



รายงานผลการวิจัย  
ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

4  
เรื่อง

ภูมิตำนานต่อเชื่อมมาเลเรียในผู้บริจาคโลหิต  
ในเขตที่มีการระบาดสูง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
โดย

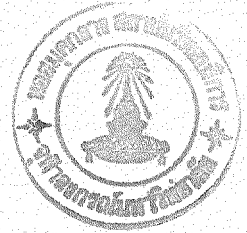
จท  
วท 15  
005959

อุปมา เลียงสว่างวงศ์  
นิกร คุสิตสิน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิจัยรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลงานวิจัย



ภูมิฐานทานต่อ เชื่อมมา เจริญ ในชุมชนจาก โสคติต ใน เขตทรมการระชาตสูง

โดย

อุบมา เสงยสว่างวงศ์

นิกร ตูสิตสิน

สถาบันวิจัยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กษายน 2532

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอแสดงความขอบคุณ แพทย์ผู้อำนวยการ โรงพยาบาลชลบุรี  
 แพทย์-พยาบาล ตลอดจนเจ้าหน้าที่ธนาคารเลือด หน่วยกาชาด จังหวัดชลบุรี ที่ได้  
 ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการจัดเก็บขอมูล และตัวอย่างเลือดจาก  
 ผู้บริจาคโลหิต รองศาสตราจารย์ สดศรี ไทยทอง ศูนย์วิจัยมาเลเรีย ภาควิชาชีว  
 วิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความเอื้อเฟื้อเมตตา  
 แสดงทอดเชอมาเลเรียที่ใช้ในงานวิจัย Professor Perlmann มหาวิทยาลัย  
 สดอกโฮม สวีเดน ที่ได้ให้ Seropositive serum ใช้ในการวิจัย ขอขอบคุณ  
 หน่วยชีววิทยาภูมิคุ้มกัน ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
 มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความเอื้อเฟื้อในการให้ใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์  
 คุณไพพรรณ นิทยานนท์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ พนักงานขับรถ ตลอดจน  
 เจ้าหน้าที่ธุรการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการ  
 วิเคราะห์ขอมูลและให้ความร่วมมือโดยทั่วๆ ไป และที่สุดขอขอบคุณฝ่ายวิจัย จุฬาล  
 งกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุน เงินทุนวิจัยระดับเอกอภิศึกษาแก่  
 โครงการนี้

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



โครงการวิจัย ภูมิสถานทานต่อ เชื้อมาเลเรีย ในผู้บริจาคโลหิตในเขตทหาร  
 ระบาดสูง  
 ผู้วิจัย อู๋ป๋มา เลียงสว่างวงศ์  
 นิกร ตูลิตลิน  
 เดือนและปีที่ท้าววิจัยเสร็จ กันยายน 2532

### บทคัดย่อ

ได้ศึกษาถึงภาวะภูมิสถานทานต่อ เชื้อมาเลเรีย ในเขตทหารระบาดสูง โดยทำการจัดเก็บข้อมูลและตัวอย่างเลือดจากผู้บริจาคโลหิตในเขตจังหวัดชลบุรี จำนวน 200 ตัวอย่าง จัดแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม เป็นกลุ่มที่เคยและไม่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรียกลุ่มละ 100 ตัวอย่าง ซึ่งแต่ละกลุ่มประกอบด้วย คนที่อาศัยใน/ต่างภูมิลำเนา จำนวน 69/31 และ 74/26 ตัวอย่าง ในกลุ่มที่เคยและไม่เคย ได้รับการติดเชื้อมาเลเรีย ตามลำดับ ตัวอย่างเลือดที่ได้นำมาวิเคราะห์หา ระดับภูมิสถานทาน โดยวิธี Indirect immunofluorescent antibody technique ระดับภูมิสถานทานที่ตรวจพบนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี Analysis of Variance พบว่าประชากรกลุ่มที่เคยหรือไม่เคย ได้รับการติดเชื้อมาเลเรีย เมื่อนำเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มคนในภูมิลำเนา และคนต่างภูมิลำเนา ระดับภูมิสถานทานที่ตรวจพบมีค่าใกล้เคียงกันหรือต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับประชากรที่เป็นคนในภูมิลำเนาหรือต่างภูมิลำเนา เมื่อศึกษาเปรียบเทียบระหว่างคนเคยและไม่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรียในแต่ละกลุ่ม พบว่ามีระดับภูมิสถานทานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรีย พบระดับภูมิสถานทานที่สูงกว่า

Project Title            Antimalaria antibodies in blood donors of  
   hyperendemic area  
Name of Investigators    Upama Liengswangwong and  
   Nikorn Dusitsin  
Year                        September, 1989

Abstract

Blood samples and history of exposure including the domicile were collected and recorded from 200 blood donors from a hyperendemic area. Donors were equally divided into 2 main categories of a malaria-exposed and an unexposed groups. They were 69/31 or 74/26 permanent/temporary residents in the exposed or unexposed group respectively. Blood samples were processed and examined for a presence of antimalaria antibodies by using an indirect immunofluorescent antibody technique. Statistical analysis was performed by using a method of the analysis of variance. Results obtained indicated that anti-malaria antibodies found in donors, from the malaria-exposed or the unexposed group ; were approximately identical when the permanent residents were compared to temporary ones. But if the comparison was carried out between the exposed and unexposed donors within the same group of residence, significantly distinct levels of antimalaria antibodies were detected and the higher level of antibody was found in the malaria-exposed group than the other.



สารบัญ

หน้า

หน้าหัวเรื่อง	
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
บทนำ	1
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
วัตถุประสงค์ในการวิจัย	4
ผลการวิจัย	7
การอภิปรายผล	10
ข้อสรุป	12
ข้อเสนอแนะ	13
เอกสารอ้างอิง	15
บรรณานุกรม	18
ภาคผนวก	19

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขหมู่ กท  
                    คท 15  
เลขทะเบียน 005959  
วัน.เดือน.ปี 2 พ.ย. 33



มาเลเรียเป็นโรคติดต่อสำคัญซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของหลายประเทศทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย มีการประมาณกันว่า ในปีหนึ่ง ๆ จะมีผู้ติดเชื้อแล้วป่วยเป็นโรคมาเลเรียประมาณ 100 ล้านคนทั่วโลก ทั้งก่อนหน้านั้นมาเลเรียเป็นโรคที่ถูกควบคุมได้แล้ว แต่ในช่วงกว่า 20 ปีที่ผ่านมา โรคนี้ได้กลับมาระบาดอีกครั้งหนึ่ง<sup>(14,21)</sup> ทั้งนี้เกิดจากสาเหตุหลายประการ เป็นต้นว่า ในภาวะที่ผ่านมานอกจากสาเหตุจากตัวพาหะของโรค คือยุงก้นปล่อง ได้ปรับตัวให้สามารถต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ฉีดพ่นทำลาย ทำให้ยากต่อการปราบปรามแล้ว<sup>(17)</sup> ตัวเชื้อมาเลเรียได้พัฒนาตนเองให้ต่อต้านยาที่ใช้รักษา ซึ่งเคยใช้ได้ผลดี เช่น quinine chloroquine และ falcidiar<sup>(17)</sup> ซึ่งเป็นตัวยาควบคุมระหว่าง pyrimethamine และ sulfadoxin ออกจาก แต่ที่สำคัญคือการที่ยังไม่สามารถมีมาตรการใดที่ใหม่อย่างจริงจังในการป้องกันการติดเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพได้

