

บทที่ ๔

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

๑. วิจารณ์ผลการทดลอง๑.๑ วิจารณ์ผลการทดลองในกลุ่มผู้ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์

เชื่อกันว่า acquired immunity ต่อโรคอหิวาต์ขึ้นอยู่กับ specific antibody มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านที่ได้ทำ field trials เกี่ยวกับผลของวัคซีนอหิวาต์ เช่น Azurin, et al (1967) ทำในประเทศฟิลิปปินส์ Mosley, et al (1969) ทำในประเทศปากีสถาน Mosley (1973) ทำในประเทศบังคลาเทศ เป็นต้น ซึ่งผลงานต่าง ๆ เหล่านี้จะเน้นให้เห็นความสำคัญของวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ในเขตที่มีการระบาดของโรคนี้ อย่างไรก็ตาม วัคซีนต่าง ๆ ที่ใช้อยู่ก็ยังไม่สามารถป้องกันการแพร่กระจาย (transmission) ของโรคได้ (Gangarosa, 1974) สำหรับประเทศไทย วัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ที่ใช้เป็นวัคซีนที่ผลิตโดยองค์การเภสัชกรรม เป็นชนิด heat-killed classical vibrios vaccine โดยใช่ 2 serotypes คือ Inaba และ Ogawa ในขณะที่อหิวาต์ที่ระบาดในประเทศไทยเป็นชนิด biotype El Tor, สำหรับ serotype ที่ระบาดอยู่เสมอคือ Ogawa และมี Inaba อยู่ประปราย เนื่องจากมีเหตุผลที่เชื่อถือได้ว่าวัคซีนชนิด classical นี้ ให้ภูมิคุ้มกันได้ดีกับเชื้ออหิวาต์ El Tor biotype ทั้ง 2 serotype โดยมีปฏิกิริยาข้างเคียงน้อยกว่าการใช้ร่วมกับ El Tor biotype หรือ El Tor เพียงอย่างเดียว

ผลจากการศึกษาพบว่า Haemagglutinating titres ในซีรัมของกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนจะให้ peak สูงสุดในวันที่ ๗ และจะยังคงสูงอยู่ตลอด ๓ เดือน โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ภายหลังจากนั้นจะค่อย ๆ ลดลง อย่างไรก็ตาม ในเดือนที่ ๖ ค่า Haemagglutinating titres จะยังคงสูงกว่าก่อนฉีดวัคซีนเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) และ Vibriocidal assay ให้ผลเช่นเดียวกับ Haemagglutinating titres สำหรับ Mouse protection test (MPT) ให้ผลต่างกันเล็กน้อย กล่าวคือ จะให้ peak สูงสุดใน ๑ เดือน อย่างไรก็ตาม MPT ในระยะ ๗ วัน, ๑ เดือน และ ๓ เดือน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แล้วจะค่อย ๆ ลดลงจนถึงเดือนที่ ๖ ซึ่งยังคงสูงกว่าค่า MPT ก่อนวันฉีดวัคซีน ($0.01 < P < 0.05$)

