่วงก่อนได้รับท็อกซอยด์ หลังได้รับท็อกซอยด์เข็มแรก และเข็มที่สองตามลำดับ ทารกที่เกิดจากสตรีกลุ่มดังกล่าวมีภูมิคุ้มกันทุกราย ตรวจพบได้ปริมาณ โดยเฉลี่ย 0.063 iu/ml ซึ่งสูงกว่าระดับป้องกันโรคได้ ส่วนสตรีตั้งครรภ์ที่ไม่ได้รับท็อกซอยด์ ตรวจพบปริมาณภูมิคุ้มกัน ได้โดยเฉลี่ย 0.059 iu/ml ถ่ายทอดภูมิคุ้มกันแก่ทารกได้เพียง 1 ใน 4 ของจำนวนทารกทั้งหมด ในปริมาณโดยเฉลี่ย 0.08 iu/ml ซึ่งสูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน สตรีทั้งที่ได้รับหรือไม่ได้รับท็อกซอยด์ถ่ายทอดภูมิคุ้มกันให้แก่ทารกได้ประมาณร้อยละ 60 ของปริมาณภูมิคุ้มกันตามมารดา โดยมารดาที่มีปริมาณภูมิคุ้มกันต่ำสุดที่ 0.072 iu/ml จึงจะถ่ายทอดภูมิคุ้มกันโรคแก่ทารกได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Abstract

A study on tetanus antitoxin level in pregnant women between a two-tetanus toxoid immunized group and an intact group has been carried out. Results obtained demonstrated that immunized mothers, with an average of 0.045 iu/ml, 0.077 iu/ml and 0.126 iu/ml antitoxin level in sera collected before, after the first and the second injection respectively; transmit antitoxin to all their infants at an average of 0.063 iu/ml which is above a protective level. While unimmunized mothers, with an average of 0.069 iu/ml antitoxin units detected; transmit the upper protective antitoxin level with an average of 0.08 iu/ml to only one-fourth of their newborns. Mothers of both groups can transmit, to their young; antitoxin of an approximately 60% of the maternal level. The transmission takes place only in mothers with antitoxin level of at least 0.072 iu/ml.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์และวิธีการ	2
ผลการทดลอง	5
สรุปและวิจารณ์	11
เอกสารอ้างอิง	15
ภาคผนวก	17

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขหมู่	คท
เลขทะเบียน	005194
วัน,เดือน,ปี	11 ต.ค. 32



บทนำ

ขาดหายไปในทารกแรกเกิด (Tetanus neonatorum) ยังเป็นสาเหตุนำในการเสียชีวิตของทารกทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา พบว่าประมาณ 1 ใน 3 ของสาเหตุการเสียชีวิตในทารกเกิดจากโรคขาดหาย (Bytchenko, 1966; Miller, 1972) องค์การอนามัยโลกจึงได้มีการผลิตวัคซีนการฉีดท็อกซอยด์ป้องกันโรคขาดหาย (Tetanus toxoid) แก่สตรีมีครรภ์ เพื่อให้ภูมิต้านทานที่สร้างขึ้นถ่ายทอดผ่านเข้าสู่ทารกให้ทารกหลังคลอดปลอดจากการติดเชื้อได้

การฉีดท็อกซอยด์แก่มารดา เพื่อให้ได้ผลการคุ้มกันโรคในทารกแรกเกิดนั้นได้มีการวิจัยกันอย่างกว้างขวาง Suri et al. (1964) พบว่าถ้าฉีดท็อกซอยด์แก่มารดาในระหว่างมีครรภ์ ร้อยละ 88 ของทารกแรกเกิดจะมีภูมิต้านทานโรคสูงถึง หรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค Rao and Raman (1980) ศึกษาต่อมาพบว่า ถ้าฉีดท็อกซอยด์ 2 เข็ม แก่มารดาในระยะไตรมาสที่ 3 ของการตั้งครรภ์ จะตรวจพบภูมิต้านทานระดับสูงทั้งในมารดาและทารกแรกเกิดได้ Black et al. (1980) ได้ทดลองฉีดท็อกซอยด์ 1 เข็ม แก่สตรีที่ไม่ได้ตั้งครรภ์ พบว่าสามารถลดอัตราการเสียชีวิตลงได้ 1 ใน 3 ของทารกทั้งหมด ในช่วง 9-32 เดือน ภายหลังมารดาได้รับท็อกซอยด์ และ Rahman et al. (1982) ได้ทำการทดลองทำนองเดียวกันพบว่า ถ้าให้มารดาได้รับท็อกซอยด์ 2 เข็ม ในระยะเวลา 48-64 เดือนก่อนคลอด เปรียบเทียบกับมารดาที่ไม่ได้รับ พบว่าอัตราการเสียชีวิตในทารกเป็น 63.8 และ 78.3 ต่อทารกรอดชีวิต 1,000 คน ตามลำดับ แต่ถ้าให้มารดาได้รับท็อกซอยด์ 1 เข็ม ในระหว่างมีครรภ์ จะพบอัตราการเสียชีวิตในทารกเป็น 42.8 คิดเป็นอัตราการเสียชีวิตของทารกลดลง 35.5 ต่อทารกรอดชีวิต 1,000 คน

