บทที่ ๒

การสอบสวนเอกสาร

๑. สมุฏฐานวิทยา (ETIOLOGY)

เชื้อบัคเตรีที่ทำให้เกิดโรคอหิวาต์ คือ Vibrio cholerae ซึ่งติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง มีลักษณะโค้งเล็กน้อย มี flagella แบบ monotrichous เชื้อนี้พบครั้งแรกโดย Koch (1883)

ปัจจุบันนี้ V. cholerae แบ่งออกเป็น ๒ biotypes คือ Classical และ El Tor เชื้ออหิวาต์ชนิด Classical เป็นสาเหตุของโรคอหิวาต์ในการระบาดทั่วโลก ๖ ครั้งแรก สำหรับชนิด El Tor พบครั้งแรกโดย Gotschlich (1906) โดยพบเชื้อนี้ในศพของนักแสวงบุญในประเทศอียิปต์ ต่อมาเชื้อชนิด El Tor นี้มีการแผ่กระจายไปอย่างกว้างขวาง และเป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคอหิวาต์ในปัจจุบัน (Mosley, 1970; WHO Chronicle, 1971)

Classical และ El Tor สามารถแยกให้เห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจน โดยปฏิกิริยาทางชีวเคมี หรือถ้ามองในแง่ของระบาดวิทยา พบว่า El Tor เกิดระบาดบ่อยกว่า Classical นอกจากนี้ชนิด El Tor สามารถมีชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานกว่าชนิด Classical มีความต้านทานต่อสารเคมี และยาปฏิชีวนะมากกว่าชนิด Classical (Felsenfeld, 1964 และ Felsenfeld, 1966) ด้วยเหตุนี้ทำให้แยกเชื้อ El Tor ได้มาก และบ่อยกว่า Classical ในเขตที่มีการระบาดของโรคอหิวาต์ El Tor ผลิตสารมีคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดแดงของแกะเกิดการแตก (hemolysin) ได้ ในขณะที่ Classical ไม่สามารถสร้างสารตัวนี้ได้ (Kraus, 1929) แต่เนื่องจากบาง strain ของอหิวาต์ชนิดนี้ได้สูญเสียคุณสมบัตินี้ไป ปัจจุบันเราจึงแยกอหิวาต์ชนิด El Tor ออกจาก Classical

โดยที่ El Tor จะมี resistance ต่อ Mukerjee's type IV cholera phage และต่อ polymixin B และยังมีความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงของไก่จับกลุ่มกัน (haemagglutination) (Mosley, 1970)

นอกจากจะแยกชนิดของอหิวาต์เป็น biotype แล้ว Kabeshima (1913) ยังได้แบ่งอหิวาต์ทั้งสองชนิดออกเป็น ๓ serotypes คือ Ogawa, Inabe และ Hikojima ทั้ง Ogawa และ Inaba สามารถจะจับกลุ่ม (agglutinate) กับ homologous immune serum ของมันเองใน titre ที่สูง แต่จะจับกลุ่ม (agglutinate) อย่างเบาบางกับ immune serum ที่มาจาก serotype อื่น ๆ สำหรับ Hikojima เป็น intermediate serotype ระหว่าง Ogawa และ Inaba ได้มีการศึกษา antigenic structure ของทั้ง ๓ serotype อย่างกว้างขวาง (Nobechi, 1923, Burrows et al, 1946; Watanabe and Verway, 1967) โดยได้แสดงให้ทราบว่า "A" เป็น antigenic determinant ที่เป็นส่วนร่วมของทั้ง ๓ serotype ดังนั้น "A" จึงถือเป็น specific antigen ของเชื้อ V. cholerae แอนติเจ็น "B" สามารถพบได้ใน Ogawa ส่วนแอนติเจ็น "C" มีเฉพาะใน Inaba ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เชื้ออหิวาต์ที่มีแอนติเจ็น "AB" คือ Ogawa serotype เชื้ออหิวาต์ที่แอนติเจ็น "AC" คือ Inaba serotype เชื้ออหิวาต์ที่มีแอนติเจ็น "ABC" คือ Hikojima serotype

๒. CERTAIN ANTIGENS ของเชื้ออหิวาต์

แอนติเจ็นของเชื้ออหิวาต์ได้ถูกเปิดเผยครั้งแรกจากการพบของ Pfeiffer (1894) พบว่าในช่องท้องของหนูตะเภาที่ได้รับเชื้ออหิวาต์มาก่อน จะมีแอนติบอดี้ โดยแอนติบอดี้นั้นสามารถทำให้เกิดการสลายตัวของเชื้ออหิวาต์ ซึ่งฉีดเข้าไปในช่องท้องภายหลัง (Vibriolysis) ในปี 1896 Gruber และ Durham ได้ทดลองให้เห็นถึงแอนติบอดี้ที่สามารถทำให้เชื้ออหิวาต์เกิดการจับกลุ่มกัน และได้มีนักวิทยาศาสตร์คนอื่น ๆ สนใจค้นคว้าในเรื่องนี้อีกมาก โดยพยายามแยก (isolate) และทำให้แอนติเจ็นของเชื้ออหิวาต์มีความบริสุทธิ์ (purification) รวมทั้งศึกษาในแง่

ของภูมิคุ้มกันต่อโรคอหิวาต์

๒.๑ Flagellar antigen

เป็นที่ยอมรับกันในปัจจุบันว่า เชื้ออหิวาต์ทุกตัวมี flagella หรือ "H" antigen ซึ่งพบว่าเป็นโปรตีนชนิด heat-labile (Sakazaki, 1970) โดยที่แอนติบอดี้ที่จำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจ็นนี้จะมีบทบาททางด้านภูมิคุ้มกันต่อเชื้ออหิวาต์ในลำไส้ (Bellamy, et al, 1975) Richards และ Dauglas (1978) ให้ข้อคิดว่า flagellar antigen น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับ adhesive antigen (adhesin) (nature ของ adhesin ยังไม่ทราบแน่ชัด) และเนื่องจากว่า pathogenesis ของเชื้ออหิวาต์ขึ้นอยู่กับ ๒ factors คือ การเกาะติด (adherence) กับ surface ของลำไส้ และการสร้าง toxin ดังนั้น flagella ของเชื้ออหิวาต์น่าที่จะมีผลต่อ pathogenesis และยังพบว่าเชื้ออหิวาต์ที่เคลื่อนไหวได้ (motile) จะ Virulent มากกว่า strain ที่ไม่เคลื่อนไหว (non-motile) (Jones และ Freter, 1976)