ความสามารถในการป้องกันโรคอหิวาต์ไม่สัมพันธ์กับระดับของแอนติบอดีในกระแสเลือด แต่จะสัมพันธ์กับชนิดของอิมมูโนโกลบูลิน (Feeley, 1965) ดังนั้นเมื่อพิจารณาชนิดของอิมมูโนโกลบูลินในกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีน ปรากฏว่า ๔๐% ของผู้ได้รับการฉีดวัคซีนจะมีอิมมูโนโกลบูลินชนิด IgM อย่างเดียว ถึงแม้ว่าซีรัมเหล่านี้จะให้การป้องกันโรคอหิวาต์ได้ในหนูถีบจักร (อายุ ๔-๖ วัน) เมื่อให้แอนติบอดีเหล่านี้ทางปากแก่หนูควบคู่กับการให้เชื้ออหิวาต์ ก็เป็นการยากที่จะคิดว่าแอนติบอดีเหล่านี้จะป้องกันโรคอหิวาต์ได้ เพราะแอนติบอดีเหล่านี้ไม่สามารถลอดทะลุจากกระแสเลือดเข้าสู่ลำไส้ในผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีนได้ ทั้งนี้เพราะ IgM เป็นแอนติบอดีที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ (19S) และยากแก่การซึมผ่านเข้าไปในลำไส้ (Feeley, 1965) อีก ๖๐% ของผู้ได้รับการฉีดวัคซีนจะมีแอนติบอดีเป็นส่วนผสมของ IgM กับ IgG และที่มีเฉพาะ IgG ซึ่งคาดว่า ๖๐% นี้สามารถให้การป้องกันโรคอหิวาต์ได้ในลำไส้ของผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน ทั้งนี้เพราะมี IgG มากกว่า IgM (ตารางที่ ๑๐, ๑๑ หน้า) ดังนั้นจึงมีเหตุผลที่จะกล่าวได้ว่าในผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ขององค์การเกษตรกรรม สามารถให้การป้องกันโรคได้อย่างสูงที่สุด ๖๐% ในระยะเวลา ๔ เดือน และ ๖๐% นี้เมื่อเข้าสู่ลำไส้ก็อาจถูก digest ด้วย proteolytic enzymes ในลำไส้ ทำให้ระดับแอนติบอดีต่ำลงไปอีก

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเฉพาะแอนติบอดีในกระแสเลือด ซึ่งจะ
สามารถป้องกันโรคได้ต่อเมื่อแอนติบอดีนี้สามารถเข้าสู่ลำไส้เท่านั้น ไม่ได้ศึกษาแอนติ-
บอดีในลำไส้ (copro-antibodies) อย่างไรก็ตาม แอนติเจนจากวัคซีนที่ให้ทาง
parenteral อาจจะไปที่ local mesenteric lymphoid cells และสร้าง
โคโปรแอนติบอดีขึ้นมา (Chaicumpa, 1974)

สำหรับซีรัมในกลุ่ม control ซึ่งฉีดด้วยน้ำกลั่น ปรากฏว่าระดับ
ของ specific antibody ไม่มีการเพิ่มเลย

๑.๒ วิจารณ์ผลการทดลองในกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคอหิวาต์

ดังได้กล่าวแล้วว่า อหิวาต์ที่ระบาดอยู่เสมอ ๆ ในประเทศไทย เป็น
เชื้ออหิวาต์ชนิด biotype El Tor, serotype Ogawa (มี Inaba บ้าง) ทำให้
อยากทราบว่าในกลุ่มคนที่เคยเป็นโรคอหิวาต์มาแล้ว จะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ
อหิวาต์ที่อาจได้รับใหม่ได้หรือไม่ และภูมิคุ้มกันนี้จะอยู่นานเพียงใด

จากการศึกษา พบว่า Haemagglutinating titres ในคนไข้
โรคอหิวาต์จะขึ้นสูงสุดในวันที่ ๗ ภายหลังจากเข้าโรงพยาบาล (ค่าเฉลี่ย 1:44) และ
สูงกว่าวันแรกที่เข้าโรงพยาบาล และ ๓ เดือนหลังจากนั้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$)
ผลของ vibriocidal titres ให้ผลเช่นเดียวกัน (ค่าเฉลี่ยในวันที่ ๗ = 1:
1827) โดยผลของ HA titres และ Vi-titres ในวันแรกที่เข้าโรงพยาบาล
ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม control ($P > 0.05$) สำหรับค่า Mouse protec-
tion test (MPT) พบว่าในวันที่ ๗ (ค่าเฉลี่ย ๑:๕) จะสูงกว่าวันที่ ๑ และ
๓ เดือนหลังจากนั้น โดยที่ค่า MPT ในวันแรกของคนไข้จะต่ำกว่าค่า MPT ในกลุ่ม
control ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่า

๑. ในขณะที่กำลังป่วยด้วยโรคอหิวาต์ ท็อกซินของเชื้ออหิวาต์จะ
ก่อให้เกิด submucosal edema ซึ่งทำให้มี Lymphocytic และ Capillary
permeability เพิ่มขึ้น อันอาจจะเป็นสาเหตุทำให้มี extravasation และ

transudation ของแอนติบอดีจากกระแสเลือดเข้าไปในลำไส้มากขึ้น ซึ่งปรากฏการณ์นี้เรียกว่า "pathotopic potentiation"