ประเทศไทยเป็นเขตที่มีมาเลเรียชุกชุมเขตหนึ่ง การระบาดของโรคพบมากในเขตชนบททางภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย โดยเฉพาะพื้นที่ตามแนวเขตชายแดนระหว่างไทยกับกัมพูชา และแนวเขตติดต่อระหว่างไทยกับพม่า ได้แก่ เขตจังหวัดชลบุรี ตราด จันทบุรี ตากและปราจีนบุรี รวมทั้งเขตชนบทในบางจังหวัดทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ ระนองและพังงา<sup>(10)</sup> อุบัติการณ์การติดเชื้อมาเลเรียในประเทศไทยยังพบค่อนข้างสูง แม้ว่าจจะมีรายงานว่า อุบัติการณ์การติดเชื้อมาเลเรียได้ลดต่ำลงถึง 2.2-3.6<sup>(10)</sup> คน จาก 286<sup>(11)</sup> คนต่อประชากร 1,000 คนต่อปี ในช่วงปี 2509-2515<sup>(10)</sup> จากปี 2490<sup>(11)</sup> ก็ตาม แต่ด้วยมาตรการการป้องกันการติดเชื้อ และการบำบัดรักษาหลังการติดเชื้อที่ยังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ รวมทั้งความไม่สามารถควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรค อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงอาชีพการงาน ซึ่งยังผลให้เกิดการโยกย้ายถิ่นที่อยู่อาศัยของประชากรในถิ่นมาเลเรียชุกชุมไปยังท้องถิ่นอื่น ๆ<sup>(17)</sup> ทำให้โรคมาเลเรียได้กลับมาระบาดอีกครั้งหนึ่ง โดยพบอุบัติการณ์การติดเชื้อ 7.1 คน และ 10.6 คน ต่อประชากร 1,000 ต่อปี ในช่วงปี 2521 และ 2524<sup>(10)</sup> ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม อุบัติการณ์การติดเชื้อมาเลเรียได้ลดต่ำลงเป็น 9.1 คนต่อประชากร 1,000 คนต่อปี ในช่วงปีต่อมา และลดลงเป็น 5.0-5.9 คนต่อประชากร 1,000 คนต่อปี ในช่วงปี 2526-2530<sup>(9,10,11)</sup>



มาเลเรียเป็นโรคติดต่อที่นอกจากเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขแล้วยังเป็นปัญหาสำคัญทางเศรษฐกิจและสังคมของมนุษยชาติโดยรวม ในปัจจุบันยังไม่มียาทางใดที่จะนำมาใช้ในการขจัดโรคนี้ให้หมดสิ้นไปได้ จึงได้มีการศึกษาทบทวนเน้นไปในการค้นหาวิธีเพื่อให้ได้มาซึ่งวิธีการในการควบคุมการแพร่พันธุ์ของตัวพาหะของโรค คือยุงก้นปล่อง เพื่อควบคุมการแพร่กระจายของตัวเชื้อ การค้นหาหายาตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ในการบำบัดรักษาหลังการติดเชื้อ (๑) และการศึกษาคนควาเพื่อให้ได้วัคซีนที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการฉีดป้องกันโรคมมาเลเรียต่อไป (๕, ๒๒) เพื่อประชากรจะได้ออกจากการติดเชื้อ และอาจสามารถทำการควบคุมขจัดและทำลายเชื้อไขมาเลเรียให้สูญสิ้นไปได้ในที่สุด

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความพยายามในการศึกษาคนควาเพื่อให้ได้มาซึ่งวิธีการที่ดีกว่า ในการควบคุมบำบัดรักษา และป้องกันโรคมมาเลเรียม ได้มีการปฏิบัติกันอย่างกว้างขวาง และอย่างต่อเนื่องในประเทศต่าง ๆ กัน การศึกษาคนควาโดยวิธีทางอิมมูโนวิทยา เป็นความพยายามในการวิจัยแนวทางหนึ่ง<sup>(16)</sup> จากการศึกษาพบว่า Merozoites ซึ่งเป็น Asexual blood stage หนึ่งของเชื้อมาเลเรียม (*Plasmodium falciparum*) สามารถสร้างโปรตีน (polypeptide) ชนิดหนึ่ง พบได้บริเวณเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดงภายหลังการติดเชื้อแล้ว<sup>(17,18)</sup> โปรตีนดังกล่าวนี้เชื่อกันว่าจะทำหน้าที่เป็นต้นกำเนิด (antigen) เหนี่ยวนำให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสร้างภูมิต้านทาน (antibody) ขึ้นต่อต้านได้<sup>(14)</sup> โดยภูมิต้านทานที่ถูกสร้างขึ้นสามารถตรวจพบได้ ในคนติดเชื้ออย่างเฉียบพลัน<sup>(14,21)</sup> หรือที่เคยติดเชื้อมาเลเรียมมาแล้วหลายครั้ง<sup>(14)</sup> รวมทั้งคนที่ไม่เคยติดเชื้อมาเลเรียม<sup>(20)</sup> ต่อมา ได้มีการศึกษาถึงภูมิต้านทานดังกล่าวนี้ พบว่ามีความสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อมาเลเรียมได้<sup>(4)</sup> โดยทำหน้าที่เป็นตัวช่วยขจัดการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงของตัวเชื้อ<sup>(1,21)</sup> ทำให้ร่างกายปลอดภัยจากการติดเชื้อได้ ด้วยผลการวิจัยนี้ทำให้เกิดความหวังว่าหากสามารถตรวจพบภูมิต้านทานในบุคคลกลุ่มดังกล่าวข้างต้น ในระดับที่สูงและในปริมาณที่มากพอ อาจสามารถนำมาใช้เป็นภูมิคุ้มกันสำเร็จรูป (ready-made antibody) ใช้ฉีดเพื่อเสริมสร้างภูมิต้านทานในลักษณะที่เป็น การเสริมภูมิคุ้มกันทางอ้อม (passive immunization) ได้<sup>(3,12)</sup> และยังได้มีการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับ plasmodial antigen ดังกล่าว ร่วมกับภูมิต้านทานต่อเชื้อมาเลเรียม เพื่อพัฒนาให้เป็นวัคซีนใช้ฉีดป้องกันโรคมมาเลเรียมต่อไปในอนาคต<sup>(10)</sup>