๒.๒ Pili (Fimbriae)

Duguid และ Gillies (1957) ได้ให้ความเห็นว่า บักเตรีที่มีพิไล (pili) จะเกาะ และจับกลุ่มอย่างรวดเร็วกับเม็ดเลือดแดงของหนูตะเภา ม้า กระต่าย หนูขาว แกะ เป็ด ไก่ และคน เช่นเดียวกันกับเซลล์ของ Candida albicans นอกจากนี้ยังสามารถเกาะติดอย่างรวดเร็วต่อ epithelial cells ในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายของหนูตะเภาและของคน ต่อมาพบว่าอหิวาต์ชนิด El Tor บางตัวจะมีพิไลอยู่ข้าง ๆ flagella (Barua และ Chatterjee, 1964) นอกจากนี้ Zinnaka et al, (1964) ยังได้พบว่า กลไกของ haemagglutination เกิดจากพิไลที่อยู่บนผิวของอหิวาต์ชนิด El Tor แต่ไม่เกิดกับอหิวาต์ชนิด Classical อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานเกี่ยวกับบทบาทของแอนติเจ็นชนิดนี้ในเรื่องภูมิคุ้มกันในลำไส้ เนื่องจากมีงานวิจัยเพียงเล็กน้อยที่ศึกษาเกี่ยวกับแอนติเจ็นชนิดนี้ แต่พิไลอาจจะ

เกี่ยวข้องกับการเกาะติด (adhesion) ของเชื้อต่อลำไส้ (Tweedy, 1968) อย่างไรก็ดี งานวิจัยของ Punsalang และ Sawyer (1973) ที่กล่าวถึงบทบาทของแอนติบอดี้ของฟิโลในการป้องกันโรคหนองใน

๒.๓ Endotoxin ของเชื้ออหิวาต์

เชื้ออหิวาต์จะมี somatic antigen ชนิด heat-stable อยู่บน outer membrane ของมัน ไม่ว่าจะเป็นอหิวาต์ที่ตาย หรือยังมีชีวิตอยู่ เช่นเดียวกับบักเตรีเป็นแท่งที่ย้อมติดสีแกรมลบ ปัจจุบันสามารถเตรียมแอนติเจ็นชนิดนี้ได้หลายวิธี เช่น สกัดสารนี้โดยใช้ trichloracetic acid (Boivin antigen) สกัดโดยใช้ฟีนอล (phenol-water extraction) ตามวิธีของ Westphal et al, (1952) หรือสกัด polysaccharide (Linton, 1932)

แอนติเจ็นชนิดนี้สามารถทนความร้อนที่ 100°C ได้นานหลายชั่วโมง และไม่สามารถ dialyse ผ่าน dialysis membrane ได้ Burrows (1968) เรียกสารนี้ว่า "type I toxin of V.cholerae" ต่อมาในปี 1969 Feeley และ Roberts เรียกสารนี้ว่า "endotoxin" ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของ endotoxin ก็คือ lipopolysaccharides (LPS)

แอนติบอดี้ต่อ endotoxin นี้ มีความสำคัญทั้งทางน้ำเหลืองวิทยา (Serology) และภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) เพราะว่าแอนติบอดี้นี้เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา agglutination, precipitation, differentiation of vibrios, complement fixation, phagocytosis, vibriolysis ที่มี complement ร่วมอยู่ด้วย และที่สำคัญคือ สามารถป้องกันโรคอหิวาต์ที่เกิดในคนได้ (Chaicumpa 1974)

๒.๔ Somatic protein antigens ของเชื้ออหิวาต์

ได้มีการแยก protein antigens ต่าง ๆ ของเชื้ออหิวาต์ โดยใช้วิธีการสกัด (extraction) หลายวิธี White (1934) ได้พูดถึง alcohol-soluble protein antigen ซึ่งมีส่วนคล้ายคลึงกับที่พบใน Salmonella (Q-protein) และพบว่าโปรตีนต่าง ๆ เหล่านี้เป็นทั้ง heat-labile และ heat-stable (White, 1940 b)

แอนติบอดี้ต่อโปรตีนชนิดทนความร้อนนี้ สามารถป้องกันการเกิดโรคอหิวาต์ (cholera infection) ใน experimental cholera ได้ (Neoh และ Rowley, 1972)

๒.๕ Haemolysin ของเชื้ออหิวาต์

Kraus (1929) เป็นนักวิทยาศาสตร์คนแรกที่กล่าวถึงสารที่สร้างโดยเชื้ออหิวาต์ชนิด El Tor ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดแดงของแกะเกิดการแตก เรียกสารนี้ว่า "hemolysin" การที่เชื้ออหิวาต์ชนิด El Tor สามารถสร้างสารฮีโมลัยซินได้ ในขณะที่เชื้ออหิวาต์ชนิด Classical ไม่สามารถสร้างสารนี้ได้นั้น ถือเป็นความสำคัญอย่างหนึ่งในการแยกเชื้ออหิวาต์ทั้งสองชนิดออกจากกัน นอกเหนือจากการแยกโดยใช้ความต้านทาน (resistance) ต่อ cholera group IV phage ของ Mukerjee ความต้านทานต่อ polymixin B รวมทั้งการจับกลุ่มของ ๒% เม็ดเลือดแดงของลูกไก่ อย่างไรก็ตาม อหิวาต์ชนิด El Tor ก็จะไม่สามารถสร้างสารนี้ถ้าเพราะเลี้ยงไว้บน artificial media นาน ๆ

Watanabe และ Verway (1966) สามารถแยก และทำให้ฮีโมลัยซินบริสุทธิ์ได้ พบว่าสารนี้ประกอบด้วย lipid ๙๕% และโปรตีน ๕% และถูกแยกจากเอนไซม์อื่น ๆ ของเชื้ออหิวาต์ เมื่อฉีดสารนี้เข้าผิวหนังของกระต่าย จะก่อให้เกิดการเน่าของเนื้อเยื่อ

antisera ที่ได้จาก crude hemolysin จะทำให้เกิดปฏิกิริยา precipitation, agglutination และยังมีความสามารถในการ neutralized พวก homologous antigen ในขณะที่ antisera ที่ได้จากฮีโมลัยซินที่บริสุทธิ์ (purified hemolysin) ไม่ทำให้เกิด agglutination (Watanabe, 1966) นอกจากนี้ antisera ต่อฮีโมลัยซินบริสุทธิ์ยังสามารถลดจำนวนเชื้ออหิวาต์ที่ป้อนให้แก่ลูกหนูถีบจักร อายุ ๕-๖ วัน มากกว่า ๕๐% ในขณะที่ลูกหนูถีบจักรที่ได้รับเชื้ออหิวาต์ใน normal rabbit sera จะมีการเพิ่มจำนวนของเชื้ออหิวาต์ (Samrejrongroj, 1978)