ประเทศไทยซึ่งขาดหายก็ยังเป็นปัญหาทางสาธารณสุข โดยเฉพาะขาดหายในทารกแรกเกิดยังมีอุบัติการณ์สูงมาก กระทรวงสาธารณสุขจึงได้กำหนดให้มารดาได้รับท็อกซอยด์ 2 เข็ม ในระหว่างมีครรภ์ เพื่อให้ภูมิต้านทานที่มารดาสร้างขึ้น ถ่ายทอดผ่านเข้าสู่ทารกให้ทารกหลังคลอดมีภูมิต้านทานโรค อย่างไรก็ตาม ภูมิต้านทานอื่นเกิดจากท็อกซอยด์ที่มารดาได้รับดังกล่าว สามารถถ่ายทอดผ่านเข้าสู่ทารกได้หรือไม่ ถ้าได้ ได้มากน้อยเพียงใด และภูมิต้านทานที่ภูมิต้านทานสามารถคุ้มกันทารกแรกเกิดจากการติดเชื้อได้หรือไม่ อย่างไร ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด และเป็นจุดมุ่งหมายของการวิจัยนี้

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

ทำการคัดเลือกสัตว์อาสาสมัครจำนวน 20 ราย จากคนไข้ที่มารับบริการที่
แผนกสูติ-นรีเวช โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยมีคุณสมบัติดังนี้

1. ไม่เคยได้รับการฉีดเซโร หรือ ได้รับการฉีดท็อกซอยด์
2. มีอายุระหว่าง 25-35 ปี
3. มีสุขภาพและผลานามัยสมบูรณ์
4. อยู่ในระหว่างตั้งครรภ์สัปดาห์ที่ 22-24

วิธีการ

1. การชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันตามต่อเชื้อบาดทะยัก

ให้อาสาสมัคร 10 รายแรกเป็นกลุ่มทดลอง ให้ได้รับการฉีดท็อกซอยด์
(Tetanol^R, Behringwerke, West Germany) ปริมาณ 0.5 มล. ทางใต้ผิวหนัง
(subcutaneous injection) ในช่วงตั้งครรภ์สัปดาห์ที่ 22-24 โดยก่อนการฉีด ทำ
การเจาะเก็บตัวอย่างเลือดควบคุม (self-control serum) ปริมาณ 5 มล. ไว้ จากนั้น
4 สัปดาห์ เจาะเก็บตัวอย่างเลือดที่ 2 (primary-immune serum) และฉีดท็อกซอยด์
ให้เข็มที่ 2 เมื่ออาสาสมัครมาคลอด เก็บตัวอย่างเลือดที่ 3 (secondary-immune
serum) พร้อมตัวอย่างเลือดของทารก (cord serum) ประมาณ 10 มล. ทางสาย
สะดือหลังคลอด

อาสาสมัครที่เหลือ 10 ราย เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับการฉีดท็อกซอยด์ ตัว
อย่างเลือด หงจากมารดาและทารก เจาะเก็บเฉพาะในช่วงที่คลอด ในปริมาณและ
วิธีการเดียวกับกับกลุ่มทดลอง

ตัวอย่างเลือดทั้งหมดที่ ได้ ดังที่ให้ข้างต้น แล้วปั่นแยกเอา serum ใส
หลอดทดลองเก็บใส่ตู้แช่แข็ง (-20°C) สำหรับใช้ทดสอบต่อไป

2. การเตรียมสารเพื่อการทดสอบ

2.1 การเตรียม Antigen

antigen ที่ใช้ คือ tetanus toxoid ที่เกาะติดอยู่กับเม็ดเลือดแดง

แก่ (SRBC)

2.1.1 การเตรียม SRBC suspension

นำ SRBC ซึ่งแขวนลอยใน Alsevier's solution มาปั่นแยกเอาเฉพาะเม็ดเลือดด้วย refridgerated centrifuge เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างเม็ดเลือดด้วย normal saline solution (NSS) แล้วเตรียม SRBC ใหม่ความเข้มข้น 10% ด้วย 0.15 M phosphate-buffered saline (PBS) pH 7.2 fix SRBC ด้วย 2.5% glutaraldehyde ที่ลดยุท และคนไปตายโดยใช้ magnetic stirrer ดังที่ไว้ในอุณหภูมิตั้ง 1 ชั่วโมง ล้าง fixative ออก แล้วเตรียมใหม่เป็น 10% SRBC suspension ด้วย PBS pH 7.2

2.1.2 การเตรียม Toxoid ที่เกาะติดกับ SRBC (T-SRBC)

นำ 0.5 มล. 10% SRBC ที่ fix แล้วผสมกับ 45 มล. 0.1 M acetate buffer pH 4 และ 0.5 มล. tetanus toxoid (Lot no. 250, 2,100 Lf/ml, องค์การเภสัชกรรม) ซึ่งได้ทดสอบหาอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมไว้แล้วเข้าด้วยกัน นำอุณหภูมิที่ 37°C และคนไปตายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้าง SRBC ด้วย NSS 3 ครั้ง เตรียมให้เป็น 0.5% T-SRBC ด้วย serum diluent (1% normal rabbit serum ใน PBS)

อัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของ tetanus toxoid คืออัตราส่วนความเข้มข้นต่ำสุดที่เมื่อทดสอบปฏิกิริยากับ standard antitoxin แล้วให้ผล titre สูงสุด ในการทดลองห่อตราส่วนของ tetanus toxoid ที่ใช้คือ 1:256

