02/0019/31

นิพนธ์ต้นฉบับ

การถ่ายทอดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อบาดทะยักในสตรีมีครรภ์

Maternofoetal transmission of tetanus antitoxin

อุปมา เลี้ยงสว่างวงศ์*
สมภพ ลิ้มพงศานุรักษ์**
วลัยภรณ์ วจนะวิศิษฐ์**
สุมนา ชมพูทวีป*
นิกร ดุสิตสิน**

Abstract : **Upama Liengswangwong, Sompop Limpongsanurak, Walaiporn Wachanavisit, Sumana Chompootaweep, and Nikorn Dusitsin. 1988. Maternofoetal transmission of tetanus antitoxin. Thai J Hlth Resch 2(1) : 23-32**

A study on tetanus antitoxin level of 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 0.069 iu/ml, 0.146 iu/ml and 0.368 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 0.088 iu/ml which is above a protective level. While unimmunized mothers, with an average of 0.07 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 tranmit to their young, antitoxin of an approximately 50% of the maternal level. The transmission takes place only in mothers with antitoxin level of at least 0.072 iu/ml.

* สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10500
Institute of Health Research, Chulalongkorn University, Bangkok 10500
** ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10500
Dep of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10500

บทคัดย่อ : **อุปมา เลี้ยงสว่างวงศ์, สมภพ ลิ้มพงศานุรักษ์, วลัยภรณ์ วจนะวิศิษฐ์, สุมนา ชมพูทวีป และ นิกร ดุสิตสิน. 2531. การถ่ายทอดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อบาดทะยักในสตรีมีครรภ์. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์-การแพทย์ 2(1) : 23-32**

ได้ศึกษาถึงภาวะภูมิคุ้มกันโรคต่อเชื้อบาดทะยักในสตรีตั้งครรภ์ที่ได้รับเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับท้อกซอยด์ พบว่าในสตรีตั้งครรภ์ที่ได้รับท้อกซอยด์ ตรวจพบปริมาณภูมิคุ้มกันได้โดยเฉลี่ย 0.069 iu/ml, 0.146 iu/ml และ 0.368 iu/ml ในช่วงก่อนได้รับท้อกซอยด์ หลังได้รับท้อกซอยด์เข็มแรก และเข็มที่สองตามลำดับ ทารกที่เกิดจากสตรีกลุ่มดังกล่าวมีภูมิคุ้มกันทุกราย ตรวจพบได้ปริมาณโดยเฉลี่ย 0.088 iu/ml ซึ่งสูงกว่าระดับป้องกันโรคได้ ส่วนสตรีตั้งครรภ์ที่ไม่ได้รับท้อกซอยด์ ตรวจพบปริมาณภูมิคุ้มกันได้โดยเฉลี่ย 0.07 iu/ml ถ่ายทอดภูมิคุ้มกันแก่ทารกได้เพียง 1 ใน 4 ของจำนวนทารกทั้งหมด ในปริมาณโดยเฉลี่ย 0.08 iu/ml ซึ่งมีระดับใกล้เคียงกับที่ทารกได้รับจากมารดาที่ได้รับท้อกซอยด์ และสูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน สตรีทั้งที่ได้รับหรือไม่ได้รับท้อกซอยด์ถ่ายทอดภูมิต้านทานให้แก่ทารกได้ประมาณร้อยละ 50 ของปริมาณภูมิ-ต้านทานในมารดา โดยมารดาที่มีปริมาณภูมิต้านทานต่ำสุดที่ 0.072 iu/ml จึงจะถ่ายทอดภูมิต้านทานโรคแก่ทารกได้

บทนำ

บาดทะยักในทารกแรกเกิด (Tetanus neonatorum) ยังเป็นสาเหตุนำในการเสียชีวิตของทารกทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา พบว่าประมาณ 1 ใน 3 ของสาเหตุการเสียชีวิตในทารกเกิดจากโรคบาดทะยัก (Bytchenko, 1966; Miller, 1972) องค์การอนามัยโลกจึงได้มีการรณรงค์ให้มีการฉีดท้อกซอยด์ป้องกันโรคบาดทะยัก (Tetanus toxoid) แก่สตรีมีครรภ์ เพื่อให้ภูมิต้านทานที่สร้างขึ้นถ่ายทอดผ่านเข้าสู่ทารก ให้ทารกหลังคลอดปลอดภัยจากการติดเชื้อได้