๒.๖ Haemagglutinin ของเชื้ออหิวาต์

Bales และ Lankford (1961) ได้พบแอนติเจ็นอีกชนิดหนึ่งของเชื้ออหิวาต์ ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้เกิด Haemagglutination เป็นโปรตีนชนิดไม่ทนความร้อน สารนี้อยู่ที่ผิว (surface) ของเชื้ออหิวาต์ เพราะสามารถจะกำจัด (remove) ออกจากตัวอหิวาต์ได้โดยปราศจากการแตกสลายของเซลล์อหิวาต์ (Chulasmaya และ Lankford, 1970) นอกจากนี้สารนี้ยังเป็นพิษต่อหนูถีบจักร สร้าง pyrogenic response ในกระต่าย และยับยั้ง vibriocidal activity ของแอนติบอดี้ของเชื้ออหิวาต์ สารนี้พบได้ในทุก strain ของเชื้ออหิวาต์ (Lankford และ Legsomburana, 1965) แต่จะมีมากบนเชื้อ El Tor

แอนติบอดี้ต่อฮีแมกกลูตินิน ซึ่งได้จากการ immunized กระต่ายด้วย complexes ของ vibrio cell-bound haemagglutinin จะให้การป้องกันโรคที่แน่นอนใน experimental cholera (Chaicumpa, และ Atthasishtha, 1977)

๒.๗ Exotoxin ของเชื้ออหิวาต์

เอ็กโซท็อกซิน เป็น choleragenic substance ที่สร้างโดยเชื้ออหิวาต์ในลำไส้ผู้ป่วยด้วยโรคอหิวาต์ หรือในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมามีผู้สามารถ

แยก และทำให้สารนี้บริสุทธิ์ได้จาก human pathogenic strain ในหลาย ๆ วิธีการ (Chaicumpa, 1974) สารนี้มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น choleragen (Finkelstein et al, 1964) Vascular permeability factor (Craig, 1965, 1966) Toxin หรือ type 2 toxin (Iwert et al, 1967) cholera enterotoxin (Evans และ Richardson, 1968) และ exotoxin (Spyrides และ Feeley, 1970) เป็นต้น

ส่วนใหญ่มักจะเรียก choleragen ประกอบไปด้วย ๒ หน่วยย่อย (subunits) คือ A และ B ในทางด้านชีววิทยา หน่วยย่อย A ประกอบด้วย ๒ โมเลกุลเดี่ยว ๆ ของ A1 และ A2 ซึ่งยึดเหนี่ยวกันด้วย disulfide bond 1 bond หน่วยย่อย A จะเกาะอยู่กับหน่วยย่อย B จำนวน ๔-๖ หน่วยย่อย โดย non-covalent bond หน่วยย่อย B ทำหน้าที่เกี่ยวกับการทำให้ท็อกซินนี้ไปเกาะกับ cell membrane ที่ Gm1 ganglioside จะประกอบด้วย 2 residues ของ cysteine ซึ่งอาจจะสร้าง intrasubunit bridge (Richards และ Douglas, 1978) หน่วยย่อย B สามารถทำให้เป็น cholera toxoid หรือ choleragenoid ซึ่งไม่มีคุณสมบัติของท็อกซิน แต่จะยังคงสามารถเกาะติดกับ cell membrane ได้ choleragenoid จะคงไว้ซึ่งคุณสมบัติของแอนติเจ็นของโมเลกุลเดิม และยับยั้ง action ของท็อกซิน โดยการไปกีดขวาง (block) ที่ receptor site สำหรับหน่วยย่อย A1 เป็น immunogen ที่ไม่ดี และไม่สามารถถูกลบล้าง (neutralized) โดย anti-cholera toxin antisera ได้ (Van Heyningen, 1976) แต่จะรับผิดชอบเกี่ยวกับ activity ของท็อกซินทั้งหมด โดยมีหน่วยย่อย A2 ทำหน้าที่ให้เสถียรภาพแก่ complex ของหน่วย A ก่อนที่หน่วย A จะออก action ต่อเซลล์ (Richards และ Douglas, 1978)

๓. PATHOGENESIS AND PATHO-PHYSIOLOGY ของเชื้ออหิวาต์

โรคอหิวาต์เป็นผลจากการได้รับเชื้ออหิวาต์ (viable pathogenic vibrios) เข้าไปในลำไส้เล็ก โดยเข้าไปกับน้ำดื่ม และอาหารที่รับประทาน จะมีบางส่วนของเชื้ออหิวาต์ที่เข้าสู่ร่างกายมีชีวิตรอดจากกลไก antimicrobial barrier ของน้ำลาย และจากภาวะความเป็นกรดของกระเพาะอาหาร สภาวะที่เหมาะสมในลำไส้เล็ก เช่น optimum pH จะช่วยให้เชื้ออหิวาต์เกาะติดกับ mucosa ในลำไส้ โดยมี factor ที่ช่วยในการเกาะติดของเชื้ออหิวาต์ เช่น อุณหภูมิและประจุบวก (cation) (Jones et al, 1976; Jone et at, 1976) เชื้ออหิวาต์จะมีการแบ่งตัว และสร้างท็อกซิน ที่เรียกว่า choleragen ขึ้น

เชื่อกันว่า การเกิดโรค (pathogenesis) ของโรคอหิวาต์เกิดจากการเกาะเกี่ยว (bind) ของ choleragen กับ membrane receptors ของ Gm1 ganglioside ของเซลล์บุผิว (epithelial cell) ในลำไส้ การเกาะเกี่ยวนี้เป็นผลทำให้เกิดการกระตุ้นต่อเอนไซม์ "adenyl cyclase" ของเซลล์บุผิว ทำให้ระดับของ cyclic AMP (adenosine monophosphate) ในเซลล์เพิ่มขึ้น (Peterson et al, 1971) เป็นผลทำให้เซลล์ขับถ่ายน้ำออกมากผิดปกติ เกิดการสูญเสียน้ำ และเกลือแร่ (electrolytes) ในร่างกายอย่างรุนแรง โดยสูญเสียไปทางระบบย่อยอาหาร (digestive tract) การสูญเสียน้ำ และเกลือแร่นี้ จะเกิดภายใน ๓๐ นาที และจะเพิ่มมากขึ้นในชั่วโมงที่ ๓-๔ การสูญเสียน้ำนี้ไม่มีผลต่อ histopathological change ในเนื้อเยื่อ (Friedman, H. 1978) ภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลอง ต่อ toxoid จะป้องกันได้ทั้งการเกิดโรคอหิวาต์ และยังป้องกันการเพิ่ม cyclase activity ของเซลล์บุผิวในลำไส้ด้วย (Friedman, 1978)