2.2 การเตรียม Antibody

serum ที่เจาะเก็บจากอาสาสมัคร นำมา inactivate เพื่อทำลาย complement ที่ 56°C water bath เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเติม packed SRBC 2-3 หยด เขย่า ดังที่ในอุณหภูมิตั้ง 30 นาที เพื่อจัด haemagglutinating factor ที่ไม่เจาะเพาะออกไป แล้วปั่นแยกเอา SRBC ออก จะได้ serum ที่พร้อมที่จะใช้ทดสอบต่อไป

2.3 การเตรียม Standard antitoxin

นำ standard antitoxin (Berna, batch no. 84230, 1,500 iu/ml) มาทำเจือจางใหม่ความเข้มข้นเป็น 1:1,000 ด้วย PBS pH 7.2 ได้ปริมาณความเข้มข้นเป็น 1.5 iu/ml.

3. การตรวจหาปริมาณภูมิคุ้มกัน

ตัวอย่าง serum ที่ผ่านการ inactivate และ adsorp ด้วย SRBC แล้ว นำทดสอบหาระดับ antibody ต่อเชื้อบาดทะยัก (antitoxin titre) โดยวิธี passive haemagglutination test (PHA)

การทดลองใช้ microtitre plate ที่มีหลอดเป็นรูปทรงกลม ใช้ SD เป็น medium ในการทำ half-serial dilution ของ serum จากหลอดทดลองและหลอดควบคุม จากนั้นเติม T-SRBC ดังทั้งในหลอดของ 24 ชม. แล้วอ่านผล

ในการตรวจหา antitoxin titre โดยการทดสอบปฏิกิริยา standard antitoxin กับ TRBC serum กับ normal SRBC และ SD กับ T-SRBC ควรคู่ไปด้วย เพื่อให้เป็น positive และ negative control ตามลำดับ

ผลการทดลองอ่านได้จาก titre ของการเกิดปฏิกิริยา โดยมีปฏิกิริยาการทดสอบระหว่าง standard antitoxin และ tetanus toxoid เป็นตัวเปรียบเทียบ และค่า antitoxin titre ที่ได้ นำมาคำนวณเป็นปริมาณ antitoxin unit (A.U.) ใน serum ได้ โดยอาศัยหลักการที่ว่า titre สูงสุดของ serum ที่เกิดปฏิกิริยาให้มีปริมาณ antitoxin unit เท่ากันกับปฏิกิริยาที่ titre สูงสุดของ standard antitoxin

ในการทดลอง ทำการทดสอบปฏิกิริยา ดังนี้ :

Antibody	Antigen	Remark
Standard antitoxin	T-SRBC	Positive control
Serum	T-SRBC	Unknown
Serum	Normal SRBC (N-SRBC)	Negative control
Serum diluent	T-SRBC	Negative control

ปริมาณต่ำสุดของ antitoxin ต่อเชื้อบาดทะยักที่มีผลในการป้องกันโรคคือ 0.01 iu/ml ซึ่งถือเป็นระดับป้องกันโรคมาตรฐาน

ในการทดลองนี้ เพื่อให้การเก็บข้อมูลการวิจัยเป็นไปอย่างต่อเนื่อง และเพื่อให้ได้จำนวนประชากรตัวอย่างของการทดลองครบถ้วน จึงได้คัดเลือกอาสาสมัครไว้เกินจำนวนโดยกลุ่มทดลองคัดเลือกไว้ 15 ราย และกลุ่มควบคุม 12 ราย



ผล

การทดสอบปฏิกิริยาด้วย PHA ที่ผลิตขึ้น

	Antigen	Antibody	Antitoxin titre
Positive control	T-SRBC	Standard Antitoxin	1:512
Unknown	T-SRBC	Serum	See Table 1&3
Negative control	N-SRBC	Serum	0
Negative control	T-SRBC	Serum diluent	0

standard antitoxin ให้ antitoxin titre 1:512 ในการเกิดปฏิกิริยากับ T-SRBC คิดเป็นปริมาณ antitoxin unit 0.003 iu/ml ปฏิกิริยาการทดสอบระหว่าง serum จากอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มกับ T-SRBC แสดงในตารางที่ 1 และ 3 ส่วนปฏิกิริยาการทดสอบระหว่าง N-SRBC กับ serum และ T-SRBC กับ SD พบว่า ไม่เกิดปฏิกิริยาในการทดสอบแต่อย่างใด

การเก็บ Serum อาสาสมัครกลุ่มทดลองเก็บทั้งสิ้น 15 ราย พบว่า เจาะเก็บได้ครบถ้วนเพียง 9 ราย อีก 6 ราย ไม่ได้มาให้เก็บตัวอย่างตามขั้นตอนการทดลอง โดย 2 รายแรก ได้รับทอกซอยด์ไป 1 เข็ม อีก 3 ราย ได้รับไปครบ 2 เข็ม แต่ไม่ได้มาคลอดบุตรที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และรายสุดท้าย ได้ติดตามการทดลองมาตลอด แต่มีข้อขัดข้องในช่วงที่มาคลอด ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดไว้ได้

