หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

การสำรวจเอกสาร

1. ประวัติ

S.pneumoniae พบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ.1881 (40) โดยมีผู้พบพร้อมกันสองประเทศคือ Louis Pasteur ประเทศฝรั่งเศส พบในเลือดกระต่ายที่ถูกฉีดด้วยน้ำลายผู้ป่วยโรคปอดบวม และ Sternberg ประเทศสหรัฐอเมริกา พบเชื้อนี้โดยบังเอิญในน้ำลายคนปรกติ ต่อมาในปี ค.ศ.1884 Frankel พบว่าเชื้อนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคปอดบวมในคน

H.influenzae พบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ.1890(41)โดย Pfeiffer พบเชื้อนี้ในผู้ป่วยโรคไข้หวัดใหญ่ซึ่งกำลังระบาดอย่างมากในเวลานั้น โดยเข้าใจผิดว่าเชื้อนี้เป็นสาเหตุของโรคไข้หวัดใหญ่ จึงตั้งชื่อว่า Influenza bacillus ต่อมาในปี ค.ศ.1923 ได้จัดเข้าอยู่ใน Genus Haemophilus ตาม American Society of Bacteriologist เนื่องจากต้องการเลือดเป็นส่วนสำคัญในการเพาะเลี้ยง ส่วนชื่อ species ยังคงเดิม

2. ลักษณะรูปร่างของเชื้อ

S.pneumoniae เป็นบัคเตรีกรัมบวกมี capsule ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว และมีรูปร่างเป็นรูป lancet อยู่กันเป็นคู่ๆ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.25 µm โคโลนีที่ขึ้นบน sheep blood agar จะให้ลักษณะ α-hemolysis คือ มีการสลายเม็ดเลือดแดงเพียงบางส่วน โคโลนีจะมีลักษณะกลม เรียบ มัน ไม่สร้างสารที่มีสี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.5 มม.ลักษณะโคโลนีที่เพาะเลี้ยงเกิน 24 ชั่วโมงจะแบนลง และจะสลายตัวในที่สุดด้วยเอ็นไซม์ที่สร้างขึ้นมาย่อยตัวเอง(42)

H.influenzae เป็นบัคเตรีกรัมลบ รูปแท่งสั้นๆ ขนาด 1.5 µm ในบางครั้งอาจเห็นเป็น coccobacilli ก็ได้ ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว และมี capsule ซึ่ง

สามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีการสร้างเอ็นไซม์ย่อยตัวเอง ทำให้ไม่พบ capsule ในโคโลนีที่เพาะเลี้ยงไว้นานเกินกว่า 24 ชั่วโมง โคโลนีที่ขึ้นอยู่บน chocolate agar มีขนาดเล็ก กลม นูน และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มม. ไม่มี hemolysis ลักษณะพิเศษที่มักพบได้เสมอ คือโคโลนีจะขึ้นอยู่รอบๆ โคโลนีของ Staphylococcus ซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า satellite phenomenon[42]

3. โครงสร้างแอนติเจน

capsule เป็นแอนติเจนที่สำคัญที่สุด[43] capsule ของ *S.pneumoniae* ประกอบด้วยน้ำตาล polysaccharide ต่อกันเป็น polymer ขนาดใหญ่ เชื้อจะสร้าง capsule ปริมาณมากที่สุดในช่วง exponential phase ของการเจริญ capsule ของ *S.pneumoniae* มีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกันเป็น type-specific ประมาณ 83 ชนิด[44] แต่ละชนิดเรียกเป็น serotype โดยใช้หมายเลขกำกับ แอนติเซรุ่มที่จำเพาะต่อ *S.pneumoniae* type ต่างๆมีที่ผลิตจาก 2 สถาบัน คือ Danish type และ American type โดยที่แอนติเซรุ่มชนิด Danish type ได้รับความนิยมมากกว่า[45] สำหรับ capsule ของ *H.influenzae* มีโครงสร้างที่แตกต่างกันเป็น type-specific 6 ชนิดคือ serotype a,b,c,d,e และ f (ตารางที่ 2)[46] โครงสร้าง capsule ของ *S.pneumoniae* บางสายพันธุ์ และ *H.influenzae* type b แสดงไว้ในรูปที่ 3 ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่มีการสร้าง capsule จะไม่สามารถตรวจหา serotype ได้ เรียกว่า nontypable[47]