เชื่อกันว่า เชื้ออหิวาต์ขณะที่ทำให้เกิดโรค จะอยู่เฉพาะที่ลำไส้เท่านั้น ได้มีผู้ศึกษาในเรื่องนี้มากมาย เช่น Gangarosa et al, (1960) โดยใช้ Crosby capsules Norris และ Majno (1968) และ Elliot et al, (1970) ใช้กล้องจุลทัศน์ชนิดอีเลคตรอน พบว่าเชื้ออหิวาต์ทั้งตัวจะอยู่เฉพาะที่ลำไส้เท่านั้น

แต่ท็อกซินของมัน รวมทั้งชิ้นส่วน (fragment) ของแอนติเจ็นของอหิวาต์สามารถลอดทะลุ (penetrate) เข้าไปในเนื้อเยื่อที่อยู่ถัดเข้าไปจากเซลล์บุผิวของลำไส้ นอกจากนี้การสร้างแอนติบอดี้ในกระแสเลือด ซึ่งเป็นผลจากการให้รับประทาน toxin toxoid หรือแอนติเจ็นอื่น ๆ ของอหิวาต์เข้าไป ก็เป็นเครื่องแสดงให้เห็นว่า สารเหล่านี้สามารถลอดทะลุผ่านเซลล์บุผิวของลำไส้เข้าไปทำให้เกิดการสร้างแอนติบอดี้ในบริเวณชั้น lamina propria ของลำไส้ (antibody producing cells)

ในคนที่ได้รับการติดเชื้ออหิวาต์ พบว่าลำไส้เล็กส่วนบน (duodenum และ jejunum) เป็นส่วนที่มีการสูญเสียน้ำมากกว่าส่วน ileum (Banwell et al, 1970; Leitch et al, 1968)

น้ำที่ได้จากการท้องร่วง จะมี iso-osmotic เท่า ๆ กันกับในพลาสม่า ส่วนสภาวะของเกลือแร่จะใกล้เคียงกับเกลือแร่ที่อยู่ในน้ำในลำไส้ที่ปกติ (Hendrix, 1971) นอกจากนี้ Hendrix ได้พูดถึงกลไกของการสูญเสียน้ำในอาการท้องร่วงในอหิวาตกโรคว่า มีการขับน้ำออกจากลำไส้บริเวณของ crypts of Leiberkuhn มากกว่าปกติ ในขณะที่การดูดซึมน้ำกลับมาของ villi ของลำไส้เป็นไปอย่างปกติ

๔. รายละเอียดเกี่ยวกับ Protection และ Immunity ต่อเชื้ออหิวาต์

๔.๑ คำนำ

เป็นที่ทราบกันว่า แอนติเจ็นของอหิวาต์จะทำให้เกิด immune responses ในคนไข้ด้วยโรคอหิวาต์ในระยะพักฟื้น ในอาสาสมัคร และในสัตว์ทดลอง มีการศึกษาอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับการสร้าง จำนวนที่สร้าง ระยะเวลา และหน้าที่ของแอนติบอดี้เฉพาะต่อเชื้ออหิวาต์ (Kaur et al, 1971; Chaicumpa และ Rowley, 1972, 1973) Sack et al, (1966) ใช้วิธี agglutination และ vibriocidal assay อธิบายว่า การเกิดแอนติบอดี้ในจำนวนที่สูงในคนไข้อหิวาต์ในระหว่างเวลาที่อยู่ในโรงพยาบาล ไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงของอาการทางคลีนิค ซึ่งเป็นเครื่องชี้ให้เห็นว่า คนไข้จะไม่มี high humoral antibody ในระหว่างเป็นโรคอหิวาต์

๔.๒ Location of Protective Antibody

๔.๒.๑ บทบาทของ circulating antibody

Pfeiffer (1895) แสดงให้เห็นถึงบทบาทของ circulating bacteriolysin ที่จะต้านทานต่อ cholera infection ในหนูตะเภา ผลจากเรื่องนี้ Pfeiffer ชี้ให้เห็นถึง circulating antibody สามารถป้องกันโรคอหิวาต์ ดังนั้นต่อมาการเตรียม cholera vaccines จึงถูกกำหนดให้เป็นตัวสร้าง systemic antibody ในจำนวนที่สูง ด้วยความเชื่อว่า circulating antibody สามารถป้องกันโรคได้ แต่เนื่องจากเชื้ออหิวาต์เป็น non-invasive และจะอยู่เฉพาะที่ลำไส้เท่านั้น เพราะฉะนั้น circulating antibody จึงมีความสำคัญน้อยกว่า local antibody (copro-antibody) (Chaicumpa, 1974)

๔.๒.๒ Copro-antibody ใน experimental cholera

Besredka (1919-1927) เป็นคนแรกที่เปลี่ยนความคิดที่ว่า systemic antibody สามารถป้องกันโรคอหิวาต์ได้ และพูดถึงภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ (local immunity) และยังได้กล่าวว่าชนิดของภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ต่ออหิวาต์นั้นจะไม่เกี่ยวพันกับแอนติบอดี้ที่เฉพาะ (specific antibody) ต่อมามีนักวิจัยอื่น ๆ ได้แสดงให้เห็นภูมิคุ้มกันที่เป็นแอนติบอดี้เฉพาะที่ในโรคต่าง ๆ เช่น โรคคอพอก ปอดบวมจากเชื้อนิวมอเนีย และโรคใน genital tract เป็นต้น (Chaicumpa, 1974) Burrows et al, (1947) เป็นผู้พบ faecal agglutinin เรียกว่า "copro-antibody" ซึ่งสามารถให้ภูมิคุ้มกันแก่หนูตะเภาได้โดยดูการเพิ่มของ LD_{50} ของเชื้ออหิวาต์ Jenkin และ Rowley (1960) ศึกษาเกี่ยวกับ active และ passive immunization และได้ให้ความเห็นว่า โคโปรแอนติบอดี้มีบทบาทในการป้องกันโรค โดยทำหน้าที่เป็น opsonin