การทดสอบปฏิกิริยาระหว่าง serum อาสาสมัครในกลุ่มทดลองกับ tetanus toxoid พบทุกรายมีระดับ antitoxin ต่อเชื้อขนาดหยก สูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค (0.01 iu/ml) ไม่ว่า serum ที่นำมาทดสอบเป็น self-control primary-immune หรือ secondary-immune serum (ตารางที่ 1) เมื่อได้รับทอกซอยด์เข็มแรก อาสาสมัครส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70) มี antitoxin เพิ่มขึ้น และครึ่งได้รับทอกซอยด์เข็มที่ 2 อาสาสมัคร (ประมาณร้อยละ 70) ยังมีปริมาณ antitoxin สูงขึ้น (ตารางที่ 1) ตัวอย่างเลือดทารก เมื่อนำมาทดสอบปฏิกิริยาพบว่า ทุกรายมีระดับ antitoxin สูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม antitoxin

ตั้งกล่าวของทารกพบว่าเกือบทุกราย (ประมาณร้อยละ 90) ต่ำกว่าระดับที่ตรวจพบใน secondary-immune serum ของมารดา ซึ่งเก็บในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน เว้นเพียง 1 ราย ที่มีระดับเดียวกันกับมารดา นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับ antitoxin ของทารกกับ self-control serum ของมารดา พบว่าประมาณร้อยละ 60 มีระดับสูงกว่า และมีระดับเท่ากันหรือต่ำกว่าพบประมาณร้อยละ 20 เท่ากัน

ในการหาค่าเฉลี่ยปริมาณภูมิต้านทานที่ตรวจพบ ทั้งจากตัวอย่างเลือดมารดาซึ่งเจาะเก็บในช่วงเวลาต่าง ๆ กันและจากทารก ไม่ได้รวมค่าปริมาณภูมิต้านทานจากมารดา และทารกของอาสาสมัครที่ 5 เข้าเพื่อการเฉลี่ยด้วย เนื่องจากปริมาณภูมิต้านทานดังกล่าวมีค่าแตกต่างจากกลุ่มมาก จนไม่สามารถนำเข้ามารวมกลุ่มเพื่อการเฉลี่ยได้ คงการเฉลี่ยเฉพาะอาสาสมัครที่ตรวจพบปริมาณภูมิต้านทานที่ใกล้เคียงกันที่เฉลี่ยในกลุ่มเท่านั้น (ตารางที่ 1)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Table 1 Tetanus antitoxin levels in maternal sera collected at various time intervals compare to newborn sera collected at delivery of a tetanus toxoid-immunized group.

Subject number	Maternal serum titre (iu/ml)			Cord serum titre (iu/ml)	Percentage of maternal antitoxin transmitted
	Self-control serum	1 ^{xy} immune serum	2 ^{xy} immune serum		
1	0.096	0.096	0.096	0.048	50.0
2	0.048	0.048	0.072	0.048	66.7
3	0.048	0.144	0.288	0.072	25.0
4	0.096	0.096	0.096	0.036	37.5
5*	0.288	0.768	2.304	0.288	12.5
6	0.036	0.096	0.096	0.096	100.0
7	0.018	0.072	0.144	0.096	66.7
8	0.018	0.072	0.144	0.072	50.0
9	0.009	0.018	0.072	0.036	50.0
10	0.036	0.048	- **	- **	- **
	$\bar{X}=0.045$	$\bar{X}=0.077$	$\bar{X}=0.126$	$\bar{X}=0.063$	$\bar{X}=55.7$

* Not included in the mean value

** Uncollected serum sample

Table 2 Distribution of tetanus antitoxin units in maternal and cord sera following a tetanus toxiod immunization.

Antitoxin unit (iu/ml)	No. of sera with antitoxin level of:			
	Self-control serum	1 ^{ry} immune serum	2 ^{ry} immune serum	Cord serum
< 0.01	1	0	0	0
0.01-0.09	6	5	2	5
0.1 -0.9	3	5	6	4
1.0 -9.0	0	0	1	0
Total	10	10	9	9

การเจาะเก็บ serum อาสาสมัครกลุ่มควบคุมได้ทำการคัดเลือกไว้ 12 ราย
เจาะเก็บได้ครบถ้วนทั้งหมด

การทดสอบปฏิกิริยาของ serum อาสาสมัครกลุ่มควบคุมต่อเชื้อบาดทะยักพบว่า
ตัวอย่างเลือดมารดาส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70) มีระดับ antitoxin สูงถึงหรือสูง
กว่าระดับป้องกันโรค (ตารางที่ 3) เว้นแต่ 1 รายที่ตรวจไม่พบ ตัวอย่างเลือดทารกส่วนใหญ่
(ประมาณร้อยละ 70) ตรวจไม่พบปริมาณ antitoxin ที่พบเพียง 3 ราย ซึ่ง
ทุกรายมี antitoxin สูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบระดับ antitoxin
ที่ตรวจพบใน serum มารดา และ cord serum ทารก พบว่าในมารดาเกือบทุกรายสูง
กว่าในทารก เว้นแต่ 1 ราย ที่มีระดับเท่ากัน และอีก 1 ราย ตรวจไม่พบปริมาณ
antitoxin ทั้งในมารดาและทารก

การทดลอง ได้กำหนดให้ การฉีดเข็มที่ 1 และ 2 มีช่วงห่างกัน 4 สัปดาห์ แต่ในทางปฏิบัติพบว่า หลังจากได้รับท็อกซอยต์ไปแล้ว 1 เข็ม อาสาสมัครบางรายมาให้เห็นตัวอย่างเลือดและรับการฉีดท็อกซอยต์เข็มที่ 2 ล่วงกว่าขั้นตอนที่กำหนดไว้ อย่างไรก็ตาม ผลการตรวจหา antitoxin ในตัวอย่างเลือดให้ผลใกล้เคียงกัน ไม่ว่าช่วงห่างของการเจาะเก็บดังกล่าวเป็น 4, 5 หรือ 6 สัปดาห์

Table 3 Comparative tetanus antitoxin levels in maternal and cord sera of uninjected group.