การฉีดท้อกซอยด์แก่มารดา เพื่อให้ได้ผลการคุ้มกันโรคในทารกแรกเกิดนี้ได้มีการวิจัยกันอย่างกว้างขวาง Suri *et al.* (1964) พบว่าถ้าฉีดท้อกซอยด์แก่มารดาในระหว่างมีครรภ์ ร้อยละ 88 ของทารกแรกเกิดจะมีภูมิคุ้มกันโรคสูงถึง หรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค Rao and Raman (1980) ศึกษาต่อมาพบว่า ถ้าฉีดท้อกซอยด์ 2 เข็ม แก่มารดาในระยะไตรมาสที่ 3 ของการตั้งครรภ์ จะตรวจพบภูมิต้านทานระดับสูงทั้งในมารดาและทารกแรกเกิดได้ Black *et al.* (1980) ได้ทดลองฉีดท้อกซอยด์ 1 เข็ม แก่สตรีที่ไม่ได้ตั้งครรภ์ พบว่าสามารถลดอัตราการเสียชีวิตลงได้ 1 ใน 3 ของทารกทั้งหมด ในช่วง 9–32 เดือน ภายหลังมารดาได้รับท้อกซอยด์ และ Rahman *et al.* (1982) ได้ทำการทดลองทำนองเดียวกันพบว่า ถ้าให้มารดาได้รับท้อกซอยด์ 2 เข็ม ในระยะเวลา 48–64 เดือน ก่อนคลอด เปรียบเทียบกับมารดาที่ไม่ได้รับ พบว่าอัตราการเสียชีวิตในทารกเป็น 63.8 และ 78.3 ต่อทารกรอดชีวิต 1,000 คน ตามลำดับ แต่ถ้าให้มารดาได้รับท้อกซอยด์ 1 เข็ม ในระหว่างมีครรภ์ จะพบอัตราการเสียชีวิตในทารกเป็น 42.8 คิดเป็นอัตราการเสียชีวิตของทารกลดลง 35.5 ต่อทารกรอดชีวิต 1,000 คน

ประเทศไทยซึ่งบาดทะยักยังเป็นปัญหาทางสาธารณสุข พบว่าบาดทะยักในทารกแรกเกิดยังมีอุบัติการณ์สูงมาก กระทรวงสาธารณสุขจึงได้กำหนดให้มารดาได้รับท้อกซอยด์ 2 เข็มในระหว่างมีครรภ์ เพื่อให้ทารกหลังคลอดมีภูมิคุ้มกันโรค อย่างไรก็ดี ภูมิต้านทานอันเกิดจากท้อกซอยด์ที่มารดาได้รับดังกล่าว สามารถถ่ายทอดผ่านเข้าสู่ทารกได้หรือไม่ ถ้าได้ ได้มากน้อยเพียงใด และภูมิต้านทานที่ว่านี้สามารถคุ้มกันทารกแรกเกิดจากการติดเชื้อได้หรือไม่อย่างใด ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด และเป็นจุดมุ่งหมายของการวิจัยนี้

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

ทำการคัดเลือกสตรีอาสาสมัครจำนวน 20 ราย จากคนไข้ที่มารับบริการที่แผนกสูติ-นรีเวช โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยมีคุณสมบัติดังนี้

1. ไม่เคยได้รับการติดเชื้อ หรือได้รับการฉีดท้อกซอยด์
2. มีอายุระหว่าง 25–35 ปี
3. มีสุขภาพและพลานามัยสมบูรณ์
4. อยู่ในระหว่างตั้งครรภ์สัปดาห์ที่ 22–24

วิธีการ

1. การชักนำให้เกิดภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยัก

ให้อาสาสมัคร 10 รายแรกเป็นกลุ่มทดลองให้ได้รับการฉีดท้อกซอยด์ (Tetanol^{R}, Behringwerbe, West Germany) ปริมาณ 0.5 มล. ทางใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection) ในช่วงตั้งครรภ์สัปดาห์ที่ 22–24 โดยก่อนการฉีด ทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดควบคุม (self-control serum) ปริมาณ 5 มล.ไว้ จากนั้น 4 สัปดาห์เจาะเก็บตัวอย่างเลือดที่ 2 (primary-immune serum) และฉีดท้อกซอยด์ให้เข็มที่ 2 เมื่ออาสาสมัครมาคลอด เก็บตัวอย่างเลือดที่ 3 (secondary-immune serum) พร้อมตัวอย่างเลือดของทารก (cord serum) ประมาณ 10 มล. ทางสายสะดือหลังคลอด