ถึงแม้ว่าผลของการศึกษาในเรื่อง active และ passive immunization ต่ออหิวาต์ในสัตว์ทดลองจะแตกต่างกันในแต่ละห้องปฏิบัติการ (Jenkin และ Rowley, 1960; Feeley, 1965; Curlin and Carpenter, 1970) แต่ก็ยังเชื่อได้ว่าโคโปรแอนติบอดี้สามารถป้องกันโรคอหิวาต์ได้

๔.๒.๓ Copro-antibody ในคน

จากการค้นพบว่าโคโปรแอนติบอดี้เป็น protective factor ในสัตว์ทดลอง Burrows et al, (1947, 1948) จึงได้ศึกษาการขับถ่าย (excretion) ของโคโปรแอนติบอดี้ในคน พบว่าในอาสาสมัครที่รับประทาน O-H cholera vaccine เข้าไปจะขับถ่ายโคโปรแอนติบอดี้ออกมาในอุจจาระในจำนวนที่สูง (high titre) และสูงกว่าในหนูตะเภา ระดับสูงสุดของโคโปรแอนติบอดี้จะมีก่อนระดับของแอนติบอดี้ในเลือดราว ๆ ๓ อาทิตย์ ซึ่งในระยะนี้ระดับของแอนติบอดี้ในเลือดสูงขึ้น ระดับโคโปรแอนติบอดี้จะลดลง ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าแอนติบอดี้ในอุจจาระไม่ได้ขึ้นกับแอนติบอดี้ในเลือด และไม่ได้มาจากเลือดเช่นกัน ถึงแม้ว่าพวกเขาจะพบว่ารูปลักษณะของอิมมิวโนกลอบูลินที่ได้จากอุจจาระอาสาสมัครเหล่านั้นไม่มีความแตกต่างจากอิมมิวโนกลอบูลินในซีรั่มก็ตาม

อย่างไรก็ตาม การสร้างโคโปรแอนติบอดี้ในสัตว์ทดลอง ในคนไข้ด้วยโรคอหิวาต์ และในอาสาสมัคร มีความแตกต่างกัน (variation) อย่างมาก และบางครั้งก็ไม่สามารถทำได้ (Chaicumpa, 1974) ผลที่ไม่สม่ำเสมอนี้อาจเป็นเพราะขาดเทคนิคที่ดีในการตรวจหาโคโปรแอนติบอดี้ (Bhattacharya และ Mukerjee, 1968) หรือเป็นผลจากตัวยับยั้ง agglutinin ในอุจจาระ (inhibitor) proteolytic enzymes ในลำไส้ spontaneous precipitation ของตัวอย่างอุจจาระ ความขุ่นของอุจจาระ เป็นต้น (Chaicumpa, 1974) ต่อมาได้มีการใช้เทคนิคที่ดีขึ้น ทำให้ตรวจพบโคโปรแอนติบอดี้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงขึ้นในอาสาสมัครที่ถูกก่อให้เกิดภูมิคุ้มกัน เช่น bactericidal assay, complement fixation test, mouse protection test, fluorescent

microscopy, haemagglutination, radio-immunoelectrophoresis, radio-immunodiffusion เป็นต้น (Chaicumpa, 1974) นอกจากเหตุผลดังกล่าวแล้ว ความแตกต่างในการตอบรับ (response) ของแต่ละบุคคลในการถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจ็น และการขับถ่ายอย่างไม่สม่ำเสมอของโคโปรแอนติบอดี้จากเนื้อเยื่อในลำไส้ก็เป็นสาเหตุของการตรวจพบในเปอร์เซ็นต์ที่แตกต่างกันด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตาม บทบาทโดยตรงของโคโปรแอนติบอดี้ในการป้องกันคนจากโรคอหิวาต์ก็ยังไม่มีการพิสูจน์แน่ชัด นอกจากนี้การสร้างโคโปรแอนติบอดี้ในคนที่ได้รับการฉีดวัคซีน (ทั้ง parenteral และ oral) ก็ไม่แน่นอน และมีระยะเวลาสั้น และปัจจุบันก็ยังไม่มีวัคซีนที่จะให้การสร้างโคโปรแอนติบอดี้มีความคงที่ และมีระยะเวลาที่ยาวขึ้น

๔. Origins ของโคโปรแอนติบอดี้

เนื่องจากมีการทดลองพบว่า โคโปรแอนติบอดี้สามารถป้องกันโรคอหิวาต์ได้ จึงได้มีการหันมาสนใจเกี่ยวกับจุดกำเนิดของสารนี้

๔.๑ Serum derived copro-antibody

มีผู้ให้ข้อเสนอแนะว่า แอนติบอดี้ในอุจจาระน่าจะมาจากแอนติบอดี้ในกระแสเลือด โดยการซึมผ่านเข้ามา Burrows et al, (1948) แสดงให้เห็นว่าหนูตะเภาที่ให้ passive immunization ด้วย immune serum ทางช่องท้องจะขับแอนติบอดี้ออกมาทางอุจจาระ อย่างไรก็ตาม การให้ passive protection นี้ก็ได้ผลแตกต่างกันในแต่ละห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากความแตกต่างของ maturation ของ lymphoid tissues ของลำไส้ ความแตกต่างของระดับ complement virulence ของเชื้ออหิวาต์ และจำนวนของแอนติบอดี้ที่ให้ รวมทั้งวิธีการที่ให้ นอกจากนี้ความสามารถในการป้องกันโรคจากการให้ passive immunization จะไม่สัมพันธ์กับระดับของแอนติบอดี้ที่สามารถเกิด agglutination หรือ vibriocidal แต่จะสัมพันธ์กับชนิดของอิมมิวโนกลอบูลินในแอนติซีรั่มนั้น พบว่าแอนติซีรั่มที่ให้ความสามารถในการป้องกันโรคต่ำ หรือไม่ให้เลย เมื่อให้ทาง

000398

intraperitoneal จะเป็นแอนติบอดี้ชนิด macro-globulin (19S) เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่แอนติบอดี้ชนิด 7S immuno-globulin สามารถให้การป้องกันโรคดีกว่า เมื่อให้ทาง parenteral ดังนั้นการที่ 7S immuno-globulin ให้การป้องกันโรคดีกว่า น่าจะเป็นเพราะสามารถซึมผ่านออกไปสู่ extravascular spaces ได้ (Feeley, 1965)

๕.๒ กลไกการส่งผ่านของ circulating antibody สู่ intestinal lumen

นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ให้ข้อคิดว่า นอกจากการซึมผ่านเข้าไปในกระเพาะของแอนติบอดี้จากซีรั่มแล้ว อาจเข้าโดยทางอื่นได้อีก เช่น