Subject number	Maternal serum (iu/ml)	Cord serum (iu/ml)	Percentage of maternal antitoxin transmitted
1	0.072	0.072	100
2	0.384	0.096	25
3	< 0.003	< 0.003	0
4	0.144	0.072	50
5	0.009	< 0.003	0
6	0.009	< 0.003	0
7	0.009	< 0.003	0
8	0.009	< 0.003	0
9	0.018	< 0.003	0
10	0.036	< 0.003	0
11	0.036	< 0.003	0
12	0.036	< 0.003	0
	$\bar{x}=0.069$	$\bar{x}=0.08$	$\bar{x}=58.3$

Table 4 Distribution of tetanus antitoxin units detected in maternal and cord sera of the uninjected group.

Antitoxin level (iu/ml)	No. of sera with antitoxin level of:	
	Maternal sera	Cord sera
< 0.01	5	9
0.01-0.09	5	2
0.1-0.9	2	1
Total	12	12

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิจารณ์และสรุปผล



ในการทดลองนี้ ประวัติการติดเชื้อหรือฉีดทอกซอยด์ของอาสาสมัคร ได้จากการสอบถามจากความจำ ซึ่งต้องมีประวัติไม่เคยได้รับการฉีดเชื้อหรือฉีดทอกซอยด์มาก่อน แต่จากการทดลอง พบว่าแม่ในตัวอย่างเลือดควบคุมของมารดาทุกกลุ่มทดลอง ซึ่งเจาะเก็บก่อนทรีปการฉีดทอกซอยด์ ยังพบภูมิต้านทานสูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค (เฉลี่ย 0.069 iu/ml ตารางที่ 1) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าประวัติการติดเชื้อหรือฉีดทอกซอยด์ของอาสาสมัครคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง กล่าวคือ อาจเคยได้รับทอกซอยด์แต่จำไม่ได้หรือไม่ทราบว่าเป็นทอกซอยด์ชนิดใด หรืออาจไม่เคยได้รับทอกซอยด์หรือติดเชื้อชนิดใดเลย แต่อาจเป็นเพราะภูมิต้านทานต่อเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่ง สามารถได้รับการชักนำให้เกิดขึ้นในร่างกาย โดยการสัมผัสกับเชื้อตามธรรมชาติ (Naturally acquired immunity) ซึ่งเป็นการติดเชื้อโดยไม่ปรากฏอาการได้ (Hoeprick, 1977 ; Krugman and Katz, 1981; Furste, 1982) ปรากฏการณ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากรายงานของ Rao และ Raman (1980) ที่ศึกษาถึง antibody response ต่อการได้รับทอกซอยด์ชนิดใดชนิดหนึ่งพบว่าร้อยละ 11.7 ของอาสาสมัคร สามารถตรวจพบภูมิต้านทานได้ก่อนที่จะได้รับการปลูกภูมิคุ้มกัน และ Veronesi (1983) พบว่าภูมิต้านทานต่อเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งสามารถตรวจพบได้สูงเกินกว่า 12.5 iu/ml ในตัวอย่างเลือดของคนที่ไม่เคยได้รับทอกซอยด์มาก่อน แม้ว่า George Dick (1978) ได้เคยรายงานไว้ว่า การสัมผัสกับเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งในสภาวะปกติในธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดภูมิต้านทานได้ก็ตาม แต่ผลที่ได้จากการทดลองนี้ มีแนวโน้มที่สนับสนุนตามรายงานของผู้วิจัยกลุ่มแรก

หลังได้รับทอกซอยด์ 1 เข็ม อาสาสมัครส่วนใหญ่มีระดับภูมิต้านทานสูงขึ้น (เฉลี่ย 0.146 iu/ml สูงกว่าก่อนได้รับทอกซอยด์ประมาณ 1 เท่า ตารางที่ 1) อาจเนื่องมาจากก่อนได้รับทอกซอยด์ อาสาสมัครมีภูมิต้านทานต่อเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งอยู่แล้ว การได้รับทอกซอยด์ในปริมาณที่เหมาะสม เป็นการกระตุ้นซ้ำสามารถชักนำให้ภูมิต้านทานเกิดได้เร็ว และเพิ่มปริมาณมากขึ้นได้ แต่จากผลการทดลองพบว่า มีอาสาสมัครบางรายที่เมื่อได้รับทอกซอยด์ 1 เข็มแล้ว ยังพบภูมิต้านทานคงอยู่ในระดับเดิมเช่น อาจเกิดจากสาเหตุของความแตกต่างในแต่ละบุคคล (Individual variation) ในเรื่องความไวในการตอบสนองต่อการชักนำให้สร้างภูมิต้านทานของร่างกาย ทั้งนี้เพราะเมื่อได้รับทอกซอยด์เข็มที่ 2 พบว่ามีอาสาสมัครบางรายในกลุ่มดังกล่าว โดยมีระดับภูมิต้านทานสูงขึ้น (เฉลี่ย 0.368 iu/ml สูงกว่าก่อนได้รับทอกซอยด์ประมาณ 4 เท่า) ส่วนการตรวจหาระดับภูมิต้านทานของทารกในกลุ่มทดลองพบว่า ทุกรายมีระดับภูมิต้านทานสูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน (เฉลี่ย 0.088 iu/ml ตารางที่ 1) เมื่อนำ