อาสาสมัครที่เหลือ 10 ราย เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับการฉีดท้อกซอยด์ ตัวอย่างเลือด ทั้งจากมารดาและทารก เจาะเก็บเฉพาะในช่วงที่มาคลอด ในปริมาณและวิธีการเดียวกันกับกลุ่มทดลอง

ตัวอย่างเลือดทั้งหมดที่ได้ ตั้งทิ้งให้แข็งตัว แล้วปั่นแยกเอา serum ใส่หลอดทดลองเก็บใส่ตู้แช่แข็ง (–20°C) สำหรับใช้ทดสอบต่อไป

2. การเตรียมสารเพื่อการทดสอบ

2.1 การเตรียม antigen

Antigen ที่ใช้ คือ tetanus toxoid ที่เกาะติดอยู่กับเม็ดเลือดแดงแกะ (SRBC)

2.1.1 การเตรียม SRBC suspension นำ SRBC ซึ่งแขวนลอยใน Alsevior's solution มาปั่นแยกเอาเฉพาะเม็ดเลือดด้วย refrigerated centrifuge เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างเม็ดเลือดด้วย normal saline solution (NSS) แล้วเตรียม SRBC ให้มีความเข้มข้น 10% ด้วย 0.15 M phosphate-buffered saline (PBS) pH 7.2 fix SRBC ด้วย 2.5% glutaraldehyde ล้าง fixative ออก แล้วเตรียมให้เป็น 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 แล้ว ผสมกับ 45 มล. 0.1 M aceate buffer pH 4 และ 0.5 มล. tetanus toxoid (Lot no. 250 2,000 Lf/ml, องค์การเภสัชกรรม) ซึ่งได้ทดสอบหาอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมไว้แล้วเข้าด้วยกัน นำอุ่นในตู้อบที่ 37°C จากนั้นล้าง SRBC ด้วย NSS 3 ครั้ง เตรียมให้เป็น 0.5% T-SRBC ด้วย serum diluent (SD = 1% normal rabbit serum ใน PBS)

อัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของ tetanus toxoid คืออัตราส่วนความเข้มข้นต่ำสุดที่เมื่อทดสอบปฏิกริยากับ standard antitoxin แล้วให้ผล titre สูงสุด ในการทดลองนี้อัตราส่วนของ tetanus toxoid ที่ใช้คือ 1 : 256

2.2 การเตรียม **antibody**

Serum ที่เจาะเก็บจากอาสาสมัคร นำมา inactivate เพื่อทำลาย complement ที่ 56°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเติม packed SRBC 2-3 หยด เขย่า ตั้งทิ้งในอุณหภูมิห้อง 30 นาที เพื่อขจัด haemagglutinating factor ที่ไม่จำเพาะออกไป แล้วปั่นแยกเอา SRBC ออก จะได้ serum ที่พร้อมที่จะใช้ทดสอบต่อไป

2.3 การเตรียม **standard antitoxin**

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

3. การตรวจหาปริมาณภูมิต้านทาน

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

การทดลองใช้ microtitre plate ที่มีก้นหลุมเป็นรูปทรงกลม ใช้ SD เป็น medium ในการทำ half-serial dilution ของ serum จากทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม จากนั้นเติม T-SRBC ตั้งทิ้งในอุณหภูมิห้อง 24 ชม. แล้วอ่านผล

ในการตรวจหา antitoxin titre ได้ทำการทดสอบปฏิกิริยา standard antitoxin กับ TRBC serum กับ normal SRBC และ SD กับ T-SRBC ควบคู่ไปด้วย เพื่อใช้เป็น positive และ negative control ตามลำดับ

ผลการทดลองอ่านได้จาก titre ของการเกิดปฏิกริยา โดยมีปฏิกริยาการทดสอบระหว่าง standard antitoxin และ tetanus toxoid เป็นตัวเปรียบเทียบ และค่า antitoxin titre ที่ได้ นำมาคำนวณเป็นปริมาณ antitoxin unit (A.U.) ใน serum ได้ โดยอาศัยหลักการที่ว่า titre สูงสุดของ serum ที่เกิดปฏิกริยาให้มีปริมาณ antitoxin unit เท่ากันกับปฏิกริยาที่ titre สูงสุดของ standard antitoxin

ในการทดลอง ทำการทดสอบปฏิกริยา 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

การทดสอบปฏิกริยาด้วย PHA ให้ผลดังนี้

	Antigen	Antibody	Antitoxin titre
Postitive 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 antioxin ให้ antitoxin titre 1 : 512 ในการเกิดปฏิกริยากับ T-SRBC คิดเป็นปริมาณ antitoxin unit 0.003 iu/ml ปฏิกริยาการทดสอบระหว่าง serum จากอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มกับ T-SRBC แสดงในตารางที่ 1 และ 3 ส่วนปฏิกริยาการทดสอบระหว่าง N-SRBC กับ serum และ T-SRBC กับ SD พบว่าไม่เกิดปฏิกริยาในการทดสอบแต่อย่างใด

การเก็บ serum อาสาสมัครกลุ่มทดลองเก็บทั้งสิ้น 15 ราย พบว่าเจาะเก็บได้ครบถ้วนเพียง 9 ราย อีก 6 ราย ไม่ได้มาให้เก็บตัวอย่างตามขั้นตอนการทดลอง โดย 2 รายแรกได้รับท้อกซอยด์ไป 1 เข็ม อีก 3 ราย ได้รับไปครบ 2 เข็ม แต่ไม่ได้มาคลอดบุตรที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และรายสุดท้ายได้ติดตามการทดลองมาตลอด แต่มีข้อขัดข้องในช่วงที่มาคลอด ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดไว้ได้

การทดสอบปฏิกริยาระหว่าง serum อาสาสมัครในกลุ่มทดลองกับ tetanus toxoid พบทุกรายมีระดับ antitoxin ต่อเชื้อบาดทะยัก สูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค (0.01 iu/ml) ไม่ว่า serum ที่นำมาทดสอบเป็น self-control primary-immune หรือ secondary-immune serum (ตารางที่ 1) เมื่อได้รับท้อกซอยด์เข็มแรก อาสา–สมัครส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70) มี antitoxin เพิ่มขึ้น และหลังได้รับท้อกซอยด์เข็มที่ 2 อาสาสมัคร(ประมาณร้อยละ 70) ยิ่งมีปริมาณ antitoxin สูงขึ้น (ตารางที่ 1) ตัวอย่างเลือดทารก เมื่อนำทดสอบปฏิกริยาพบว่า ทุกรายมีระดับ antitoxin สูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ดี antitoxin ดังกล่าวของทารกพบว่าเกือบทุกราย (ประมาณร้อยละ 90) ต่ำกว่าระดับ ที่ตรวจพบใน secondary-immune serum ของมารดา ซึ่งเก็บในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน เว้นเพียง 1 ราย ที่พบมีระดับเดียวกันกับมารดา นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบ antitoxin ของทารกกับ self-control serum ของมารดา พบว่าประมาณร้อยละ 60 มีระดับสูงกว่า และมีระดับเท่ากันหรือต่ำกว่าพบประมาณร้อยละ 20 เท่ากัน

การเจาะเก็บ serum อาสาสมัครกลุ่มควบคุมได้ทำการคัดเลือดไว้ 12 ราย เจาะเก็บได้ครบถ้วนทั้งหมด

การทดสอบปฏิกริยาของ serum อาสาสมัครกลุ่มควบคุมต่อเชื้อบาดทะยักพบว่า ตัวอย่างเลือดมารดาส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70) มีระดับ antitoxin สูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค (ตารางที่ 3) เว้นแต่ 1 ราย ที่ตรวจไม่พบ ตัวอย่างเลือดทารกส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70) ตรวจไม่พบปริมาณ antitoxin ที่พบเพียง 3 ราย ซึ่งทุกรายมี antitoxin สูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบระดับ antitoxin ที่ตรวจพบใน serum มารดา และ cord serum ทารก พบว่า ในมารดาเกือบทุกรายสูงกว่าในทารก เว้นแต่ 1 ราย ที่มีระดับเท่ากัน และอีก 1 ราย ตรวจไม่พบปริมาณ antitoxin ทั้งในมารดาและทารก

การทดลองได้กำหนดให้ การฉีด เข็มที่ 1 และ 2 มีช่วงห่างกัน 4 สัปดาห์ แต่ในทางปฏิบัติพบว่า หลังจากได้รับท้อกซอยด์ไปแล้ว 1 เข็ม อาสาสมัครบางรายมาให้เก็บตัวอย่างเลือดและรับการฉีดท้อกซอยด์เข็มที่ 2 ล่ากว่าขั้นตอนที่กำหนดไว้ อย่างไรก็ดี ผลการตรวจหา antitoxin ในตัวอย่างเลือดให้ผลใกล้เคียงกัน ไม่ว่าช่วงห่างของการเจาะเก็บดังกล่าวเป็น 4, 5, หรือ 6 สัปดาห์

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) Self-control serum	1^{ry} immune serum	2^{ry} immune serum	Cord serum titre (iu/ml)	Percentage of maternal antitoxin transmitted
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	0.114	0.072	50.0
9	0.009	0.018	0.072	0.036	50.0
10	0.036	0.048	—	—	—
	$\bar{X}$ = 0.069	$\bar{X}$ = 0.146	$\bar{X}$ = 0.368	$\bar{X}$ = 0.088	$\bar{X}$ = 50.0

Table 2 *Distribution of tetanus antitoxin units in maternal and cord sera following a tetanus toxoid 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	1*	1*
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**	**10**	**10**

* *Negative result of the antitoxin titration*

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	150
2	0.384	0.096	25
3	0	0	0
4	0.144	0.072	50
5	0.009	0	0
6	0.019	0	0
7	0.009	0	0
8	0.009	0	0
9	0.018	0	0
10	0.036	0	0
11	0.036	0	0
12	0.036	0	0
	$\bar{X}$ = 0.07	$\bar{X}$ = 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	4*	9**
0.01-0.09	6	2
0.1 -0.9	2	1
Total	**12**	**12**

Negative result of the antitoxin titration:

* *1 case for maternal serum*

** *9 cases for cord sera*

วิจารณ์

ในการทดลองนี้ ประวัติการติดเชื้อหรือฉีดท้อกซอยด์ของอาสาสมัครได้จากการสอบถามจากความจำ ซึ่งต้องมีประวัติไม่เคยได้รับการติดเชื้อหรือฉีดท้อกซอยด์มาก่อน แต่จากการทดลอง พบว่าแม้ในตัวอย่างเลือดควบคุมของมารดากลุ่มทดลอง ซึ่งเจาะเก็บก่อนที่ได้รับการฉีดท้อกซอยด์ ยังพบมีภูมิต้านทานสูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค (เฉลี่ย 0.069 iu/ml ตารางที่ 1) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าประวัติการติดเชื้อหรือฉีดท้อกซอยด์ของอาสาสมัครคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง กล่าวคือ อาจเคยได้รับท้อกซอยด์แต่จำไม่ได้ หรือไม่ทราบว่าเป็นท้อกซอยด์บาดทะยัก

หรืออาจไม่เคยได้รับท้อกซอยด์หรือติดเชื้อบาดทะยักจริงแต่อาจเป็นเพราะภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยัก สามารถได้รับการชักนำให้เกิดขึ้นในร่างกาย โดยการได้สัมผัสกับเชื้อตามธรรมชาติ (Naturally acquired immunity) ซึ่งเป็นการติดเชื้อโดยไม่ปรากฏอาการได้ (Hoeprick, 1977 ; Krugman and Katz, 1981 ; Furste, 1982) ปรากฏการณ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากรายงานของ Rao และ Raman (1980) ที่ศึกษาถึง antibody response ต่อการได้รับท้อกซอยด์บาดทะยักพบว่าร้อยละ 11.7 ของอาสาสมัคร สามารถตรวจพบภูมิต้านทานได้ก่อนที่จะได้รับการปลูกภูมิคุ้มกัน และ Veronesi (1983) พบว่าภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยักสามารถตรวจพบได้สูงเกินกว่า 12.5 iu/ml ในตัวอย่างเลือดของคนที่ไม่เคยได้รับท้อกซอยด์มาก่อน แม้ว่า George Dick (1978) ได้เคยรายงานไว้ว่าการสัมผัสกับเชื้อบาดทะยักในสภาวะปกติในธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดภูมิต้านทานได้ก็ตาม แต่ผลที่ได้จากการทดลองนี้มีแนวโน้มที่สนับสนุนตามรายงานของผู้วิจัยกลุ่มแรก

หลังได้รับท้อกซอยด์ 1 เข็ม อาสาสมัครส่วนใหญ่มีระดับภูมิต้านทานสูงขึ้น (เฉลี่ย 0.146 iu/ml สูงกว่าก่อนได้รับท้อกซอยด์ประมาณ 1 เท่า ตารางที่ 1) อาจเนื่องมาจากก่อนได้รับท้อกซอยด์ อาสาสมัครมีภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยักอยู่แล้ว การได้รับท้อกซอยด์ในปริมาณที่เหมาะสม เป็นการกระตุ้นซ้ำสามารถชักนำให้ภูมิต้านทานเกิดได้เร็ว และเพิ่มปริมาณมากขึ้นได้ แต่จากผลการทดลองพบว่า มีอาสาสมัครบางรายที่เมื่อได้รับท้อกซอยด์ 1 เข็มแล้ว ยังมีภูมิต้านทานคงอยู่ในระดับเดิมนั้น อาจเกิดจากสาเหตุของความแตกต่างในแต่ละบุคคล (Individual variation) ในเรื่องความไวในการตอบสนองต่อการชักนำให้สร้างภูมิต้านทานของร่างกาย ทั้งนี้เพราะเมื่อได้รับท้อกซอยด์เข็มที่ 2 พบว่ามีอาสาสมัครบางรายในกลุ่มดังกล่าวได้มีระดับภูมิต้านทานสูงขึ้น (เฉลี่ย 0.368 iu/ml สูงกว่าก่อนได้รับท้อกซอยด์ประมาณ 4 เท่า) ส่วนการตรวจหาระดับภูมิต้านทานของทารกในกลุ่มทดลองพบว่า ทุกรายมีระดับภูมิต้านทานสูงกว่าระดับป้องกันโรคเช่นกัน (เฉลี่ย 0.088 iu/ml ตารางที่ 1) เมื่อนำระดับภูมิต้านทานมาเปรียบเทียบกัน ระหว่างมารดาในช่วงที่ยังไม่ได้รับท้อกซอยด์กับทารก พบว่าในทารกส่วนใหญ่มีระดับสูงกว่า (ตารางที่ 1) แสดงว่าแม้มารดาจะเคยหรือไม่เคยได้รับท้อกซอยด์ก็ตาม หากได้รับการชักนำด้วยท้อกซอยด์ป้องกันบาดทะยัก โดยก่อนได้รับมีภูมิต้านทานระดับหนึ่งในร่างกายอยู่แล้ว จะสามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานให้แก่ทารกได้ ในระดับที่สูงพอที่จะปกป้องทารกจากการติดเชื้อได้ อย่างไรก็ดี ภูมิต้านทานของทารกเมื่อเปรียบเทียบกับระดับที่ตรวจพบในมารดาที่เจาะเก็บในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน พบว่าในมารดามีระดับสูงกว่า (เฉลี่ยประมาณ 3 เท่า) แสดงว่ามารดามีภูมิต้านทานในระดับสูงเพียงใดก็ตาม จะไม่สามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานระดับดังกล่าวให้แก่ทารกได้อย่างสมบูรณ์จนมีในระดับเดียวกันได้ ผลการทดลองนี้ได้รับการสนับสนุนจากผลงานวิจัยของ Petchclai และ Suwattika (1978) ซึ่งให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกัน แต่ขัดแย้งกับผลงานวิจัยของ Suri *et al.* (1964) ที่พบว่ามารดาที่ได้รับท้อกซอยด์ในระหว่างมีครรภ์ ส่วนใหญ่สามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานให้แก่ทารกในระดับที่ใกล้เคียงกับของมารดาได้ ในการนี้ Condrea *et al.* (1961) และ Nicol *et al.* (1960) เคยรายงานไว้ว่าภูมิต้านทานของทารกบางครั้งพบสูงกว่าหรือต่ำกว่าของมารดาได้ แต่จากการทดลองนี้ พบเพียง 1 รายที่ทั้งทารกและมารดามีภูมิต้านทานระดับเดียวกันและไม่พบในกรณีที่ทารกมีระดับภูมิต้านทานสูงกว่าของมารดาแต่อย่างใด นอกจากนี้จากรายงานของ Chandra (1976) ที่ว่า หากทารกคลอดหลังจากมารดาได้รับท้อกซอยด์เข็มที่ 2 เป็นเวลา 12 สัปดาห์แล้ว ทารกและมารดาจะมีภูมิต้านทานในระดับที่ใกล้เคียงกันนั้น พบว่าให้ผลขัดแย้งกับผลการทดลองนี้ ทั้งที่ทารกส่วนใหญ่ของการทดลองได้คลอดหลังจากมารดาได้รับท้อกซอยด์เข็มที่ 2 เป็นเวลา 12 สัปดาห์เช่นกัน แต่ภูมิต้านทานในทารกมีระดับต่ำกว่า

จากกลุ่มทดลอง ภูมิต้านทานระดับต่ำสุดของมารดาที่สามารถถ่ายทอดผ่านเข้าสู่ทารกได้คือ 0.072 iu/ml โดยที่ค่าเฉลี่ยและส่วนใหญ่ของภูมิต้านทานของมารดาในช่วงก่อนและหลังได้รับท้อกซอยด์ 2 เข็ม มีพิสัย 0.01-0.09 iu/ml และ 0.1-0.9 iu/ml ตามลำดับ และสามารถถ่ายทอดให้ผ่านเข้าสู่ทารกให้มีค่าเฉลี่ยและส่วนใหญ่ของภูมิต้านทานมีพิสัยที่ 0.01-0.09 iu/ml เช่นกัน(ตารางที่ 2) คิดเป็นจำนวนทารกที่ได้รับการถ่ายทอดร้อยละ 100 โดย

มีปริมาณภูมิต้านทานที่ได้รับจากมารดาต่าง ๆ กัน คิดเป็นอัตราส่วนโดยเฉลี่ยร้อยละ 50 ของปริมาณภูมิต้านทานในมารดา (ตารางที่ 1) โดยปริมาณภูมิคุ้มกันโรคมิได้แปรตามปริมาณภูมิต้านทานในมารดา

อาสาสมัครกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับท้อกซอยด์ให้ผลการตรวจหาระดับภูมิต้านทานคล้ายคลึงกับกลุ่มทดลอง คือมารดาส่วนใหญ่มีภูมิต้านทานสูงกว่าระดับป้องกันโรค (เฉลี่ย 0.07 iu/ml ตารางที่ 3) ทั้งนี้ด้วยสาเหตุเดียวกันกับกลุ่มทดลองที่กล่าวมาแล้วแม้ว่ามีบางรายตรวจไม่พบปริมาณภูมิต้านทาน แต่สาเหตุอาจเป็นเพราะว่ารายดังกล่าวมีภูมิต้านทานในระดับที่ต่ำมากเกินกว่าวิธีการตรวจหาที่ใช้นี้ตรวจพบได้ อย่างไรก็ดี ทารกที่เกิดจากมารดากลุ่มนี้พบว่า ส่วนใหญ่ตรวจไม่พบปริมาณภูมิต้านทานเช่นกัน อาจเป็นเพราะว่ามารดาในกลุ่มควบคุมนี้ แม้จะมีภูมิต้านทานในร่างกายใกล้เคียงกับมารดาในกลุ่มทดลองในช่วงก่อนได้รับท้อกซอยด์ แต่เมื่อไม่ได้รับการกระตุ้นซ้ำดังเช่นกลุ่มทดลอง ระดับภูมิต้านทานจึงไม่สูงพอที่จะถ่ายทอดไปให้แก่ทารกในครรภ์ได้ เว้นแต่มารดาบางรายซึ่งมีภูมิต้านทานอย่างต่ำในระดับ 0.072 iu/ml อยู่แล้ว จึงสามารถถ่ายทอดให้ทารกมีภูมิต้านทานได้ (ตารางที่ 3) มารดาและทารกส่วนใหญ่มีภูมิต้านทานอยู่ในพิสัยช่วง 0.01-0.09 iu/ml (ตารางที่ 4) แม้ค่าเฉลี่ยภูมิต้านทานที่ตรวจพบในมารดาจะมีค่าต่ำกว่าค่าเฉลี่ย ที่ตรวจพบในทารกก็ตาม แต่ค่าทั้งสองมีพิสัยในช่วงเดียวกันคือ 0.01-0.09 iu/ml (ตารางที่ 3–4) คิดเป็นจำนวนทารกที่ได้รับการถ่ายทอดร้อยละ 25 โดยมีปริมาณการถ่ายทอดโดยเฉลี่ยร้อยละ 58 ของระดับภูมิต้านทานในมารดา (ตารางที่ 3) และปริมาณภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดแก่ทารกในกลุ่มนี้ มิได้แปรตามปริมาณภูมิต้านทานในมารดาเช่นเดียวกัน

ผลจากการทดลองนี้เป็นที่น่าสังเกตว่ามารดาที่มีระดับภูมิต้านทาน 0.072 iu/ml หรือมากกว่า จึงสามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานแก่ทารกได้ และภูมิต้านทานที่ถ่ายทอดไปนี้มีระดับสูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรคได้ ส่วนมารดาที่มีภูมิต้านทานต่ำกว่า 0.072 iu/ml จะไม่สามารถถ่ายทอดภูมิต้านทานแก่ทารก ไม่เพียงไม่สามารถถึงระดับคุ้มกันโรค หากแต่ไม่สามารถตรวจพบปริมาณภูมิต้านทานได้เลย อย่างไรก็ตาม ปริมาณภูมิต้านทาน 0.072 iu/ml ในมารดาดังกล่าวนี้ ยังไม่สามารถใช้เป็นระดับมาตรฐานในการวิเคราะห์ถึงความสามารถในการถ่ายทอด หรือระดับภูมิคุ้มกันที่จะถ่ายทอดให้แก่ทารกได้ เว้นแต่มีการวิจัยเพิ่มเติมโดยมีประชากรตัวอย่างมากพอ จึงจะสรุปผลการทดลองในประเด็นนี้ได้

จากการทดลองนี้ จึงพอสรุปได้ว่าในสภาวะปกติตามธรรมชาติ ภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยัก สามารถได้รับการชักนำให้เกิดขึ้นในร่างกายได้ โดยการสัมผัสกับเชื้อตามธรรมชาติ อย่างไม่ปรากฏอาการ สตรีวัยเจริญพันธุ์โดยทั่วไป อาจมีภูมิต้านทานต่อเชื้อบาดทะยักในร่างกายในระดับหนึ่งซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในระดับป้องกันโรคได้อยู่แล้ว หากได้รับการกระตุ้นเพิ่มเติมโดยได้รับท้อกซอยด์ 2 เข็ม จะสามารถชักนำให้ร่างกายสร้างภูมิต้านทานเพิ่มขึ้นได้ในระดับสูง และสูงพอที่จะถ่ายทอดให้แก่ทารกในครรภ์ได้ มารดาที่ได้รับท้อกซอยด์ 2 เข็ม มีการถ่ายทอดภูมิคุ้มกันให้ทารกได้ในปริมาณร้อยละ 50 ของปริมาณภูมิต้านทานในมารดา และภูมิต้านทานที่ถ่ายทอดไปนี้สูงถึงหรือสูงกว่าระดับป้องกันโรค สามารถคุ้มกันโรคแก่ทารกแรกเกิดได้ร้อยละ 100 ส่วนมารดาที่ไม่ได้รับท้อกซอยด์มีการถ่ายทอดภูมิคุ้มกันแก่ทารกได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับ คือได้ในปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 58 ของปริมาณภูมิต้านทานในมารดา แต่ภูมิต้านทานที่ถ่ายทอดไปนี้ สามารถคุ้มกันโรคแก่ทารกแรกเกิดได้เพียงร้อยละ 25 ของจำนวนทารกทั้งหมด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ กองชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม กระทรวงสาธารณสุข ที่เอื้อเฟื้อ tetanus toxoid แผนกสูติ–นรีเวช โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้ให้ใช้สถานที่ในการเก็บตัวอย่างและทำวิจัย และเงินทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินที่ได้ให้การสนับสนุนโครงการวิจัยนี้

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 titanus texoid. 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 plaeental 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-roum 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 PD. 1977. Infectious Disease. 2hd 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 O, Corvazier R, Cheyrouse M, Reculard, P, and Sizaret 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 LQ 1980. Antibody response to tetanus toxoid during pregnancy. Indian. J Med Res 72 : 840-842.

Suri JC, Dhillon H, and Grewal 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.