4. แหล่งพบเชื้อตามธรรมชาติ

เชื้อบัคเตรีทั้งสองชนิดนี้จะพบได้ในคนปรกติด้วย[27] ซึ่งจะพบเชื้ออยู่ในช่องจมูก ลำคอ และบริเวณ nasopharynx ในเด็กปรกติอายุต่ำกว่า 3 ปี สามารถตรวจพบ *H.influenzae* ใน nosopharynx ประมาณ 95% ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสายพันธุ์ที่ไม่สร้าง capsule และพบ type b เพียง 5% เท่านั้น[48] โดยอาจได้รับเชื้อจากคนในครอบครัวเดียวกัน, พยาบาล หรือผู้ดูแลเด็ก และในเด็กวัยก่อนเรียนปรกติจะพบโรคติดเชื้อจาก *S.pneumoniae* ได้ 20-30% และ *H.influenzae* ได้ 30% และอาจพบมากกว่า 1

serotype ในเด็กคนเดียว[49]

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรค

ขึ้นอยู่กับการที่ร่างกายมีภูมิต้านทานมากน้อยเพียงใด เช่น ในเด็กอายุ 3 เดือน ถึง 3 ปี พบว่ามีอัตราการติดเชื้อ *H.influenzae* type b สูงที่สุด [48,50] อัตราการติดเชื้อจะลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ทั้งนี้เพราะร่างกายมีภูมิต้านทานต่อเชื้อเพิ่มขึ้น ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต่อแอนติเจนของ capsule จะป้องกันได้เฉพาะ serotype เดียวกันเท่านั้น และจะทำหน้าที่เพิ่มประสิทธิภาพของเม็ดเลือดขาวในการเก็บกินเชื้อ[51] ดังนั้นในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องจะทำให้ภูมิต้านทานการติดเชื้อลดลง อัตราการเกิดโรคก็จะสูงขึ้น ได้แก่ ผู้ป่วยโรคพิษสุราเรื้อรัง, ผู้ป่วยเบาหวาน และผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิต้านทาน เป็นต้น[5,15,52,53]

6. ระบาดวิทยาของเชื้อ

S.pneumoniae และ *H.influenzae* พบได้ทั่วภูมิภาคของโลก โดยที่ *H.influenzae* type b พบได้มากที่สุดในทุกภูมิภาค[54,55] ส่วน *S.pneumoniae* มีการกระจายของ serotype แตกต่างกันไปตามภูมิภาคต่างๆ เช่น ในประเทศออสเตรเลีย พบ type 19,4,6,3,9[56] ในประเทศมาเลเซีย พบ type 6,14,19 [11] และประเทศไทย รายงานจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (กำลังจะตีพิมพ์ในจุฬาลงกรณ์เวชสาร ฉบับเดือนพฤษภาคม 2532) พบ type 1,5,6,19,23 เป็นต้น

7. ภูมิคุ้มกันโรค

ระบบภูมิคุ้มกันมีความสำคัญมากในการยุติการติดเชื้อได้แก่ การไอ,capillary clearance, secretory antibody, alveolar macrophage, neutrophil เป็นต้น[43,57] โรคติดเชื้อ *S.pneumoniae* และ *H.influenzae* ส่วนมากจะพบในวัยเด็กและพบได้ตลอดปี อาจพบมากขึ้นในระยะที่มีอากาศเปลี่ยนแปลง ถ้าผู้ป่วยได้รับการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้อง และรักษาอย่างรวดเร็วก็สามารถหายจากโรคได้ แต่ก็ยังมีปัญหาในเรื่องการแพร่ระบาดของเชื้อในชุมชน,ในสถานรับเลี้ยงเด็ก และในครอบครัวที่มีผู้ป่วย[27]

จึงจำเป็นต้องมีการให้ภูมิคุ้มกันโดยการให้วัคซีน

ภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อนี้ นอกจากจะได้รับโดยร่างกายสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะโดยตรงแล้วเชื้อบัคเตรีบางชนิด เช่น *E.coli* บางสายพันธุ์ที่มีแอนติเจนคล้ายกับแอนติเจนใน capsule ของเชื้อ *H.influenzae* type b ก็สามารถกระตุ้นให้มีการสร้างภูมิคุ้มกันต่อ *H.influenzae* type b ได้ด้วย ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ *H.influenzae* type b ในคนปกติได้(58)