ประเทศไทย ซึ่งเป็นเขตหนึ่งที่มีเชื้อมาเลเรียมชุกชุม โดยเฉพาะทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ จึงเป็นที่น่าสนใจว่า ประชากรที่อาศัยในเขตนี้ดังกล่าว ทั้งที่เคยและไม่เคยได้รบการติดเชื้อมาเลเรียม มีภูมิต้านทานต่อเชื้อมาเลเรียมหรือไม่ มากน้อยเพียงใด และภูมิต้านทานที่ตรวจพบมีความสัมพันธ์กับประวัติการติดเชื้อมาเลเรียมหรือไม่ และด้วยเหตุที่ว่า ประชากรในเขตดังกล่าว มักมีการโยกย้ายถิ่นที่อยู่อาศัย ทำให้น่าสนใจที่จะศึกษาเพิ่มเติมในประเทศเดียวกัน เปรียบเทียบกันระหว่างประชากรในท้องถิ่นและที่โยกย้ายมาจากต่างถิ่น



วัตถุประสงค์ในการวิจัย

ในการวิจัยนี้ใช้เขตต่าง ๆ ของจังหวัดชลบุรี เป็นเขตเป้าหมายของโครงการ ได้แก่ เขตพนท้อวเภอเมือง พานทอง บ้านบึง บ่อทอง มั่นสันคัมและหนองใหญ่ ประชากรตัวอย่างเป็นอาสาสมัครที่มาบริจาคโลหิตให้แก่หน่วยกาชาดเคลื่อนที่ของจังหวัด การเก็บตัวอย่างชีวสารจากอาสาสมัคร ดำเนินการในระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคม งานวิเคราะห์ตัวอย่างชีวสารดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างเลือด

การจัดเก็บข้อมูลและการเจาะเก็บตัวอย่าง

ในการวิจัยนี้ ได้ทำการจัดเก็บข้อมูลประวัติการติดเชื้อมาเลเรีย-ภูมิลาเนา และทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดคนละประมาณ 2-3 มิลลิลิตร จากอาสาสมัครของโครงการ ตัวอย่างเลือดที่เจาะเก็บมาได้นำมาตรวจหาเชื้อในน้ำแข็งใสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดทดลองที่เลือดแข็งตัวแล้ว หลอในน้ำแข็งใสกล่อง ฝอย นำกลับมาห้องปฏิบัติการ เพื่อปั่นแยกเอาเฉพาะซีรัม ใส่หลอดทดลองเก็บใส่ตู้แช่แข็ง (-20 °C) เพื่อใช้ทดสอบหาระดับภูมิต้านทานในซีรัมต่อไป

ตัวอย่างเลือดที่เจาะเก็บมาได้ทั้งหมด 776 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างเลือดกลุ่มที่เคยและไม่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรีย 102 และ 674 ตัวอย่างตามลำดับ และแบ่งเป็นกลุ่มที่เป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในท้องถิ่นและโยกย้ายมาจากต่างถิ่น 513 และ 263 ตัวอย่างตามลำดับ โดยมีข้อกำหนดให้การอยู่อาศัยในเขตจังหวัดชลบุรีติดต่อกันนานอย่างน้อย 10 ปี โดยไม่มีการโยกย้ายออกนอกเขตเป็น "คนในภูมิลาเนา" อาสาสมัครที่อยู่นอกข้อกำหนดคนถือเป็น "คนต่างถิ่น"

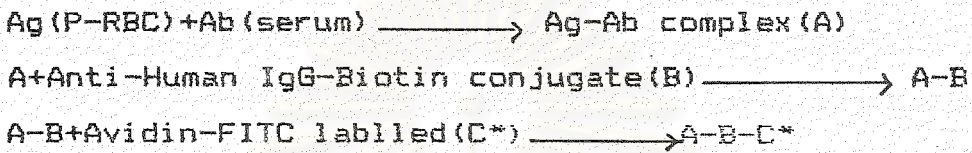
การคัดเลือกตัวอย่าง

ในการทดลอง กำหนดขอบเขตของการวิจัยในประชากรตัวอย่าง 2 กลุ่มๆ ละ 100 คน แต่จากการออกเก็บข้อมูลและตัวอย่างเลือด ได้จำนวนประชากรตัวอย่างเกินพอ จึงได้ทำการคัดเลือกตัวอย่างซีรัมที่จะใช้ทดสอบ เฉพาะตามจำนวนที่กำหนดไว้ในขอบเขตการวิจัย โดยใช้วิธี systematic random sampling ในการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เคยติดเชื้อมาเลเรีย ที่เป็นคนในภูมิลาเนาและต่างถิ่น 69 และ 31 ตัวอย่างตามลำดับ และตัวอย่างเลือดกลุ่มไม่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรียที่เป็นคนในภูมิลาเนาและต่างถิ่น 74 และ 26 ตัวอย่างตามลำดับ



การตรวจหาภูมิคุ้มกันตามทันทันในตัวอย่างเลือด

ในการวิจัย ใช้ทำการวิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันตามทันทันในตัวอย่างเลือด ที่เจาะเก็บมาได้โดยวิธี indirect immunofluorescent antibody technique (IFAT) โดยมีเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาแล้ว (parasitized red blood cell) เป็น antigen สำหรับวิเคราะห์หา antibody ในตัวอย่างซีรัมต่อไป โดยมีหลักการของปฏิกิริยา ดังนี้ :



การเตรียม Parasitized red blood cell (P-RBC)

parasite ที่ใช้ในการเตรียม P-RBC ที่ใช้ในการทดสอบ ได้จากการเพาะเลี้ยงตัวเชื้อไขมาเลเรียชนิด Plasmodium falciparum ในหลอดทดลอง นำมาทำเป็น monolayer ของ P-RBC โดยการนำ multitest slide ชนิด 8 หลุม มา coat ด้วย bicarbonate buffer เป็นเวลา 20 นาที ๓ ออหลุมห้อง จากนั้นดูด bicarbonate buffer ออก แล้วหยดตามด้วย P-RBC ที่เหมาะสม (5-10% parasitemia, 1% haematocrit) ตังทั้งไว้อีก 20 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดแดงเรียงตัวลงกันหลุม จากนั้นล้าง P-RBC ที่เกินพ้อออก โดยการจุ่มเบา ๆ 2-3 ครั้งใน phosphate-buffered saline (PBS) แล้ว fix cell ด้วย 1% glutaraldehyde ใน PBS 2-3 วินาที ก่อนที่จะนำ slide ไปจุ่มลงในน้ำกลั่น นำตังทิ้งให้แห้งในอู่หลุมห้อง เตรียมพร้อมเพื่อใช้ทดสอบต่อไป

การเตรียมตัวอย่างซีรัม

ตัวอย่างซีรัมที่ใช้ทดสอบ นำมา inactivate เพื่อทำลาย complement ที่ 56° C water bath เป็นเวลา 30 นาที