๒. เมื่อพิจารณาอิมมูโนกลอบูลินในผู้ป่วย พบว่าในวันแรกที่เข้าโรงพยาบาล อิมมูโนกลอบูลินส่วนใหญ่เป็นเฉพาะ IgG และ IgM กับ IgG ร่วมกันประมาณ ๖๖% ซึ่งสามารถซึมผ่านเข้าไปในลำไส้ได้ ตามตารางที่ ๑๘ หน้า

จากเหตุผลทั้ง ๒ ข้อนี้ อาจทำให้ค่า MPT ในวันแรกของผู้ป่วยต่ำกว่าค่า MPT ก่อนฉีดน้ำกลั่นในกลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$)

อย่างไรก็ตาม แอนติบอดีที่เกิดขึ้นในระหว่างที่เป็นโรคหิวาต์จะไม่ขึ้นกับยาปฏิชีวนะ เช่น Tetracycline ที่ใช้รักษาคนไข้ ทั้งนี้เพราะว่าเชื้ออหิวาต์ที่ถูกยาปฏิชีวนะฆ่าตายแล้วก็จะยังคงอยู่ในลำไส้เพื่อกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดี (Sack et al, 1966)

นอกจากนี้ระดับของ MPT ในกระแสเลือดเพียง 1:5 หลังจากพ้นจากโรค (วันที่ ๗) ไม่น่าจะพอเพียงในการป้องกันโรค แต่ local production ที่ลำไส้โดยได้ antigen จากเชื้ออหิวาต์ทั้งตัวเป็น และตัวตาย อาจมีแอนติบอดีจำนวนมากอยู่ในลำไส้ระยะหนึ่ง

ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า บุคคลซึ่งเคยเป็นโรคหิวาต์มาก่อน อาจจะมีภูมิต้านกันบ้างเล็กน้อยในระยะพักฟื้น หรือไม่มีเลย ภูมิต้านกันนี้จะอยู่ในระยะเวลาไม่เกิน ๓ เดือน

๒. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาเกี่ยวกับ immune response และ protective immunity ในผู้ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคหิวาต์ และผู้ป่วยด้วยโรคหิวาต์ สามารถสรุปผลจากการตรวจระดับและชนิดของแอนติบอดีในซีรัมอย่างเดี่ยวได้ดังนี้คือ

๒.๑ ผู้ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ แม้จะเตรียมจากเชื้ออหิวาต์ต่าง biotype ก็จะทำให้ภูมิคุ้มกันได้ประมาณ ๖๐% และภูมิคุ้มกันนี้คงอยู่ได้ประมาณ ๔ เดือน โดยระดับของ Haemagglutinating titres และ Vibriocidal titres สูงสุดในวันที่ ๗ ระดับของ Mouse protective titres จะให้ค่า PD₅₀ สูงสุดใน ๑ เดือน ภายหลังจากฉีดวัคซีน

๒.๒ บุคคลซึ่งเคยป่วยเป็นอหิวาต์ จะมีภูมิคุ้มกันต่ออหิวาต์บ้างเล็กน้อยในระยะพักฟื้น หรือไม่มีเลย และภูมิคุ้มกันนี้จะอยู่ในระยะเวลาไม่เกิน ๓ เดือน ซึ่งในระยะแรกของการติดเชื้ออหิวาต์ แอนติบอดีจากกระแสโลหิตอาจจะสามารถผ่านเข้าสู่ลำไส้ผู้ป่วยได้ เพื่อพยายามทำหน้าที่ป้องกันโรค นอกจากนี้อาจมีแอนติบอดีจำนวนมากจาก local production โดยได้แอนติเจนมาจากเชื้ออหิวาต์ในลำไส้ทั้งจาก living และ dead vibrios

ความหวังในการพัฒนาวัคซีนให้ได้ภูมิคุ้มกันได้มากกว่า ๖๐% โดยใช้ specific biotype ทำวัคซีน และไม่มีผลจากปฏิกิริยาข้างเคียงมากเกินไป ปัญหาที่น่าจะได้มีการส่งเสริมให้มีการวิจัยขั้นต่อไป