8. วัคซีนป้องกันโรค

ในปัจจุบันวัคซีนที่เตรียมจากน้ำตาล polysaccharide ใน capsule ของเชื้อ *H.influenzae* ยังอยู่ในระหว่างการทดลองและพัฒนา โดยวัคซีนนี้สามารถกระตุ้นให้มีภูมิคุ้มกันเฉพาะในเด็กที่มีอายุมากกว่า 3 ปีขึ้นไป แต่ไม่มีผลต่อเด็กในกลุ่มที่เสี่ยงต่อโรคคืออายุต่ำกว่า 18 เดือน(59,60,61) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *H.influenzae* type b สูง ส่วนวัคซีนสำหรับ *S.pneumoniae* ก็เช่นเดียวกัน คือยังอยู่ในระหว่างการพัฒนา เนื่องจากการกระจายของ serotype ต่างๆ แตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค วัคซีนนั้นจะได้ผลดีก็ต่อเมื่อแอนติเจน type ที่มีอยู่ในวัคซีนเป็น type เดียวกับที่กำลังระบาดในเวลานั้นด้วย(51,62)

9. การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

ทำได้โดยการเก็บสิ่งส่งตรวจจากตำแหน่งที่เกิดโรค เช่น เสมหะ, น้ำไขสันหลัง, หนองในช่องเยื่อหุ้มปอด, nasopharyngeal secretion เป็นต้น การตรวจพบเชื้อโดยการย้อมสีกรัม ถ้าย้อมสีถูกต้องและผู้ตรวจมีประสบการณ์ดีพอก็จะช่วยในการวินิจฉัยได้(63) ส่วนการเพาะเชื้อเป็นวิธีช่วยยืนยันผลการย้อมสีกรัม โดยเพาะเชื้อลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตามปรกติในห้องปฏิบัติการได้แก่ sheep blood agar และ chocolate agar แล้วอบไว้ในบรรยากาศที่มี 5% CO_2 อุณหภูมิ 37 °ซ. 24-48 ชั่วโมง จากนั้นพิสูจน์เชื้อโดยอาศัยการทดสอบวิธีต่างๆ ดังที่จะได้กล่าวในบทต่อไป แต่โอกาสที่จะแยกเชื้อได้จากการเพาะเชื้อมีเพียง 50%(64) เนื่องจากผู้ป่วยมักจะได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนที่จะพบแพทย์ จึงทำให้เพาะเชื้อไม่ขึ้น ดังนั้นการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อที่ละลายปนอยู่ในสิ่งส่งตรวจ

ด้วยการใช้แอนติเซรุ่มที่จำเพาะ เช่น วิธี Counter-immunoelectrophoresis(CIE), Latex agglutination (LA) และ Co-agglutination (COA) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดจากรายงานจำนวนมากพบว่าวิธี LA และ COA นอกจากจะทำได้ง่าย รวดเร็ว แล้วยังมีความไว และความจำเพาะสูงกว่าวิธี CIE

รายงานของ Collins และคณะ (1983)[65] ได้เปรียบเทียบการตรวจหาแอนติเจนของ *H.influenzae* type b ในน้ำไขสันหลังของผู้ป่วยโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบด้วยวิธี LA (Bactigen),COA (Phadebact)และ CIE พบว่า COA และ LA มีความไว 95% และ 91% ตามลำดับ ส่วน CIE มีความไวเพียง 71% เท่านั้นเมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อ และจากการทดลองเจือจางน้ำไขสันหลังพบว่าทั้ง COA และ LA มีความไวมากกว่า CIE ถึง 25 เท่า

รายงานของ Riera (1985)[66] ได้เปรียบเทียบการตรวจหาแอนติเจนของ *H.influenzae* type b ในปัสสาวะของผู้ป่วยเด็ก 18 รายด้วยวิธี LA (Bactigen) และ COA (Phadebact) พบว่า LA สามารถตรวจหาแอนติเจนของ *H.influenzae* type b ในปัสสาวะได้ถึง 0.2 นาโนกรัมต่อมล. ในขณะที่ COA ตรวจได้เพียง 24.5 นาโนกรัมต่อมล.เท่านั้น

Whitby และคณะ(1985)[67]ได้เปรียบเทียบวิธีการย้อมสีกรัม,การเพาะเชื้อ, วิธี CIE และ LA ในการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ *S.pneumoniae* จากเสมหะผู้ป่วยโรคปอดบวม 480 ราย พบว่าวิธี LA และ CIE มีความไวและความจำเพาะกว่าการเพาะเชื้อและการย้อมสีกรัม นอกจากนี้ผลบวกจากวิธี LA และ CIE ก่อนและหลังจากที่ผู้ป่วยได้รับยาปฏิชีวนะไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ผลบวกจากการย้อมสีกรัมและการเพาะเชื้อจะลดลงหลังจากที่ผู้ป่วยได้รับยาปฏิชีวนะแล้ว

รายงานของ Ward และคณะ(1987)[68]ได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อจาก *H.influenzae* type b พบว่าวิธี LA ตรวจพบแอนติเจนของเชื้อจากน้ำไขสันหลังของผู้ป่วยได้ 25/25 ราย ในเลือด 23/24 ราย ในขณะที่วิธี CIE ตรวจพบได้ 20/25 และ 20/24 รายตามลำดับ จะเห็นว่าวิธี LA มีความไวสูงกว่าวิธี

CIE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

Heikkila และคณะ (1987)[69] ได้ตรวจหาแอนติเจนของ *H.influenzae* type b จาก nasopharyngeal swab ในผู้ที่เป็นพาหะด้วยวิธี LA เปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อ พบว่า 51/154 ราย (33%) ให้ผลบวกด้วยวิธี LA และทุกรายที่เพาะเชื้อขึ้นจะให้ผลบวกด้วยวิธี LA ด้วย และมีเพียง 11/154 ราย (9.6%)ที่ให้ผลบวกด้วยวิธี LA แต่เพาะเชื้อไม่ขึ้น วิธี LA มีความไวสูงถึง 100% สามารถใช้ตรวจหาผู้ที่เป็นพาหะของเชื้อ *H.influenzae* type b ได้

รายงานของ Ajello และคณะ(1987)[38] ศึกษาการตรวจหาแอนติเจนของ *H.influenzae* และ *S.pneumoniae* ในเลือดของผู้ป่วยโรคปอดบวมด้วยชุดทดสอบ LA สองชนิดที่มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาดคือ Directigen และ Bactigen พบว่าชุดทดสอบ LA ทั้งสองสามารถตรวจพบแอนติเจนของ *S.pneumoniae* ได้ 23/44 ราย โดยพบ type 19 และ 14 มากที่สุด และตรวจพบแอนติเจนของ *H.influenzae* ได้ 17/44 ราย เป็น type b มากที่สุด ความไวของชุดทดสอบ Directigen และ Bactigen สำหรับการตรวจหาแอนติเจนของ *S.pneumoniae* น้อยกว่า 50% ในขณะที่ความจำเพาะมากกว่า 70% ดังนั้นชุดทดสอบทั้งสองชนิดนี้ยังไม่สามารถนำไปใช้ตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อจาก *S.pneumoniae* ได้เพราะความไวมีค่าไม่สูงพอ ส่วนความไวและความจำเพาะในการตรวจหาแอนติเจนของ *H.influenzae* type b มีมากกว่า 90% ดังนั้นชุดทดสอบทั้งสองชนิดนี้สามารถนำไปใช้ตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อจาก *H.influenzae* type b ได้

จากรายงานที่กล่าวแล้วสรุปได้ว่าวิธี LA ได้ผลในการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อจาก *S.pneumoniae* และ *H.influenzae* ดีกว่าการเพาะเชื้อและการย้อมสีกรัม นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบแอนติเจนในสิ่งส่งตรวจได้อีก 7 วันหลังจากเพาะเชื้อไม่ขึ้น[70]

H. influenzae type	น้ำตาล	PO_4	acetyl
a	Glucose	+	-
b	Ribose & Ribitol	+	-
c	Galactose	+	-
d	Hexose	-	-
e	Hexosamine	-	+
f	Galactosamine	+	+

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของ capsule ชนิดต่างๆ ของเชื้อ *H. influenzae* (จาก Smith, D., N. Conant, H. Willet, Zinsser Microbiology, pp 490-499, Appleton-Century-Crofts, Inc., New York, 14th ed., 1978.)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

15539

1. *S.pneumoniae* type 1 เป็น Linear copolymer : *D*-glucose, 2-amino-2-deoxy-*D*-glucose, 2-amino-2-deoxy-*D*-galactose, *D*-galacturonic acid, contains critical *O*-acetyl
2. *S.pneumoniae* type 6 เป็น Linear copolymer : *D*-galactose, *D*-glucose, *L*-rhamnose and ribitol phosphate
3. *S.pneumoniae* type 19 เป็น Linear copolymer : *L*-rhamnose, *D*-glucose, *N*-acetyl mannose-5-phosphate
4. *S.pneumoniae* type 23 โครงสร้างทั้งหมดยังไม่ทราบแน่นอน : *L*-rhamnose, *D*-galactose, *D*-glucose
5. *H.influenzae* type b เป็น Linear copolymer : -->3)β-*D*-ribose (1-->1)-*D*-ribitol-5-phosphate(1-->4)

รูปที่ 3 โครงสร้างแอนติเจนของ *S.pneumoniae* บางสายพันธุ์ และ *H.influenzae* type b

(จาก Robbins, J. B., "Vaccines for The Prevention of Encapsulated Bacterial Disease: Current Status, Problems and Prospects for The Future," Immunochemistry., 15, 839-854, 1978.)