ระดับภูมิต้านทานมาเปรียบเทียบกัน ระหว่างมารดา ในช่วงที่ยัง ไม่ได้รับท็อกซอยด์กับทารก พบว่า ในทารกส่วนใหญ่มีระดับสูงกว่า (ตารางที่ 1) แสดงว่าแม่มารดาจะ เคยหรือไม่เคย ได้รับท็อกซอยด์ก็ตาม หากได้รับการรักษาด้วยท็อกซอยด์ป้องกันขนาดต่ำๆ โดยก่อนได้รับภูมิต้านทานระดับหนึ่ง ในร่างกายอยู่แล้ว จะสามารถถ่ายทอกภูมิต้านทานให้แก่ทารกได้ ในระดับที่สูงพอที่จะปกป้องทารกจากการติดเชื้อ ได้ อย่างไรก็ตาม ภูมิต้านทานของทารกเมื่อเปรียบเทียบกับระดับที่ตรวจพบ ในมารดาที่เจาะ เก็บ ในช่วงเวลา ใกล้เคียงกัน พบว่า ในมารดา มีระดับสูงกว่า (เฉลี่ยประมาณ 3 เท่า) แสดงว่ามารดามีภูมิต้านทานในระดับสูงเพียงใดก็ตาม จะ ไม่สามารถถ่ายทอกภูมิต้านทานระดับดังกล่าว ให้แก่ทารก ได้อย่างสมบูรณ์จนมี ในระดับเดียวกัน ได้ ผลการทดลองนี้ ได้รับการสนับสนุนจากผลงานวิจัยของ Petchalai และ Suwattika (1978) ซึ่งได้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกัน แต่ขัดแย้งกับผลงานวิจัยของ Suri et al. (1964) ที่พบว่ามารดาที่ได้รับท็อกซอยด์ในระหว่างตั้งครรภ์ ส่วนใหญ่สามารถ ถ่ายทอกภูมิต้านทาน ให้แก่ทารกในระดับที่ ใกล้เคียงกับของมารดาได้ ในการนี้ Condrea et al. (1961) และ Nicol et al. (1960) เคยรายงานไว้ว่าภูมิต้านทานของทารก บางครั้งพบสูงกว่าหรือต่ำกว่าของมารดาได้ แต่จากการทดลองนี้ พบเพียง 1 รายที่ทั้งทารก และมารดามีภูมิต้านทานระดับ เดียวกัน และ ไม่พบ ในกรณีทารกมีระดับภูมิต้านทานสูงกว่าของ มารดาแต่อย่างใด นอกจากนี้จากรายงานของ Chandra (1976) ทั่ว ทารกคลอดหลังจาก มารดา ได้รับท็อกซอยด์เข็มที่ 2 เป็นเวลา 12 สัปดาห์แล้ว ทารกและมารดาจะมีภูมิต้านทาน ในระดับที่ ใกล้เคียงกันนั้น พบว่า สอดคล้องกับผลการทดลองนี้ ทั้งที่ทารกส่วนใหญ่ของ การทดลอง ได้คลอดหลังจากมารดา ได้รับท็อกซอยด์เข็มที่ 2 เป็นเวลา 12 สัปดาห์เช่นกัน แต่ภูมิต้านทาน ในทารกมีระดับต่ำกว่า

จากกลุ่มทดลอง ภูมิต้านทานระดับต่ำสุดของมารดาที่สามารถถ่ายทอกผ่านเข้าสู่อทารก ได้คือ 0.072 iu/ml โดยที่ค่าเฉลี่ยและส่วนใหญ่ของภูมิต้านทานของมารดา ในช่วง ก่อนและหลัง ได้รับท็อกซอยด์ 2 เข็ม มีผลย 0.01-0.09 iu/ml และ 0.1-0.9 iu/ml ตามลำดับ และสามารถถ่ายทอกให้ผ่านเข้าสู่อทารก ให้มีค่าเฉลี่ยและส่วนใหญ่ของภูมิต้านทาน มีผลยที่ 0.01-0.09 iu/ml เช่นกัน(ตารางที่ 2) คิดเป็นจำนวนทารกที่ได้รับ การถ่ายทอก ร้อยละ 100 โดยมีปริมาณภูมิต้านทานที่ได้รับจากมารดาต่างกัน คิดเป็นอัตราส่วน โดยเฉลี่ย ร้อยละ 50 ของปริมาณภูมิต้านทาน ในมารดา(ตารางที่ 1) โดยปริมาณภูมิคุ้มกัน โรคมีได้แปรตามปริมาณภูมิต้านทาน ในมารดา

อาสาสมัครกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับทอกซอยด์ให้ผลการตรวจหาระดับภูมิต้านทานคล้ายคลึงกับกลุ่มทดลอง คือมารตาส่วนใหญ่ภูมิต้านทานสูงกว่าระดับป้องกันโรค (เฉลี่ย 0.07 iu/ml ตารางที่ 3) ทั้งนี้ด้วยสาเหตุเดียวกันกับกลุ่มทดลองที่กล่าวมาแล้ว แม้ว่าบางรายตรวจไม่พบปริมาณภูมิต้านทาน แต่สาเหตุอาจเป็นเพราะว่ารายดังกล่าวมีภูมิต้านทานในระดับที่ต่ำมากเกินกว่าวิธีการตรวจหาที่เร้นตรวจพบได้ อย่างไรก็ตาม การรทที่เกิดจากมารตากลุ่มนี้พบว่า ส่วนใหญ่ตรวจไม่พบปริมาณภูมิต้านทานเช่นกัน อาจเป็นเพราะว่ามารตาในกลุ่มควบคุมนี้ แม้จะมีภูมิต้านทานในร่างกาย ก็ลดลงเกี่ยวกับมารตาในกลุ่มทดลองในช่วงก่อนได้รับทอกซอยด์ แต่เมื่อไม่ได้รับการกระตุ้นซ้ำตั้ง เช่นกลุ่มทดลอง ระดับภูมิต้านทานจึงไม่สูงพอที่จะถ่ายทอดไปให้แก่ทารกในครรภ์ได้ เว้นแต่มารตาบางรายซึ่งมีภูมิต้านทานอย่างต่ำในระดับ 0.072 iu/ml อยู่แล้ว จึงสามารถถ่ายทอดให้ทารกมีภูมิต้านทานได้ (ตารางที่ 3) มารตาและทารกส่วนใหญ่ภูมิต้านทานอยู่ในพิสัยช่วง 0.01-0.09 iu/ml (ตารางที่ 4) แม้ค่าเฉลี่ยภูมิต้านทานที่ตรวจพบในมารตา จะมีความต่ำกว่าค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบในทารกก็ตาม แต่ค่าทั้งสองมีพิสัยในช่วงเดียวกันคือ 0.01-0.09 iu/ml (ตารางที่ 3-4) คิดเป็นจำนวนทารกที่ได้รับถ่ายทอดร้อยละ 25 โดยมีปริมาณการถ่ายทอดโดยเฉลี่ยร้อยละ 58 ของระดับภูมิต้านทานในมารตา (ตารางที่ 3) และปริมาณภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดแก่ทารกในกลุ่มนี้ มิได้แปรตามปริมาณภูมิต้านทานในมารตาเช่นเดียวกัน

ผลจากการทดลองนี้เป็นที่น่าสังเกตว่ามารตาที่มีระดับภูมิต้านทาน 0.072 iu/ml หรือมากกว่า จึงสามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานแก่ทารกได้ และภูมิต้านทานที่ถ่ายทอดไปนี้มีระดับสูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรคได้ ส่วนมารตาที่มีภูมิต้านทานต่ำกว่า 0.072 iu/ml จะไม่สามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานแก่ทารก ไม่เพียงไม่สามารถถึงระดับคุ้มกันโรค หากแต่ไม่สามารถตรวจพบปริมาณภูมิต้านทานได้เลย อย่างไรก็ตาม ปริมาณภูมิต้านทาน 0.072 iu/ml ในมารตาดังกล่าวนั้น ยังไม่สามารถใช้เป็นระดับมาตรฐานในการวิเคราะห์ถึงความสามารถในการถ่ายทอด หรือระดับภูมิคุ้มกันที่จะถ่ายทอดให้แก่ทารกได้ เว้นแต่มีการวิจัยเพิ่มเติม โดยมีประชากรตัวอย่างมากพอ จึงจะสรุปผลการทดลองในประเด็นนี้ได้

จากการทดลองนี้ จึงพอสรุปได้ว่าในสภาวะปกติตามธรรมชาติ ภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยัก สามารถได้รับการชักนำให้เกิดขึ้นในร่างกายได้ โดยการสัมผัสกับเชื้อตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม ปรากฏการณ์ที่ช่วยเสริมกระตุ้นโดยทั่วไป อาจมีภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยักในร่างกายในระดับหนึ่งซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในระดับป้องกันโรคได้อยู่แล้ว หากได้รับการกระตุ้นเพิ่มเติม โดยได้รับทอกซอยด์ 2 เข็ม จะสามารถชักนำให้ร่างกายสร้างภูมิต้านทานเพิ่มขึ้นได้ในระดับสูง และสูงพอที่จะถ่ายทอดให้แก่ทารกในครรภ์ได้ มารตาที่ได้รับทอกซอยด์

2. เข้ม มีการถ่ายทอดภูมิคุ้มกัน ให้ทารก ได้ ในปริมาณร้อยละ 50 ของปริมาณภูมิคุ้มกันในมารดา และภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดไปนี้สูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค สามารถคุ้มกันโรคแก่ทารกแรกเกิดได้ร้อยละ 100 ส่วนมารดาที่ไม่ได้รับทอกซอยด์ มีการถ่ายทอดภูมิคุ้มกันแก่ทารก ได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ 1 คือ ได้ในปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 58 ของปริมาณภูมิคุ้มกันในมารดา แต่ภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดไปนี้ สามารถคุ้มกันโรคแก่ทารกแรกเกิดได้เพียงร้อยละ 25 ของจำนวนทารกทั้งหมด