๕.๒.๑ แอนติบอดี้อาจจะผ่านเครื่องกีดขวางของลำไส้ (intestinal barrier) โดยทางน้ำดี

๕.๒.๒ แอนติบอดี้ในกระแสเลือดอาจจะเข้าสู่ลำไส้พร้อมกับ Lymphocytes ซึ่งจะผ่านเข้าไปในผนังลำไส้ เพราะมี Lymphocytes จำนวนมากถูกทำลายในลำไส้ (Chaicumpa, 1974)

๕.๒.๓ โดยเหตุที่เชื้ออหิวาต์จะอยู่เฉพาะที่ลำไส้เท่านั้น ซึ่งท็อกซินของมันจะก่อให้เกิด submucosal edema ทำให้มี Lymphocytic และ capillary permeability เพิ่มขึ้น อันอาจเป็นเหตุทำให้มี extravasation และ transudation ของแอนติบอดี้จากกระแสเลือดเข้าไปในลำไส้มากขึ้น ปรากฏการณ์นี้ บางครั้งเรียก "pathotopic potentiation (Chaicumpa, 1974)

๕.๒.๔ อิมมิวโนกลอบูลิน อาจเข้าสู่ลำไส้โดยการซึมผ่าน หรือปะปน (associate) ไปกับ secretion เช่น mucus

๕.๓ Copro-antibody synthesized locally

ต่อมานักวิทยาศาสตร์เริ่มกล่าวกันว่า โคโปรแอนติบอดี้ไม่ได้ขึ้นกับแอนติบอดี้ในซีรั่ม (McCleery et al, 1970; Kaur et al, 1972) โดยเชื่อ

กันว่าน่าจะมีการสร้างโคโปรแอนติบอดี้ในบริเวณทางเดินอาหาร โดยใช้เหตุผลของ Heremans (1959) ซึ่งเป็นผู้ค้นพบการ secrete ของ IgA โดย plasma cells บริเวณ lamina propria ซึ่ง IgA นี้ ปัจจุบันเชื่อกันว่าเป็นชนิดของอิมมิวโนกลอบูลิน ที่มีมากกว่าชนิดอื่นใน external secretion นอกจากนี้จากการใช้ toxin-antigen-specific immuno fluorescence Pierce และ Gowans (1975) พบว่าถ้าให้ toxoid ของอหิวาต์ทางปากแก่หนู จะมี specific-antibody-containing cells ในชั้น lamina propria

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการศึกษากันมากเกี่ยวกับโคโปรแอนติบอดี้ว่ามีจุดกำเนิดจากที่ใด ก็มีความเชื่อกันว่า parenteral vaccines สามารถสร้างโคโปรแอนติบอดี้ได้โดยที่อาจจะมีการส่งผ่านแอนติบอดี้ในเลือดเข้าสู่ลำไส้ หรือแอนติเจนจากวัคซีนสามารถไปยัง local mesenteric lymphoid cells ได้ และสร้างโคโปรแอนติบอดี้ขึ้นมา นอกจากนี้ โคโปรแอนติบอดี้ยังเกิดจาก oral หรือ gastro-intestinal vaccines

๖. <u>หน้าที่ของ protective antibody</u>

อาการทางคลินิคของโรคอหิวาต์ อาจไม่เกิดขึ้น ถ้าหากว่าเชื้ออหิวาต์ที่เข้าสู่ลำไส้ของคนนั้นไม่สามารถเจริญเติบโต และไม่สามารถสร้างท็อกซินได้ กลไกการป้องกันโรคนี้ ขั้นแรกจึงน่าจะเป็นชนิด antibacterial immunity คือทำให้บักเตรีตายก่อนที่จะเกาะกับผนังลำไส้ แต่ถ้าหากเชื้ออหิวาต์ยังคงมีชีวิตรอดอยู่ และเกาะติดผนังลำไส้ แบ่งตัว และสร้างท็อกซินได้ antitoxin ก็น่าจะให้การป้องกันในระยะนี้ได้ immunity ที่ร่างกายของคนเราต้องการเพื่อป้องกันโรคอหิวาต์เป็นชนิด humoral immunity อย่างแน่นอน

๖.๑ <u>Antibacterial immunity</u>

เป็นที่ทราบกันว่า วัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ซึ่งเตรียมวัคซีนโดยฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี หรือวัคซีนพวก purified somatic antigen สามารถให้ภูมิคุ้มกัน

แก่บุคคลที่ได้รับวัคซีนนั้น (Mosley et al, 1970) และไม่มีผู้ใดในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนนี้สร้าง antitoxin อย่างไรก็ตาม สามารถพบ antitoxin ได้เล็กน้อยในสัตว์ทดลองที่ถูก immunized ซ้ำหลาย ๆ ครั้งด้วย live vaccines (Chaicumpa, 1974)

แอนติบอดี้ที่ให้ antibacterial immunity เป็นแอนติบอดี้ที่ได้มาจาก heat-stable somatic antigens ของเชื้ออหิวาต์ (Neoh and Rowley, 1972) Holmgren และ Svennerholm (1977) พบว่า แอนติบอดี้ต่อ purified lipopolysaccharide (LPS) สามารถป้องกันอหิวาต์ได้ทั้งในคนและสัตว์ทดลอง โดยทำหน้าที่เป็น antibacterial immunity

แอนติบอดี้เฉพาะต่อแต่ละชนิด (type-specific antibody) มีความสำคัญในการให้ immunity ใน field trials พบว่า วัคซีนพวก monovalent (Inaba หรือ Ogawa) จะให้การป้องกันโรคเมื่อถูกติดเชื้อด้วย homologous strain ดีกว่าเมื่อถูกติดเชื้อด้วย heterologous strains และโดยที่ Inaba และ Ogawa มีแอนติเจ็น "A" เป็นแอนติเจ็นร่วม เมื่อดูความสัมพันธ์ทางด้านจำนวนของแอนติบอดี้ที่สร้าง พบว่า แอนติบอดี้ต่อแอนติเจ็น B (Ogawa strain) มีมากกว่าแอนติบอดี้ต่อแอนติเจ็นร่วม "A" นั่นคือแอนติบอดี้ต่อ type-specific จะมีมากกว่าและให้การป้องกันโรคดีกว่าแอนติบอดี้ต่อ cross-reactive (Holmgren และ Svennerholm, 1977)

กลไกการทำงานของ antibacterial antibody ยังไม่ชัดแจ้งนัก พบว่าไม่ใช่ทั้ง complement-mediated vibriolysis และ phagocytosis โดยใช้แอนติบอดี้ หรือ complement products เป็น opsonin (Bellamy et al, 1975) Freter (1965) กล่าวว่า กลไกการทำงานของแอนติบอดี้คือ จะไปป้องกันการเกาะติดของเชื้ออหิวาต์ต่อผิวของ mucosa และจากนั้นบักเตรีที่เกาะติดผนังลำไส้ไม่ได้เหล่านี้จะถูกชับไปสู่ลำไส้ใหญ่ โดยการบีบตัวตามปกติของลำไส้ (normal peristalsis) จึงทำให้บักเตรีเหล่านี้ไม่สามารถสร้าง toxin ได้ (Holmgren และ Svennerholm, 1977) ความคิดเห็นนี้ได้จากการให้ passive immuni-

zation ด้วย specific antibacterial antisera เข้าไปในลำไส้ ซึ่งสามารถลดจำนวนของอหิวาต์ที่ absorb อยู่ที่ลำไส้ได้เป็นจำนวนมาก การออกฤทธิ์ของ antibacterial antibody ของอิมมิวโนกลอบูลิน ๓ ชนิด พบว่า IgG IgA และ IgM สามารถที่จะป้องกันโรคอหิวาต์ได้ทั้งสิ้น ถ้ามีทั้ง ๓ ชนิดอยู่ในลำไส้

๖.๒ Antitoxic immunity

Holmgren และ Svennerholm (1977) สังเกตุพบว่าแอนติบอดี้ที่ได้จากการให้ purified cholera toxin จะให้การป้องกันโรคในสัตว์ทดลองดีกว่าการให้ cholera toxoid (choleragenoid) เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความสามารถในการทำให้เกิด non-specific immune responses (Northrup, 1972) บางครั้งอาจเป็น immunity ของตัวมันเอง หรืออาจเป็นผลจากบทบาทการป้องกันโรคของแอนติบอดี้ต่อ toxic "A" subunit โดยที่พวกเขาสามารถแยกแอนติบอดี้ต่อ subunit "A" และ subunit "B" ได้ และพบว่าจำนวนของ anti B จะมีมากกว่า anti A และมี capacity ในการที่จะป้องกันโรคในสัตว์ทดลองดีกว่าเช่นกัน

กลไกการทำงานของ antitoxic antibody พบว่า แอนติบอดี้ต่อหน่วยย่อย B จะทำหน้าที่ในการให้การป้องกันโรคดีกว่า โดยที่จะไปป้องกันการ bind ของท็อกซิน ต่อ Gm-1 ganglioside receptor ของเซลล์บุผิวลำไส้มากกว่าที่จะไปทำปฏิกิริยา (interact) กับ toxic site ของหน่วยย่อย A เมื่อศึกษาเกี่ยวกับชนิดของอิมมิวโนกลอบูลิน ปรากฏว่า IgG จะให้ neutralizing potency มากกว่า IgM ซึ่งไม่มี effect ในทางปฏิบัติในสัตว์ทดลอง (Holmgern, 1973) สำหรับบทบาทของ IgA นั้น Kaur et al, (1972) ได้รวบรวมเอกสารเกี่ยวกับการเตรียม IgA จากลำไส้กระต่ายส่วน crypts of Leiberkuhn ที่มีภูมิคุ้มกันแล้ว

๗. วัคซีนป้องกันอหิวาต์

๗.๑ คำนำ

ถึงแม้จะมีงานวิจัยมากมายเกี่ยวกับวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ในเวลา ๒๐-๓๐ ปีที่ผ่านมาก็ตาม ก็ยังไม่มี immunizing agent ใดที่จะป้องกันทั้งการเกิดโรคและการแผ่กระจายในหมู่ประชาชนได้ (Friedman, 1978) ในการทำ field trial ในประเทศฟิลิปปินส์ โดยใช้วัคซีนที่ผลิตจากอหิวาต์ชนิด Classical และ El Tor พบว่าวัคซีนจาก Classical ให้การป้องกันโรคได้เพียง ๕๐% ในระยะเวลา ๒ เดือน และจะลดลงในเดือนที่ ๓-๔ ในขณะที่วัคซีน El Tor ให้การป้องกันโรคได้ ๖ เดือน อย่างไรก็ตาม ในหมู่ประชาชนที่มีสุขาภิบาลที่ดี จะให้ความคุ้มครองโรคได้ดีกว่า (Azurin et al, 1967) Sommer และ Mosley (1973) กล่าวว่า ในการให้วัคซีนในเขต epidemic control ในประเทศบังคลาเทศนั้น ปรากฏว่าไม่ได้ผล

๗.๒ วัคซีนอหิวาต์ในปัจจุบัน

วัคซีนที่ใช้ในปัจจุบัน เป็นชนิดเซลล์ทั้งตัว (whole cell) ซึ่งนำไปทำให้หมดฤทธิ์ (inactivated) ด้วยความร้อน (heat-killed) หรือสารเคมีอื่น ๆ เชื้ออหิวาต์ที่ใช้ในการเตรียมวัคซีนมีหลาย strain บางแห่งอาจใช้ ๒-๓ serotypes รวมกัน สำหรับวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ในประเทศไทยเป็นวัคซีนที่เป็น heat-killed โดยมี phenol เป็น preservative และเตรียมจากเชื้ออหิวาต์ชนิด classical โดยใช้ ๒ serotype คือ Inaba และ Ogawa ซึ่งได้รับจากองค์การอนามัยโลก (WHO) สำหรับ strain ที่ใช้ คือ Calssical Inaba 45920 และ Classical Ogawa 41B

อย่างไรก็ตาม บางแห่งก็ใช้เพียง Serotype เพียว ทั้งนี้เพราะว่าเชื้ออหิวาต์ที่ทำให้เกิดโรคในคนจะมี common cross-reacting antigen ดังนั้นเมื่อ immunized คน หรือสัตว์ด้วย heat-killed vaccine โดยไม่คำนึงถึง

serotype ปรากฏว่าแอนติซีรั่มที่ได้จะมีทั้ง agglutinating และ vibriocidal antibody ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับ homologous และ heterologous vibrio serotypes

วัคซีนในปัจจุบันจะให้โดยทาง parenteral อย่างไรก็ตาม ได้มีการทดลองให้ killed cholera vaccine เข้าทางปาก เช่น การทดลองของ Denehev et al, (1974) และ Oberdverster et al, (1974) โดยให้วัคซีนทางปากแก่อาสาสมัคร ปรากฏว่าได้ผลค่อนข้างเป็นที่น่าพอใจ

การทดลองในเรื่องวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ว่าจะให้ความป้องกันโรคได้ดีขนาดไหน มีความแตกต่างในแต่ละแห่ง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากประชาชนกลุ่มนั้น ๆ มีความแตกต่างกันในเรื่องเชื้อชาติ อายุ เพศ และ nutritional status และสาเหตุอื่น ๆ เช่น กรรมวิธีการทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยา (reproducitivity ของ serological tests) ในแต่ละห้องปฏิบัติการ วัคซีนที่ผลิตในแต่ละแห่ง รวมทั้งการขนส่งวัคซีน (Freestone, 1973)

๗.๓ ความหวังในการพัฒนาวัคซีนอหิวาต์ชนิดใหม่

ภูมิคุ้มกันสำหรับการเกิดโรคอหิวาต์นั้น ควรที่จะมีทั้ง antibacterial และ antitoxic immunity วัคซีนที่ใช้ในปัจจุบันปรากฏว่ามีการป้องกันโรคต่ำ และให้ภูมิคุ้มกันในระยะเวลาเพียง ๓-๖ เดือนเท่านั้น จึงมีการคิดค้นวัคซีนป้องกันอหิวาต์ใหม่ ๆ ออกมาเสมอ

toxoid ซึ่งดัดแปลงมาจาก toxin ของอหิวาต์ ได้ถูกนำมาใช้กับคนและสัตว์ทดลอง ว่าจะป้องกันการเกิดโรคได้หรือไม่ Northrup และ Chaisari (1972) พบว่า formalinized toxoid ถึงแม้จะให้ผลดีทางด้าน antigenic แต่ก็ไม่เหมาะสมที่จะใช้ เพราะเกิดมี toxicity จาก toxoid ซึ่งกลับเป็น toxin ได้เอง อย่างไรก็ตาม ปัญหานี้ก็สามารถแก้ไขได้ โดยใช้ glutaraldehyde แทน formalin ปรากฏว่าไม่เกิด toxicity จาก toxoid

ในหนู (Savanat, และ Chaicumpa, 1975) Pierce (1977) ได้ทดลองในสุนัขด้วย glutaraldehyded toxoid ปรากฏว่าถ้าให้ toxoid ทางใต้ผิวหนังแล้วตามด้วยการให้ทางปาก จะกระตุ้นการเกิดภูมิคุ้มกันในลำไส้ และจะมีภูมิคุ้มกันต่ออหิวาต์ที่ดี

Holmgren และ Svennerholm (1977) สังเกตุพบว่า ถ้าเอา toxin ของเชื้ออหิวาต์รวมกับ LPS antigen จะให้ภูมิคุ้มกันแก่กระต่ายสูงขึ้น ๑๐๐ เท่า มากกว่าเมื่อให้ toxin หรือ LPS antigen ตามลำพัง ผลของการให้การป้องกันโรคร่วมกันนี้ ไม่ได้ขึ้นกับการเพิ่มของ antitoxic และ antibacterial immune responses โดยตัวมันเอง แต่เป็นผลจากการแทรกแซง (interference) ทางด้าน immunity โดย toxoid และ LPS ต่อ pathogenesis คือการเกาะติด (adhesion) ของอหิวาต์ต่อ mucosa และการจับติด (bind) ของ enterotoxin ต่อ membrane receptors (Holmgren, Svennenholm และ Lonnroth, 1977)

เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของ toxoid วิธีการเตรียม toxoid เช่นใช้ formalin หรือ glutaraldehyde จึงควรคำนึงถึงการเกิด toxicity จาก toxoid และการทำลายคุณสมบัติของ antigen ด้วยสารพวกนี้ มีการเตรียม B-subunit ของ toxin ให้บริสุทธิ์ โดยเอาส่วน A subunit ซึ่งเป็นส่วนที่จะก่อให้เกิด toxicity ออก โดยปราศจากการสูญเสียอำนาจภูมิคุ้มกัน เมื่อให้ B-subunit toxoid ร่วมกับ killed vibrio vaccine จะให้ภูมิคุ้มกันแก่กระต่ายสูงขึ้นในช่วงวันที่ ๕-๒๑ ในขณะที่ killed vibrio vaccine ที่ให้โดยลำพังจะให้ immunity ลดลงในช่วงวันที่ ๕-๒๑ (Holmgren, Svennerholm และ Lonnroth, 1977) ,ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการเพิ่มอย่างพอเพียงของ antitoxic immunity ที่ได้จาก B subunit toxoid สามารถทดแทนการลดอย่างรวดเร็วของ anti-bacterial immunity นอกจากนี้ Finkelstein (1978) กล่าวว่า "Texas Star" ซึ่งคือ B-subunit ของ toxin จากเชื้ออหิวาต์ที่เขาทำให้เกิด mutation นั้น จะเป็นวัคซีนชนิดใหม่ที่สร้างแอนติบอดี้ ซึ่งสามารถ neutralized toxin ที่

สร้างโดยเชื้ออหิวาต์โดยไม่มีอาการท้องร่วงเลย

๗.๔ พิจารณาทางด้านเศรษฐกิจ

โดยเหตุที่โรคอหิวาต์ยังเป็นปัญหาสาธารณสุข และปัญหาเศรษฐกิจของประเทศไทย และประเทศด้อยพัฒนาอื่น ๆ ปรากฏว่ายังมีคนตายอันเนื่องมาจากอหิวาตกโรคอยู่เสมอ ๆ ทั้งนี้เนื่องจากฐานะที่ยากจน สาธารณสุข และค่ารักษาพยาบาล ควรที่ประเทศที่พัฒนาแล้ว ประเทศอุตสาหกรรม และองค์การระหว่างชาติจะให้ความสนใจ และช่วยเหลือทางด้านการเงิน เพื่อใช้ในการพัฒนาวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ Friedman (1975) กล่าวว่า วัคซีนที่มีประสิทธิภาพในการลดการแผ่กระจายของโรคอหิวาต์ได้ จะสามารถลดค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการรักษาพยาบาลลงได้มาก ยิ่งกว่านั้น ค่าใช้จ่ายที่จะใช้ในการคิดค้นวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ถือว่าน้อย เมื่อเทียบกับการใช้คิดค้นวัคซีนสำหรับไวรัส ดังนั้นจึงสมควรที่จะมีการสนับสนุนให้มีการคิดค้นพัฒนาวัคซีนขึ้นมาใหม่ให้มีประสิทธิภาพอย่างสมบูรณ์