ตัวอย่างซีรัมที่ผ่านการ inactivate แล้ว นำมาเจือจางด้วย PBS ให้ได้ความเข้มข้นเป็น 5-fold-serial dilution คือ 1:5, 1:25, 1:125, ..... ตามลำดับจนกระทั่งได้ dilution สูงสุดที่อ่านผลเป็น positive result ของซีรัมใด ก็ถือเป็นจุดสิ้นสุดของการทำ dilution ของตัวอย่างซีรัมนั้น

### กระบวนการทดสอบระหว่างซีรัมและ P-RBC

multitest slide ที่แห้งแล้ว นำมาหยดซีรัม dilution ต่าง ๆ ลงในแต่ละหลุม ต่อกันให้ incubate ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นใช้ pasteur pipette ดูดซีรัม (excess antibody) ออก แล้วล้างตามด้วย PBS 3 ครั้ง develop slide โดยการเติม Anti-Human IgG-Biotin conjugate (AHG-Biotin, 1:1000 dilution in PBS) ต่อกันไว้ 30 นาที เพื่อให้ AHG-Biotin ต่อกันไปจับกับส่วนของ antibody ของ Ag-Ab complex ที่อยู่บน slide จากนั้นล้างออกด้วย PBS 3 ครั้ง แล้วเติม Avidin-Fluorescein Isothiocyanate labelled (Avidin-FITC, 1:1000 dilution in PBS) ต่อกันไว้อีก 30 นาที เพื่อให้ Avidin-FITC ต่อกันไปจับกับส่วนของ biotin ใน AHG-Biotin ล้างออกอีก 3 ครั้ง ด้วย PBS เป็นขั้นสุดท้าย

ในกระบวนการทดสอบทุกครั้ง จะเติม PBS หรือ seropositive serum แทนซีรัม dilution ต่าง ๆ เพื่อให้เป็น negative หรือ positive control ตามลำดับ

### การอ่านผลหลังกระบวนการทดสอบ

multitest slide ที่ผ่านกระบวนการทดสอบแล้ว นำมาย้อม parasite ด้วย ethidium bromide ปิด cover glass แล้วนำส่องดูรายละเอียดการติดสารเรืองแสงของเม็ดเลือดแดง โดยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ positive result อ่านได้จากการตรวจพบ P-RBC ย้อมติดสารเรืองแสงที่บริเวณเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดง โดย P-RBC ดังกล่าวอยู่ในระยะต้นของการเจริญเติบโต คือ อยู่ในในระยะของ ring form

### การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลจากการวิจัยนำวิเคราะห์ผลโดยใช้หลัก analysis of variance



### ผลของการวิจัย

ในการวิจัย ได้ทำการวิเคราะห์หาระดับภูมิต้านทาน ในตัวอย่างเลือด กลุ่มที่เคยได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย ที่เป็นคนในภูมิลำเนาและต่างถิ่น 69 และ 31 ตัวอย่างตามลำดับ พบว่า มีระดับภูมิต้านทานกระจายอยู่ในช่วงเดียวกันคือ อยู่ในช่วงระหว่าง 0.008-0.00032 (ตารางที่ 1) ส่วนการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด กลุ่มที่ไม่เคยได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย ที่เป็นคนในภูมิลำเนาและต่างถิ่น 74 และ 26 ตัวอย่างตามลำดับ พบว่ามีระดับภูมิต้านทานกระจายอยู่ในช่วงเดียวกันเช่นเดียวกันคืออยู่ในช่วงระหว่าง 0.2-0.00032 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงการกระจายตัวของภูมิต้านทานต่อ เชื้อมาเลเรีย ที่ตรวจพบ ในตัวอย่างเลือดกลุ่มต่าง ๆ

#### Dilution of serum (antibody titre)

	0.2	0.04	0.008	0.0016	0.00032	Total
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	0	0	14	36	19	69
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	9	7	15	22	21	74
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	0	0	8	16	7	31
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	2	1	6	9	8	26

A แสดงการ เคยหรือ ไม่เคย ได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย  
 B แสดงการ เป็นคน ในภูมิลำเนาหรือต่างถิ่น  
 A<sub>1</sub> B<sub>1</sub> คือกลุ่มคน ในภูมิลำเนาที่เคย ได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย  
 A<sub>2</sub> B<sub>1</sub> คือกลุ่มคน ในภูมิลำเนาที่ไม่เคย ได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย  
 A<sub>1</sub> B<sub>2</sub> คือกลุ่มคนต่างถิ่นที่เคย ได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย  
 A<sub>2</sub> B<sub>2</sub> คือกลุ่มคนต่างถิ่นที่ไม่เคย ได้รับการติดต่อเข้ามาเฉื่อย



จากผลการทดลองในตารางที่ 1 พบว่าคนในภูมิจำเนาที่เคยและไม่เคย  
 ได้รับความดีเสมอมาเฉลี่ย มีการกระจายตัวของระดับภูมิฐานทานต่างกัน คือกลุ่มที่  
 เคยได้รับความดีเสมอมา มีการกระจายตัวของภูมิฐานทานระดับต่ำสุดที่ 0.008 ซึ่งการ  
 กระจายตัวดังกล่าวอยู่ในระดับที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เคยได้รับความดีเสมอมา พบการ  
 กระจายระดับต่ำสุดที่ 0.2 ในทำนองเดียวกัน กลุ่มที่โยกย้ายมาจากต่างถิ่นมีรูปแบบ  
 การกระจายตัวของระดับภูมิฐานทานที่คล้ายคลึงกับกลุ่มแรก คือกลุ่มที่เคยได้รับความ  
 ดีเสมอมาเฉลี่ย ตรวจพบการกระจายตัวของภูมิฐานทานระดับต่ำสุดที่ 0.008 ซึ่ง  
 กระจายอยู่ในระดับที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เคยได้รับความดีเสมอมาพบการกระจาย  
 ต่ำสุดที่ 0.2 เช่นเดียวกัน

ตัวอย่างเลือดทุกกลุ่มคือ กลุ่มคนในภูมิจำเนาหรือต่างถิ่น ที่เคยหรือไม่  
 เคยได้รับความดีเสมอมาเฉลี่ย มีจำนวนการกระจายตัวสูงสุดระดับภูมิฐานทาน  
 เดียวกันคือ ที่ระดับ 0.00032 (ตารางที่ 1)

จากการทดลอง ตัวอย่างเลือดจากกลุ่มที่เคยได้รับความดีเสมอมาเฉลี่ย  
 เปรียบเทียบกันระหว่างคนในท้องถิ่นและต่างถิ่น พบว่าค่าเฉลี่ยระดับภูมิฐานทานที่  
 โกล่เคียงกัน คือ 0.00255 และ 0.00296 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ในทำนอง  
 เดียวกัน ตัวอย่างเลือดจากกลุ่มคนที่ไม่เคยได้รับความดีเสมอมาเฉลี่ยเปรียบเทียบ  
 กันระหว่างคนในท้องถิ่นและต่างถิ่น พบว่าค่าเฉลี่ยระดับภูมิฐานทานที่แม้จะไม่โกล่  
 เคียงกัน คือมีค่าเฉลี่ย 0.03029 และ 0.01942 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่  
 เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ  
 แต่ประการใด

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนของระดับภูมิตานทานที่ตรวจพบในตัว-  
 อย่างเลือดกลุ่มที่เคยและไม่เคยได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ ที่เป็นคน  
 ในท้องถิ่นหรือต่างถิ่น

	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยระดับภูมิตานทาน	ค่าเบี่ยงเบน
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	69	0.00255	0.00283
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	74	0.03029	0.06456
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	31	0.00296	0.00306
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	26	0.01942	0.05374

A<sub>1</sub> B<sub>1</sub> คือ กลุ่ม ในภูมิลำเนาที่เคย ได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ  
 A<sub>2</sub> B<sub>1</sub> คือ กลุ่ม ในภูมิลำเนาที่ไม่เคย ได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ  
 A<sub>1</sub> B<sub>2</sub> คือ กลุ่มต่างถิ่นที่เคย ได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ  
 A<sub>2</sub> B<sub>2</sub> คือ กลุ่มต่างถิ่นที่ไม่เคย ได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ

จากตารางที่ 2 กลุ่มคน ในภูมิลำเนาที่เคย เปรียบเทียบกับที่ไม่เคย ใ้รับ  
 การติดต่อมาเรื่อยๆ พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับภูมิตานทานที่แตกต่างกัน คือ  
 0.00255 และ 0.03029 ตามลำดับ โดยกลุ่มคน ในภูมิลำเนาที่เคย ใ้รับการติดต่อ  
 มาเรื่อยๆ มีค่าเฉลี่ยระดับภูมิตานทานที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เคย ใ้รับการติดต่อ  
 มาเรื่อยๆ และความแตกต่างนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า  
 ทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ยภูมิตานทานที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มคนที่  
 ย้ายมาจากต่างถิ่นที่เคย เปรียบเทียบกับที่ไม่เคย ใ้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ พบ  
 ว่าค่าเฉลี่ยระดับภูมิตานทานที่แตกต่างกันเช่นเดียวกัน คือมีค่าเฉลี่ย 0.00296  
 และ 0.01942 ตามลำดับ โดยกลุ่มต่างถิ่นที่เคย ใ้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ มีค่า  
 เฉลี่ยระดับภูมิตานทานที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เคย ใ้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ ซึ่งความแตก  
 ต่างกันดังกล่าว เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ทั้งสองกลุ่ม  
 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน



การอภิปรายผล

ในการทดลองนี้ การคัดเลือกประชากรกลุ่มที่เคยและไม่เคยเป็นโรค มาเลเรีย ได้จากการชักถามประวัติการติดเชื้อมาเลเรีย ซึ่งจากผลการทดลอง การตรวจพบภูมิต้านทานต่อเชื้อมาเลเรียได้ทั้งในกลุ่มคนที่เคยและไม่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรียนั้น ในกรณีกลุ่มที่เคยติดเชื้อมาเลเรีย ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าร่างกาย ย่อมสามารถสร้างภูมิต้านทานให้ตรวจพบได้ในระดับหนึ่ง จากการชักถามประวัติการ ติดเชื้อมาเลเรีย พบว่าประชากรในกลุ่มมีประวัติการติดเชื้อมาแล้วกว่า 1 ครั้ง ทุกราย ซึ่งยอมทำใหม่ระดับภูมิต้านทานให้ตรวจพบได้ในระดับที่สูงยิ่งขึ้น ทั้งนี้เป็นไป ตามรายงานของ Deloron และคณะ<sup>(7)</sup> ที่พบว่าคนติดเชื้อมาเลเรีย เป็นครั้งแรก ไม่สามารถตรวจพบภูมิต้านทานในร่างกายได้ หรืออย่างน้อย ภูมิต้านทาน ดังกล่าวอาจมีระดับต่ำมาก จนไม่สามารถตรวจพบได้ และตามผลการทดลองของ Perlmann และคณะ<sup>(14)</sup> ที่รายงานว่า สามารถตรวจพบระดับภูมิต้านทานต่อเชื้อมาเลเรียได้ในคนที่เคยติดเชื้อมาแล้วหลายครั้งเท่านั้น ส่วนกลุ่มที่ไม่เคยได้รับการ ติดเชื้อมาเลเรียนานก่อน การที่สามารถตรวจพบระดับภูมิต้านทานได้นั้น อาจเกิดจาก สาเหตุหลายประการ เป็นต้นว่า ประชากรกลุ่มดังกล่าว อาจเคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรียนานก่อนแล้ว แต่จำไม่ได้และ/หรือไม่ทราบว่าเชื้อมาเลเรีย หรือ อาสาสมัคร ในกลุ่มนี้อาจเคยติดเชื้อมาเลเรียนานแล้วอย่างไม่ปรากฏอาการ (Asymptomatic malaria) เพราะร่างกายได้รับเชื้อมาเลเรียทีละน้อยซ้ำ ๆ กันหลายครั้ง เนื่องจากอาศัยในถิ่นมาเลเรียชุกชุม ร่างกายจึงสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อมาเลเรีย ขึ้นได้ ปรากฏการณ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากผลการทดลองของคณะผู้วิจัยหลาย กลุ่ม<sup>(2, 7, 14, 20)</sup> ที่พบว่าประชากรที่อาศัยในเขตที่มมาเลเรียระบาด สามารถตรวจพบภูมิต้านทานในร่างกายได้<sup>(14, 20)</sup> โดยตรวจพบได้ในระดับสูงและระดับกลาง ในคนที่อาศัยในเขตดังกล่าวติดต่อกันโดยไม่มีการโยกย้าย และที่โยกย้ายออกจากเขต ระบาดไปยังเขตปลอดมาเลเรียอย่างน้อย 2 ปี ตามลำดับ<sup>(7)</sup> และโดยผู้วิจัยกลุ่ม เดียวกัน ยังพบว่าระดับภูมิต้านทานที่ตรวจพบมีความเกี่ยวพันกับประวัติและจำนวน ครั้งของการติดเชื้อมาเลเรียอีกด้วย<sup>(7)</sup> นอกจากนี้จากรายงานที่ผ่านมานี้พบว่า ประชากรที่อาศัยในเขตมาเลเรียชุกชุม ได้สัมผัสกับเชื้อมาเลเรียซ้ำหลายครั้ง ทำให้ร่างกายสร้างภูมิต้านทานขึ้นได้ โดยไม่สามารถตรวจพบตัวเชื้อมาเลเรียใน กระแสโลหิตได้<sup>(2)</sup>



ผลจากการทดลอง ตัวอย่างเลือดจากกลุ่มที่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย พบว่าการกระจายตัวของระดับภูมิต้านทานกลุ่มคน ในห้องถื่น อยู่ในช่วง 0.008 - 0.00032 ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับกลุ่มคนต่างถื่นน (ตารางที่ 1) อาจเป็นเพราะว่า คนที่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย อาจจะต้องมีภูมิต้านทานต่อเข้ามาเฉลี่ย ในร่างกายกระจายอยู่ในระดับหนึ่ง ซึ่งใกล้เคียงกัน ไม่ว่าจะป่วยนั้นจะมีภูมิลำเนา ณ ที่ใดก็ตาม ในทำนองเดียวกัน ตัวอย่างเลือดจากกลุ่มที่ไม่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย พบการกระจายของระดับภูมิต้านทานของถื่นคน ในห้องถื่นและต่างถื่น อยู่ในช่วงเดียวกันเช่นกัน คือ 0.2 - 0.00032 (ตารางที่ 1) สาเหตุเช่นเดียวกับข้างต้น คือ อาจเป็นเพราะว่า ภูมิต้านทานต่อเข้ามาเฉลี่ย ในคนที่ไม่เคยได้รับการฉีดเข้า อาจมีการกระจายของภูมิต้านทานจากถื่นอยู่ในช่วงหนึ่ง ซึ่งใกล้เคียงกัน ไม่ว่าจะ เป็นคนใดก็ตาม แต่ผลการทดลองขัดแย้งกับรายงานของผูวจัยกลุ่มอื่นที่ว่า ประชากรในถื่นมาเฉลี่ยชุกชุมที่อาศัยอยู่โดยไม่มีการโยกย้าย จะมีระดับภูมิต้านทานสูงกว่ากลุ่มที่โยกย้ายออกไปยังถื่นปลอดมาเฉลี่ย > > อย่างไรก็ตาม ลักษณะการโยกย้ายของประชากรตัวอย่างของการทดลองทั้งสองต่างถื่น ในการทดลองนี้เป็นการโยกย้ายจากถื่นอนมายังถื่นมาเฉลี่ยชุกชุม ซึ่งอาจด้วยสาเหตุนี้จึงทำให้ ได้ผลของการทดลองที่แตกต่างกันไ้ และการที่คนในถื่นถื่น มีการกระจายตัวของระดับภูมิต้านทานไม่ต่างไปจากถื่นต่างถื่น ในกรณีเช่นนี้อาจเป็นได้ว่า คนต่างถื่นที่วานอาจเป็นคนที่เคยอาศัยในเขตที่มมาเฉลี่ยชุกชุม เขตอนมาก่อน ร่างกายจึงสร้างภูมิต้านทานต่อเข้ามาเฉลี่ยขึ้นได้

อย่างไรก็ตาม การกระจายตัวของระดับภูมิต้านทานที่ตรวจพบ ในคนที่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย ไม่ว่าจะ เป็นคนในภูมิลำเนาหรือต่างถื่นก็ตาม พบการกระจายตัวอยู่ในช่วงที่แคบกว่า และเริ่มตรวจพบการกระจายดังกล่าว ในภูมิต้านทานระดับที่สูงกว่าคนที่ไม่เคยได้รับการฉีดเข้า แม้ว่าส่วนใหญ่ของการกระจายตัวของระดับภูมิต้านทานในกลุ่มคนทั้งที่เคยหรือไม่เคยได้รับการฉีดเข้าที่เป็นทั้งคนในถื่นหรือต่างถื่น พบที่ระดับภูมิต้านทานที่ 0.0016 เดียวกันก็ตาม แต่ระดับเริ่มแรกของการกระจายภูมิต้านทาน ตรวจพบในระดับที่ต่างกัน (ตารางที่ 1)

จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยระดับภูมิต้านทานที่ตรวจพบ แม้ในกลุ่มคนที่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย โดยเปรียบเทียบระหว่างคนในหรือต่างถื่น และกลุ่มคนที่ไม่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย เปรียบเทียบระหว่างคนในหรือต่างถื่นเช่นกัน ได้พบว่า ค่าเฉลี่ยระดับภูมิต้านทานที่ไม่แสดงผลต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม (ตารางที่ 2) แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์กันในถื่นคนที่เคยหรือไม่เคยได้รับการฉีดเข้ามาเฉลี่ย ที่เปรียบเทียบกันระหว่างในถื่นคนในถื่นหรือคนต่างถื่นกันเอง พบว่า



กลุ่มคนเคยได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ ไม่ว่าจะเป็นคนในท้องถิ่นหรือต่างถิ่นก็ตาม ต่าง  
มาเฉลยระดับภูมิตานทานที่สูงกว่ากลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เป็นไปตาม  
ผลการทดลองในตารางที่ 1 กล่าวคือ เมื่อการกระจายตัวของระดับภูมิตานทานใน  
กลุ่มคนเคยได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ ตรวจพบที่ภูมิตานทานระดับสูง ย่อมส่งผลให้  
ระดับภูมิตานทานเฉลี่ยที่ตรวจพบในกลุ่มสูงกว่ากลุ่มอื่นด้วย

ข้อสรุป

ผลจากการทดลองนี้ ขอสรุปได้ว่า

1. ประชากรที่อาศัยในถิ่นมาเรื่อยๆ ทั้งที่เคยหรือไม่เคยได้รับการ  
ติดต่อ มีภูมิตานทานต่อเชื้อมาเรื่อยๆ ได้ โดยกลุ่มที่เคยได้รับการติดต่อมาก่อนมี  
ภูมิตานทานในระดับที่สูงกว่า
2. ประชากรที่โยกย้ายมาจากต่างถิ่น ทั้งที่เคยหรือไม่เคยได้รับการติดต่อ  
เชื้อ มีภูมิตานทานต่อเชื้อมาเรื่อยๆ ได้เช่นเดียวกัน โดยกลุ่มเคยติดต่อมีภูมิตาน  
ทานในระดับที่สูงกว่า
3. ประชากรกลุ่มเคยหรือไม่เคยได้รับการติดต่อมาเรื่อยๆ เมื่อเปรียบ-  
เทียบระหว่างคนในและต่างภูมิลำเนา พบว่าภูมิตานทานในระดับที่ใกล้เคียงกันหรือ  
ต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





ข้อเสนอแนะ

การทดลองนี้เป็นเพียงการวิจัยพื้นฐาน เพื่อค้นหาความรู้เบื้องต้นใน เรื่องภาวะภูมิต้านทานต่อ เชื้อมาเลเรียในแตงมาเลเรียของประเทศไทย ซึ่งการวิจัย พบว่าคนที่อาศัยในแตงหรือนอกแตงมาเลเรีย จะเคยหรือไม่เคยเป็นโรคมาก่อนก็ตาม ในร่างกายต่างมีภูมิต้านทานทั้งสิ้น ต่างกันเพียงว่าคนเคยเป็นจะมีภูมิต้านสูงกว่า ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวนี้ ยังไม่สามารถนำไปใช้ในการอ้างอิงได้ เนื่องจากจำนวน ประชากรตัวอย่างยังไม่มากพอ อีกทั้งประชากรตัวอย่างที่คัดเลือกโดยวิธีการคัดเลือก ตัวอย่างของการทดลองนี้ ยังใช้เป็นตัวแทนของประชากรทั้งหมดไม่ได้ ประกอบกับ ประชากรตัวอย่างกลุ่มที่เป็น "คนต่างภูมิลำเนา" ของการทดลองนี้ มีผลการตรวจหา ภูมิต้านทานใกล้เคียงกับกลุ่มคนในภูมิลำเนาแตงมาเลเรีย จึงเป็นที่น่าสังเกตว่า "คนต่างภูมิลำเนา" ของการทดลองนี้ อาจจะเป็นกลุ่มเดียวกันกับ "คนในภูมิลำเนา" หรืออย่างน้อยก็เป็น "กลุ่มต่างภูมิลำเนา" ที่หากมิใช่เคยอาศัยในแตงมาเลเรียอื่นมาก่อนโยกย้ายมาอยู่ ก็อาจโยกย้ายมาอยู่ในแตงมาเลเรียเดียวกันกับ "คนในภูมิลำเนา" ได้ระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งนานพอที่จะทำให้ระบบภูมิคุ้มกันถูกเหนี่ยวนำให้สร้างภูมิต้านทานขึ้นได้ ดังนั้นการวิจัยต่อไป จึงควรมีจำนวนประชากรตัวอย่างมากพอ และมีวิธีการคัดเลือกตัวอย่าง ที่ครอบคลุมประชากรทั้งหมดถึงจน ให้เป็นตัวแทนของกลุ่มได้ เพื่อจะได้ผลงานวิจัย ที่ถูกต้องที่จะใช้เป็นพื้นฐานความรู้ในการวิจัยในประเด็นอื่น ๆ ต่อไป

เนื่องจากมาเลเรียเป็นโรคติดต่อที่มียุงกัดและการติดต่อเชื้อที่สูงท่ามกลาง โรคติดต่ออื่น ๆ และทารกแรกเกิดเล็กที่อาศัยในเขตพื้นที่มาเลเรียชุกชุม จะติดเชื้อมาเลเรียรุนแรงได้ เพราะโดยทั่วไป เด็กเล็กจะสามารถพัฒนา ภูมิคุ้มกันต้านทานต่อเชื้อมาเลเรีย ในช่วงแรกได้เมื่ออายุ 5 ขวบ และพัฒนา จนสามารถปกป้องตนเองได้เมื่ออายุ 10 ขวบ (20) ประชากรที่เจริญเติบโตแล้ว จึงสามารถสร้างภูมิต้านทานขึ้นป้องกันตนเองได้ และเนื่องจากประชากรที่อาศัยในแหล่ง มาเลเรียชุกชุม สามารถสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อมาเลเรียขึ้นได้ โดยไม่จำเป็นต้อง ได้รับความติดต่อ จึงเป็นที่น่าสนใจว่า น่าจะมีการศึกษาถึงภาวะภูมิต้านทานต่อ เชื้อ มาเลเรียในคนที่ไม่เคยได้รับการติดต่อมาก่อนอย่างจริงจัง เพื่อให้ได้มาตรฐาน หนึ่ง ซึ่งสามารถบ่งชี้ถึงระดับภูมิต้านทานที่ส่งผลในการคุ้มกันร่างกายให้ปลอดภัยจากโรค ได้ ซึ่งจากการทดลองของ Cohen และคณะ (3) และ Mc Gregor และคณะ (12) พบว่าภูมิต้านทานจากประชากรที่อาศัยในเขตมาเลเรียชุกชุมสามารถป้องกันการเป็น



มาเลเรีย ใต้เมื่อนำมาฉีดให้เด็กเล็กที่ได้รับการติดเชื้อมาแล้ว และในทำนองเดียวกัน การถ่ายทอตุ้มคุ้มกันทางอ้อมจากมารดาที่มูกุมตามทานต่อ เชื้อมาเลเรียผ่านทางรก ไปสู่ทารกในครรภ์ สามารถคุ้มกันทารกแรกเกิดจากการติดเชื้อมาเลเรีย หากปรากฏการณ์เช่นที่กล่าวมาเกิดขึ้น ประชากรในเขตมาเลเรียของไทย กุมตามทานที่ตรวจพบ ในประชากรกลุ่มต่างๆ โดยเฉพาะกลุ่มที่ไม่เคยได้รับการติดเชื้อมาเลเรีย หากตรวจพบได้ในระดับที่สูงพอ อาจนำมาใช้เป็นกุ่มคุ้มกันสำเร็จรูป (ready-made antibody) ให้ฉีดป้องกันโรคมาเลเรียต่อไปได้ ดังนั้นการวิจัยในอนาคตจึงควรทำการศึกษากิจ เรื่อง "ready-made antibody" โดยทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ความมาตรฐานของกุ่มตามทานที่ป้องกันโรคได้ดังที่กล่าวมาแล้ว ทั้งนี้เพราะการตรวจหาเฉพาะระดับกุ่มตามทาน ไม่สามารถบ่งชี้ภาวะคุ้มกันโรคของร่างกายได้ กุ่มตามทานที่ตรวจพบเป็นเพียงการบ่งชี้ถึงประวัติการติดเชื้อมาเลเรีย การเคยอยู่และ/หรือการอาศัยอยู่ในเขตมาเลเรียที่ชุกชุม และภาวะการระบาดของโรคมาเลเรียเท่านั้น (13) การศึกษากิจระดับกุ่มตามทานที่คุ้มกันโรคได้ คือการศึกษากิจภาวะกุ่มตามทานของร่างกายสามารถบ่งชี้กระบวนการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดของตัวเชื้อ ไซมาเลเรีย การวิจัยต่อไปจึงน่าจะครอบคลุมถึงการศึกษากิจกระบวนการบุกรุกและยับยั้งการบุกรุกของตัวเชื้อ ไซมาเลเรียของไทยกับกุ่มตามทานในประชากรไทย รวมทั้งการศึกษากิจความสัมพันธ์ระหว่างกุ่มตามทานที่ตรวจพบกับ plasmodial antigen หลายนชนิด ซึ่งได้ค้นพบแล้วว่า เป็นเช่นไร และความสัมพันธ์ดังกล่าวมีผลในการป้องกันการติดเชื้อมาเลเรียหรือไม่-อย่างไร

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



เอกสารอ้างอิง

1. Berzins, K., Perlmann, H., Wahlin, B., Carlsson, J., Wahlgren, M., Udomsangpetch, R., Bjorkman, A; Patarroyo, M.E. and Perlmann, P. (1986) Rabbit and human antibodies to a repeated amino acid sequence of a Plasmodium falciparum antigen, Pf 155, react with the native protein and inhibit merozoite invasion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83 : 1.
2. Bruce-Chwatt, L.J. (1980) Essential malariology. William Heineman Medical Books Ltd., London , 354 p.
3. Cohen, S., McGregor, I.A. and Carrington, S.P. (1961) Gamma globulin and acquired immunity to human malaria. Nature. 192 : 733.
4. Cohen, S. (1979) Immunity to malaria. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 203 : 233.
5. Cohen, S. (1982). Progress in malaria vaccine development. Br. Med. Bull. 38 (2) : 161.
6. Coppel, R.L., A.F. Cowman, R.F. Anders, A.E. Bianco, R.B. Saint, K.R. Lingelbach, D.J. Kemp and G.V. Brown. (1984) Immune sera recognize on erythrocytes a Plasmodium falciparum antigen composed of repeated amino acid sequences. Nature (London) 310 : 789.
7. Detoron, P., Bras, j.L., Savel, J. and Conlaud, J.P. (1987) Antibodies to the Pf<sub>155</sub> antigen of Plasmodium falciparum : measurement by Cell-Elisa and correlation with expected immune protection. Am. J. Trop. Med. Hyg. 37(1) : 22.

8. Edozien, J.C., Gilles, H.M. and Udeszo, I.O.K. (1962) Adult and cord blood gamma-globulin and immunity to malaria in Nigerians. *Lancet* 2 : 951.
9. Harinasuta, C. (1984) Mosquito-borne diseases in Southeast Asia. *Mosquito-Born Dis, Bull.* 1 (1) : 1.
10. Malikul, S. (1988) Current status of malaria in Thailand. paper presented at Seminar on "Malaria vaccine development" held at the Faculty of Tropical Medicine, the Mahidol University, Bangkok, Thailand, 17-18 May.
11. Malikul, S. (1988) The current situation of the anti-malaria programme in Thailand. *Southeast Asian J. Trop, Med. Pub. Hlth.* 19 (3) : 355.
12. McGregor, I.A., Carrington, S.P. and Cohen, S. (1963). Treatment of East African *P.falciparum* with West African-globulin. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 57:170.
13. Mc Gregor, I.A. (1983) Current concepts concerning man's resistance of infection with malaria. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 76 : 433.
14. Perlmann, H., Berzins, K., Wahlgren, M., Carlsson, J., Bjorkman, A., Patarroyo, M.E. and Perlmann, P. (1984) Antibodies in malaria sera to parasite antigens in the membrane of erythrocytes infected with early asexual stages of *Plasmodium falciparum*. *J. Exp. Med.* 159 : 1686.
15. Perlmann, H.K., Berzins, K., Wahlin, B; Udomsangpetch R., Ruangjirachuporn, W., Wahlgren, M. and Perlmann, P. (1987) Absence of antigenic diversity in Pf155, a major parasitic antigen in membrane of erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum*. *J. Clin.Microbiol.* 25 (12) : 2347.
16. Playfair, J.H.L. (1982) Immunity to malaria. *Br. Med. Bull.* 38 (2) : 155.



17. Prasittisuk, C. (1985) Present status of malaria in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth. 16 (1) : 141.
18. Robert, W.G. and Green, I. (1978) malaria immunization in Rhesus monkeys. J. Exp. Med. 148 : 1311.
19. Thaithong, S. (1983) Clones of different sensitivities in drug resistant isolates of Plasmodium falciparum. Bull. WHO. 61 (4) : 709.
20. Wahlgren, M., Bjorkman, A., Perlmann, H., Berzins, k. and Perlmann. P. (1986) Anti-Plasmodium falciparum antibodies acquired by residents in a holoendemic area of liberia during development of clinical immunity. Am. J. Trop. Med. Hyg. 35 (1) : 22.
21. Wahlin, B., Wahlgren, M., Perlmann, H. Berzins, K., Bjorkman, A., Patarroyo, M.E. and Perlmann, P. (1984) Human antibodies to a Mr. 155,000 Plasmodium falciparum antigen efficiently inhibit merozoites invasion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 : 7912.
22. Wernsdorfer, W.H. (1979) The orientation of immunological research in relation to the global antimalaria programme. Bull. WHO. 57 (Suppl 1) : 11.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บรรณานุกรม

1. Berzins, k., Wahlgren, M. and Perlmann, P. (1983) Studies on the specificity of anti-erythrocyte antibodies in the serum of patients with malaria. Clin. Exp. Immunol. 54 : 313.
2. Hadley, T.J., klotz, F.W. and Miller, L.H. (1986) Invarion of erythrocytes by malaria parasites : a cellular and molecular overview. Annu. Rev. Microbive. 40 : 451.
3. Miller, L.H., Howard, R.J., Carter, R., Good, M.F., Nussenzweig, V. and Nussenzweig, R.S. (1986) Research toward malaria vaccine. Science 234 : 1349.
4. Vernes, A., Haynes, J.D., Tapchaisri, P., William, J.L., Dutoit, E. and Diggs, C.L. (1984) Plasmodium falciparum strain-specific human antibody inhibits merozoite invasion of erythrocytes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 33 : 197.
5. Wilson, R.J.M. and Bartholomew, R.K. (1975) The release of antigens Plasmodium falciparum. Parasitol. 71 : 183
6. World Health Organization. (1983) Development of malaria vaccines : memorandum from a USAID/WHO meeting. Bull. WHO. 61 : 81

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

การเตรียม 0.15 M Phosphate-buffered saline pH 7.2 (PBS)

Stock solution : ๓๖ NaCl 48.6 g.  
 (PBS 0.9 M.) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.06 g.  
 NaHPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O 24.18 g.

นำผสมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 1 ลิตร

Working solution : เจือจาง Stock solution ด้วย  
 น้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:5 ก่อนนำมาใช้

การเตรียม Bicarbonate buffer pH 9.6

๓๖ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1.59 g.  
 NaHCO<sub>3</sub> 2.93 g.

นำผสมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 1 ลิตร

การเตรียม Ethidium bromide (10 ug/ml)

Stock solution : ๓๖ Ethidium bromide 1 mg.  
 ผสมน้ำกลั่นหรือ PBS 1 ml.

Working solution : เจือจาง Stock solution ด้วย  
 น้ำกลั่นหรือ PBS ในอัตราส่วน 1: 100  
 ก่อนนำมาใช้

สถาบันวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Analysis of Variance

	Sum of square	Degree of freedom	Mean Square	F-ratio
Treatment	0.0330	3	0.0110	1.9338
A	0.0307	1	0.0307	5.4010
B	0.0017	1	0.0017	0.2967
AB	0.0006	1	0.0006	0.1038
Error	1.1154	196	0.0057	
Total	1.1484	199		

$$F_{0.5} (1, 196) = 3.84$$

$$F_{0.5} (3, 196) = 2.60$$

	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	Total
B <sub>1</sub>	0.17568	2.24192	2.4176
B <sub>2</sub>	0.09184	0.50496	0.5968
Total	0.26752	2.74688	3.0144