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



เอกสารอ้างอิง

- Black RE, Huber, DH, and Curlin, GT. 1980. Reduction of neonatal tetanus by mass immunization of non-pregnant women: duration of protection provided by one or two doses of aluminium-adsorbed tetanus toxoid. Bull WHO 58(6): 927-930.
- Bytchenko B. 1966. Geographical distribution of tetanus in the world 1951-60: a review of the problem. Bull WHO 34:71-104
- Chandra RK. 1976. Levels of IgG Subclasses, IgA, IgM and tetanus antitoxin in paired maternal and foetal sera : findings in healthy pregnancy and placental insufficiency, In: Maternofoetal transmission of immunoglobulins. WA Hemmings, ed. University Press. 1976. 77-90.
- Condrea P, Poenara E, Esrig, M, and Filipesco I. 1961. Anti-tetanus immunization of the newborn infant by vaccination during pregnancy. Clinical and experimental studies. Arch-rourm Path Exp Microbiol 20:549-556.
- Furte, W. 1981. The Sixth International Conference on Tetanus, Lyon, France. J. of Trauma 22:1032-1035.
- George Dick. 1978. Immunization : CH. 4 Tetanus . Update Publication. 26-31.
- Hoeprich P D. 1977. Infectious Disease. 2nd ed. Medical Department. New York. 948-955.
- Krugman S, and Katz, SL, 1981. Infectious Disease of Children, 7th ed. The C.V. Mosby Company. New York. 409-416.
- Miller JK. 1972. The prevention of neonatal tetanus by maternal immunization. I. Trop Pediatr Envir Child health 18 : 160-167.
- Nicol L, Girard D, Corvazier R, Cheyrouse M, Reculard, P, and Sizeret P. 1960. Comparative study of the transmission of immunity from mothers to newborn. Rev. Immunol (Paris). 24:16.

- Petchclai B, and Suwattika P. 1978. Diphtheria and tetanus antitoxin level in the maternal and cord blood of Thai infant, J. of Med Asso Thai 61 : 672-674.
- Rahman M, Chen LC, Chakraborty J, Yunus M, Chowdhury AI, Sarder AM, Bhatia S and Curlin, GT 1982. Use of tetanus toxoid for the prevention of neonatal tetanus. I. Reduction of neonatal mortality by immunization of non-pregnant and pregnant women in rural Bangladesh. Bull WHO 60(2) : 261-267.
- Rao VR, and Raman L. 1980. Antibody response to tetanus toxoid during pregnancy. Indian. J Med Res 72 : 840-842.
- Suri JC, Dhillon H, and Brawal HS. 1964. Active immunization of women in pregnancy for prevention of neonatal tetanus. Bull WHO 31: 349-357.
- Veronesi R. 1983. Naturally acquired antibodies to tetanus in human and animal from the Galapagos Islands. J. Infect Diseases 147: 308-311.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

การเตรียม Alsevier's solution

ตั้ง:

- Dextrose 4.1 กรัม
- Sodium citrate 1.6 "
- Sodium chloride 0.84 "

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน เติมน้ำกลั่นใหม่ปริมาณ 200 มล. ปรับความเป็น

กรดต่างใหม่ pH เป็น 6.1 ด้วย 10% citric acid จากหน้าของมาเจอด้วย

Autoclave ที่ 10 ปอนด์ นาน 10 นาที แล้วนำเก็บที่ 4 °C ในตู้เย็น เมื่อใช้เจาะเก็บ

SRBC ให้ใช้ในอัตราส่วน 1:1 กับปริมาณเลือดที่เจาะ

การเตรียม 0.15 M. Phosphate-buffered saline (PBS)

ตั้ง:

- Stock Solution:
- NaCl 36.0 กรัม
 - Na₂HPO₄ 7.4 "
 - KH₂PO₄ 2.15 "

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน แล้วเติมน้ำกลั่นใหม่ปริมาณ 1 ลิตร ปรับความ

เป็นกรดต่างด้วย 1 N. HCl หรือ 1 N. NaOH ใหม่ pH 7.2

Working solution: เมื่อใช้ผสม Stock solution 200 มล.
และ น้ำกลั่น 800 มล.

เข้าด้วยกัน จะได้ 0.15 M. PBS pH 7.2 นำเก็บที่ 4 °C ในตู้เย็น

การเตรียม 0.1 M. Acetate buffer

ตั้ง:

Stock Solution: เตรียมสารละลายของ Glacial acetic acid และ Sodium citrate ในน้ำกลั่น

Solution A. Glacial acetic acid 11.55 มล./ลิตร

Solution B. Sodium citrate 27.2 "

Working Solution: เมื่อใช้ผสม Solution A. 410 มล.

และ Solution B. 90 "

เข้าด้วยกัน ปรับความเป็นกรดต่างด้วย 1 N. HCl หรือ 1 N. NaOH ให้ได้ pH 4 เก็บ
ที่ 4 °C ในตู้เย็น

การเตรียม Normal saline solution (NSS)

ตั้ง:

1g NaCl 9 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นให้ ได้ปริมาณ 1 ลิตร นำเก็บที่ 4 °C ในตู้เย็น

การเตรียม Serum diluent (SD)

ตั้ง:

ผสม Normal rabbit serum (NRS) 1 มล.

และ PBS pH 7.2 99 มล.

เข้าด้วยกัน จะได้ 1% NRS ใน PBS 7.2



สถาบันสัตวบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย