# วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอ

46

จุฑารัตน์ เมฆมัลลิกา

## บทนำ

สเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอ[1] (*Streptococcus pyogenes* หรือ group A ß-hemolytic streptococcus หรือ GAS) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคร้ายแรงในคนปกติตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1600 ต่อมาในปี ค.ศ. 1900 โรคไข้อีดำอีแดง (Scarlet fever) และ ไข้รูมาติก (Acute rheumatic fever, ARF) เป็นสาเหตุทำให้มีผู้เสียชีวิตอย่างมากในประเทศสหรัฐอเมริกาและทวีปยุโรป หลังจากนั้นอุบัติการณ์และความรุนแรงที่เกิดจากเชื้อ GAS ในประเทศอุตสาหกรรมก็ค่อยๆ ลดลงเองก่อนมีการนำยาต้านจุลชีพมาใช้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1980 พบการระบาดของโรคติดเชื้อ GAS ที่รุนแรง ARF และ streptococcal toxic shock syndrome (STSS) ซึ่งเป็นโรคอุบัติใหม่ในสมัยนั้นกระจายไปทั่วโลก และมีอัตราการเสียชีวิตสูงแม้ได้รับยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมแล้วก็ตาม

ในปี ค.ศ. 1880 Pasteur ค้นพบเชื้อ GAS จากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อระหว่างการคลอดบุตร (puerperal fever) ปี ค.ศ. 1898 Cheadle ได้เชื่อมโยงกลุ่มอาการ 5 ข้อที่เป็นสาเหตุของ ARF ได้แก่ carditis, polyarteritis, chorea, erythema marginatum และ subcutaneous nodules ปี ค.ศ. 1903 Brown พบว่า complete (ß) hemolysis บน blood agar ใช้ในการแยกเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสที่ก่อโรคในมนุษย์ได้ ต่อมาอีก 15 ปี Lancefield เป็นคนแรกที่ใช้ปฏิกิริยาน้ำเหลือง (serology) ในการแบ่งประเภทของ ß-hemolytic streptococcus ออกมาเป็นกลุ่มโดยอาศัยโพลีแซคคาไรด์ (group-specific polysaccharide) และพบว่าเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่เป็นกรุ๊ปเอ แล้วมีการแบ่งย่อยต่อโดยใช้ trypsin-sensitive surface exposed M protein และ trypsin resistant T antigen การแบ่งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสนี้เป็นรากฐานที่สำคัญในการศึกษาลักษณะทางคลินิก การระบาด ภาวะภูมิคุ้มกัน และมีส่วนช่วยในการพัฒนาวัคซีนในอนาคต[1]

## โรคติดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอ

### เชื้อก่อโรค

เชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอหรือเชื้อ GAS มีมากกว่า 120 ซีโรทัยพ์ โดยแบ่งตาม M-protein serotype เรียกว่า M typing หรือมากกว่า 150 จีโนทัยพ์ โดยแบ่งตามสารพันธุกรรม เรียกว่า *emm* typing การแบ่งตาม *emm* type ดีกว่า เนื่องจากบางครั้งไม่สามารถแบ่งชนิดของ M-protein ได้ และ M type เดียวกันยังมียีน *emm* ที่แตกต่างกัน การศึกษาทางระบาดวิทยาพบความสัมพันธ์ของซีโรทัยพ์บางชนิด ได้แก่ 1, 3, 5, 6, 18, 19 และ 24 กับโรคไข้รูมาติก แต่ยังไม่ทราบปัจจัยที่ก่อโรคไข้รูมาติกที่แท้จริง ซีโรทัยพ์ชนิด 49, 55, 57 และ 59 เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคผิวหนังอักเสบ (pyoderma) และโรคไตอักเสบ (acute glomerulonephritis, AGN) ซีโรทัยพ์ชนิด 1, 6 และ 12 เกี่ยวข้องกับโรคคออักเสบและ AGN ส่วนใหญ่โรค STSS มีสาเหตุมาจากสายพันธุ์ที่สร้างท็อกซินที่ทำให้เกิดไข้ (pyrogenic toxin) อย่างน้อยหนึ่งชนิด ซึ่งท็อกซินนี้เป็น superantigen ที่กระตุ้นให้มีการสร้าง tumor necrosis factor (TNF) และ mediator อื่นๆ ที่เป็นสาเหตุของการรั่วของหลอดเลือดฝอย ทำให้เกิดความดันโลหิตต่ำและอวัยวะถูกทำลาย[2]

**ระบาดวิทยา อุบัติการณ์ และปัจจัยเสี่ยง**

อุบัติการณ์ของโรคที่เกิดจากเชื้อ GAS ทั้งชนิดของโรคและภาวะแทรกซ้อน มีความแตกต่างกันมากในประเทศที่พัฒนาแล้ว และกำลังพัฒนา ในประเทศสหรัฐอเมริกา ยุโรปตะวันตก และกลุ่มประเทศพัฒนาแล้ว พบว่า ส่วนใหญ่ของการติดเชื้อมักจะมาด้วยอาการคออักเสบชนิดไม่รุนแรง และการติดเชื้อที่ผิวหนัง กล่าวคือ พบร้อยละ 2-6 ของเด็กนักเรียนในประเทศสหรัฐอเมริกามาพบแพทย์ด้วยเรื่องคออักเสบจากเชื้อ GAS[3] ส่วนสถิติของโรคที่รุนแรงจากเชื้อ GAS ในปี ค.ศ. 2005 พบผู้ป่วย 10,400 รายต่อปี (3.5 รายต่อประชากรแสนคน) มีผู้เสียชีวิต 1,350 รายต่อปี (อัตราการเสียชีวิตร้อยละ 13) ซึ่งคล้ายคลึงกับประเทศแคนาดา และทวีปยุโรป[4] ส่วน ARF พบได้น้อยมากในกลุ่มประเทศเหล่านี้

ARF เป็นโรคที่พบว่ามีผลกระทบต่อเด็กมากกว่า 20 ล้านคนทั่วโลก ส่วนใหญ่ในประเทศกำลังพัฒนา หรือพบร้อยละ 3-4 ในผู้ที่ติดเชื้อจากเชื้อ GAS ซึ่งไม่ได้รับการรักษา[5] องค์การอนามัยโลกประมาณการในปี ค.ศ. 1992 ว่ามีประชากร 400,000 รายต่อปีเสียชีวิตจากภาวะแทรกซ้อนจากโรคหัวใจรูมาติก (Rheumatic heart disease, RHD) ประมาณ 12 ล้านคนเจ็บป่วยจาก RHD และ 1 ล้านคนมีความต้องการผ่าตัดหัวใจหรือเปลี่ยนลิ้นหัวใจ ซึ่งในความเป็นจริงมีความเป็นไปได้น้อยมาก อุบัติการณ์ของ RHD ในปี ค.ศ. 2002 ในเด็กนักเรียนประมาณ 0.7-14 รายต่อพันคน (เฉลี่ย 4 รายต่อพันคน) การให้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิเป็นเพียงส่วนน้อยของการป้องกันโรค RHD เนื่องจากการให้ยาต้านจุลชีพในการป้องกันแบบปฐมภูมิจะต้องมีระบบการเข้าถึงการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้พบว่ามีประมาณครึ่งหนึ่งของ ARF ที่มีการติดเชื้อโดยไม่มีอาการนำมาก่อน ทำให้ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ ส่วนการให้ยาต้านจุลชีพในการป้องกันแบบทุติยภูมินั้นจำเป็นต้องมีระบบสาธารณสุขที่ดีและการมาติดตามการรักษาอย่างต่อเนื่องของผู้ป่วย ซึ่งพบว่ามีข้อจำกัดอย่างมาก ดังนั้นหากมีการพัฒนาวัคซีนอย่างได้ผลจะเป็นสิ่งสำคัญในการป้องกันโรค ARF ให้กับเด็กและวัยรุ่นได้หลายล้านคน และลดผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจสาธารณสุขได้เป็นอย่างดี[6]

ส่วน AGN ได้รับความสนใจน้อยกว่า ARF เพราะผลที่ตามมาไม่รุนแรงมาก อย่างไรก็ตามในบริเวณที่มีความชุกของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคทางไตสูง พบว่า AGN พบตามหลังการเกิดโรคคออักเสบและการติดเชื้อที่ผิวหนังได้ถึงร้อยละ 10-15[7]

นอกจากนี้ความแตกต่างของอุบัติการณ์ของโรคที่รุนแรงจากเชื้อ GAS อาจเป็นผลมาจากตัว host และเชื้อ GAS หากเชื้อที่กำลังก่อโรคในชุมชนอยู่สามารถทำให้เกิด herd immunity ก็จะช่วยลดการแพร่กระจายเชื้อและความรุนแรงได้ เชื้อ GAS ได้รับปัจจัยก่อความรุนแรง (virulence factor) มาจากตัวกลางเช่น bacteriophage หรือ การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อเอง เช่น การเปลี่ยนแปลงของยีนที่ตำแหน่งของการควบคุม เช่น CovRS (เป็นตำแหน่งควบคุมการแสดงออกของแคปซูลและปัจจัยก่อความรุนแรง)[1] ส่วนปัจจัยของ host น่าจะมีส่วนสำคัญต่อพยาธิกำเนิดของโรค ARF และ RHD โดยการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันตนเองที่ไม่เหมาะสม (autoimmune response) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยการสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ GAS พันธุกรรมที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคภูมิคุ้มกันตนเองพบว่า HLA class II gene มีความเกี่ยวข้องอย่างมาก โดย HLA DR7 allele เป็นอันที่พบว่ามีความเกี่ยวข้องมากที่สุด ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิสภาพที่ลิ้นหัวใจหลายๆส่วนในผู้ป่วยโรคหัวใจรูมาติก HLA class II เป็นตัวที่ปรากฏบนผิวของ antigen-presenting cells (APCs) เช่น macrophage, dendritic cell, และ B cell ซึ่งจะจับกับเปปไทด์แอนติเจน แล้วไปกระตุ้น T cell การทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของ HLA เปปไทด์แอนติเจน และ T cell receptor (TCR) บนผิว T cell นี้มีส่วนสำคัญอย่างมากในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ในกรณีของโรคภูมิคุ้มกันตนเอง โมเลกุลของ HLA จับกับโปรตีนแล้วทำให้มีการกระตุ้น T cell อย่างไม่เหมาะสม ซึ่งในกรณีของ ARF นี้ ระหว่างการเกิดการติดเชื้อ GAS มีเปปไทด์เกิดขึ้น

หลังจากขบวนการใน macrophage ซึ่งเกี่ยวข้องกับโมเลกุลของ HLA class II กระตุ้น CD4+ T cell แล้วไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งชนิด humoral และ cell ต่อเชื้อแบคทีเรียซึ่งนำไปสู่การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันตนเอง ในโรค ARF/RHD นี้กลไกความคล้ายคลึงทางด้านโมเลกุล (molecular mimicry mechanism) โดยผ่านกระบวนการที่ T cell จดจำแอนติเจนของตนเองกับแอนติเจนของเชื้อ GAS แล้วไปกระตุ้นให้ B cell เกิดปฏิกิริยาต่อตนเองด้วย (autoreactive B cell) ดังนั้นทั้งแอนติบอดีและ T cell มีส่วนสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของ ARF/RHD[5]

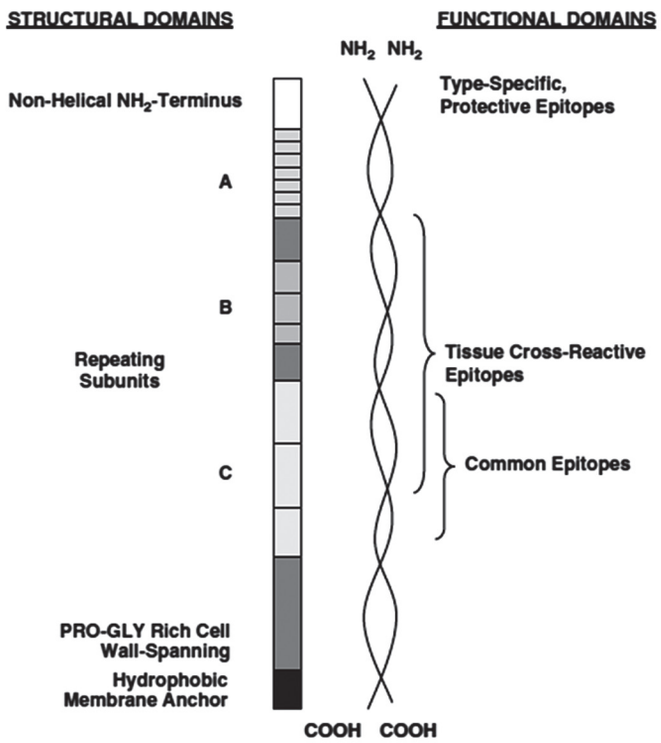
**พยาธิกำเนิด**[1]

พยาธิวิทยาที่เกิดขึ้นในระหว่างการติดเชื้อเฉียบพลันได้แก่ การเกาะติดกับเซลล์ (inflammation) การหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกัน (immune evasion) และการทำลายเนื้อเยื่อ (tissue invasion) โดยอาศัยโมเลกุลของเชื้อแบคทีเรียที่ขับออกจากเซลล์และอยู่บนผิวเซลล์ เชื้อ GAS เกาะติดกับเซลล์ของ host โดยการจับกับ plasma protein และ matrix protein เช่น fibronectin, fibrinogen และ immunoglobulin (Ig) G โดยใช้ adhesin ซึ่งได้แก่ lipotechoic acid, M protein, hyaluronic acid capsule, C5a peptidase, fibronectin binding protein (เช่น SfbI และ FBP54) และ R28 (พบในเชื้อ GAS ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อระหว่างการคลอดลูก และเชื่อว่ามีส่วนช่วยให้เชื้อ GAS เกาะติดกับเยื่อบุคอมดลูกได้ดี) นอกจากนี้ pili ซึ่งจัดเป็นโปรตีนที่อยู่นอกเซลล์ (extracellular binding protein) ทำหน้าที่ทั้ง adhesin และปัจจัยก่อความรุนแรงด้วย[1] M protein และ streptococcal pyogenic exotoxin (SPEs) มีคุณสมบัติเป็น pro-inflammatory ที่รุนแรง SPEs ที่มาจากตระกูล superantigen สามารถทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงทางระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ไข้ การทำลายเนื้อเยื่อ และอาการช็อก SpeA และ C เดิมรู้จักกันว่าเป็น erythrogenic toxin เพราะเกี่ยวกับผื่นของไข้อีดำอีแดงเป็น bacteriophage-encode มี T cell receptor และตัวรับของ MHC class II ส่วน SpeA พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับ STSS

แม้ว่าปัจจัยหลายอย่างมีความเกี่ยวข้องกับการหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกัน (immune evasion) แต่ M protein เป็นตัวที่อธิบายได้ดีที่สุด M protein ทำหน้าที่รบกวน phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวโพลีมอร์ฟโดยไม่ต้องใช้แอนติบอดี โดยการจับกับ plasma protein และยับยั้งการจับของ C3b กับแบคทีเรียโดยผ่านทาง alternative complement pathway การที่มีความหลากหลายของแอนติเจนบนสาย M protein ในด้าน amino terminal ทำให้เชื้อ GAS หลบหนีการจดจำของแอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงได้

ความเข้าใจในโครงสร้างของ M protein ทำให้สามารถอธิบายหน้าที่ของปัจจัยก่อความรุนแรงของเชื้อ GAS และแอนติเจนที่ใช้ในการป้องกัน M protein ประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์สองสายที่ขดเป็นวง (alpha-helical coiled-coil fibrillar rods) โดยใช้ส่วน carboxy (C) terminus LPxTG motif ฝังตัวใน peptidoglycan ของผนังเซลล์ แต่ละโพลีเปปไทด์ประกอบด้วยส่วนที่ซ้ำๆ กันเป็นกลุ่มๆ แยกเป็น 4 ช่วง (เรียกว่า A - D) ดังภาพที่ 1 ช่วง A-repeat หรือ amino ( N ) terminus ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความหลากหลายอย่างมาก (highly variable) เป็นส่วนสำคัญของการกำหนด serotype หรือ M typing (ถูกกำหนดด้วยยีน *emm*) เมื่อมีการติดเชื้อแอนติบอดีจะมาจับกับแบคทีเรียที่ตำแหน่งนี้ ช่วง C repeat ประกอบด้วย epitope ที่ถูกนำเสนอบนผิวเซลล์และมักเป็นส่วน conserved region ของ M type ที่ต่างกัน ส่วน B repeat และบริเวณที่ต่อกับ A และ C repeat เป็นส่วนที่มี cross react กับแอนติเจนของมนุษย์ และเป็นตัวอธิบายพยาธิกำเนิดของโรค ARF นอกจากนี้ภายในส่วน B repeat เองนี้ยังมีความคล้ายคลึงกับ superantigen อีกด้วย

เชื้อ GAS ยังสร้างผลิตภัณฑ์ส่งออกนอกเซลล์อีกหลายชนิด ได้แก่ streptolysin O, deoxyribonuclease B, streptokinase และ hyaluronidase ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อตายและกระจายตัวของเชื้อ GAS ไปในระนาบของเนื้อเยื่อได้อย่างง่าย นอกจากนี้เชื้อ GAS ยังมีโปรตีนที่เกาะอยู่กับ C




**รูปที่ 1** แสดงโครงสร้างและfunctional domain ของ streptococcal M protein
(จากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6)

terminus ของผนังเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์คือ C5a peptidase หรือ SCPA (surface bound C5a peptidase) ทำให้เชื้อรุนแรงมากขึ้น โดยการระงับ chemoattractant และลดการไหลเข้าของเม็ดเลือดขาวชนิดโพลีมอร์ฟมาสู่บริเวณที่มีการติดเชื้อ

พยาธิสภาพของ nonsuppurative post-infectious sequelae ของเชื้อ GAS ยังไม่เป็นที่เข้าใจนัก ARF พบตามหลังการติดเชื้อคออักเสบจากเชื้อ GAS ที่ไม่ได้รับการรักษาร้อยละ 3 แต่พบน้อยลงไปกว่านี้ในกรณีที่เป็น endemic จากข้อสังเกตว่าชาวอะบอริจินมีอัตราการเกิดโรค ARF สูงทำให้นักวิชาการบางกลุ่มตั้งข้อสันนิษฐานว่าการติดเชื้อที่ผิวหนังอาจเป็นสาเหตุของ ARF ด้วยก็ได้ (แต่ก็ไม่ได้รับการพิสูจน์) สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดคออักเสบและ ARF น่าจะมี M type ที่แตกต่างกันรวมทั้งแอนติเจน และปัจจัยก่อความรุนแรงมากกว่าสายพันธุ์ที่ก่อโรคผิวหนังอักเสบ แม้ว่าจะมีการซ้ำซ้อนกันได้บ้าง

แนวความคิดเกี่ยวกับ molecular mimicry ได้นำมาอธิบายพยาธิกำเนิดของ ARF และ AGN โดยพบว่า M protein มีส่วนแอนติเจนที่คล้ายกับโปรตีนของเส้นใยกล้ามเนื้อในมนุษย์ เช่น cardiac muscle myosin และโมเลกุลของ extracellular matrix (เช่น synovium และ glomerular basement membrane) กลไกการอักเสบของหัวใจที่สันนิษฐานว่า การติดเชื้อจาก GAS ไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อตนเองของเยื่อบุลิ้นหัวใจและเกิดการอักเสบขึ้น เยื่อบุลิ้นหัวใจที่ถูกกระตุ้นแล้วจะแสดง VCAM-1 adhesin ที่นำไปสู่การจับตัวและการแทรกซึมของ CD4+ T cell ซึ่งจดจำ M protein แอนติเจนของ myosin และโปรตีนของลิ้นหัวใจ แม้ว่ากลไกจริงๆ ยังไม่ได้รับการพิสูจน์ก็ตาม แอนติบอดีจากการกระตุ้นโดย epitope ของ group A carbohydrate, N-acetylglucosamine ทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับ lysoganglioside $GM^1$ บนเซลล์ประสาทและอาจเป็นสาเหตุของ Sydenham's chorea ส่วนของเยื่อบุเซลล์ SpeB และแอนติเจนของ GAS อื่นๆ ได้นำมาอธิบายสาเหตุของ AGN

อย่างไรก็ตามแอนติบอดีที่ cross react ระหว่าง

เนื้อเยื่อของมนุษย์และแอนติเจนของเชื้อ GAS สามารถพบได้ในเด็กที่แข็งแรงดีทั่วไป การพบเช่นนี้จึงไม่สามารถนำมาอธิบายข้อสันนิษฐานข้างต้นเกี่ยวกับพยาธิกำเนิดของ nonsuppurative ทั้งหมดได้ ดังนั้นการศึกษาให้เข้าใจเรื่องพยาธิกำเนิดของ nonsuppurative ที่แท้จริงจะช่วยในการพัฒนาวัคซีนให้มีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น[1]

## อาการทางคลินิก[1, 2]

โรคคออักเสบ (pharyngitis) และการติดเชื้อที่ผิวหนัง (impetigo หรือ pyoderma) เป็นอาการทางคลินิกที่พบบ่อยที่สุดของโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ GAS อาการติดเชื้อทางเดินหายใจจากเชื้อ GAS ในเด็กอายุ 1-3 ปี อาจเริ่มจากอาการหวัด (serous rhinitis) แล้วพัฒนาเป็นอาการไข้สูงปานกลาง หงุดหงิด และเบื่ออาหาร อาการคออักเสบอย่างชัดเจนพบได้น้อยในเด็กอายุน้อยกว่า 3 ปี[2] ภาวะแทรกซ้อนจากเชื้อ GAS สามารถแบ่งเป็น

1. suppurative complication เนื่องจากการกระจายเชื้อไปยังตำแหน่งที่อยู่ติดกันหรือไปสู่ช่องว่างที่ปลอดเชื้อและเนื้อเยื่อที่อยู่ลึกลงไปเช่น peritonsillar abscess, cervical adenitis, pneumonia, erysipelas, cellulitis, necrotizing fasciitis, lymphangitis, bacteremia, meningitis, septic arthritis, osteomyelitis และ postpartum endometritis

2. nonsuppurative complication แบ่งเป็น

2.1 infection-mediated ได้แก่ scarlet fever และ STSS โดยมีสาเหตุโดยตรงมาจากส่วนประกอบที่ผิวหรือสิ่งที่ขับออกนอกเซลล์ scarlet fever มีลักษณะผื่นแดงรวมกัน หยาบคล้ายกระดาษทราย มักเกิดตามหลังคออักเสบ พบได้น้อยมากตามหลังการติดเชื้อที่ผิวหนัง[2] ส่วน STSS มีเกณฑ์ในการวินิจฉัยได้แก่ การตรวจพบเชื้อ GAS ประกอบกับอาการทางคลินิก คือ ความดันโลหิตต่ำ ร่วมกับ อาการแสดงตั้งแต่ 2 ข้อขึ้นไปดังนี้ การทำงานของไตผิดปกติ ความผิดปกติของระบบแข็งตัวของเลือด การทำงานของตับผิดปกติ มีภาวะการหายใจล้มเหลว มีผื่นชนิด generalized erythematous macular rash และมีการตายของเนื้อเยื่อ[2]

2.2 post-infectious หรือ immune-mediated[1] ได้แก่ ARF และ acute glomerulonephritis (AGN) การวินิจฉัย ARF อาศัย Jones criteria ได้แก่ 2 major หรือ 1 major กับ 2 minor criteria และมีหลักฐานของการติดเชื้อ GAS มาก่อน ดังตารางที่ 1[2]

## การวินิจฉัย[2]

การวินิจฉัยโรคอาศัยอาการทางคลินิก แต่บางครั้งการแยกโรคคออักเสบจากเชื้อไวรัสหรือเชื้อ GAS ก็เป็นสิ่งที่ทำได้ยากในเด็ก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ โดยอาจทำการ swab จากทอนซิลและผนังด้านหลังของคอหอย เชื้อ GAS สามารถเพาะขึ้นบน blood agar ได้อย่างชัดเจน การทำ latex agglutination, fluorescent antibody assay, coagglutination, หรือ precipitation เป็นการแยกเชื้อ GAS ออกจาก beta-hemolytic streptococcus ตัวอื่น การใช้ bacitracin disk ช่วยแยกเชื้อ GAS ได้แต่อาจไม่ดีเท่าวิธีอื่น แม้ว่าจะทำการเก็บตัวอย่างส่งตรวจเพาะเชื้ออย่างดีแล้วก็ตาม พบว่าอาจพบผลลบลวงได้

**ตารางที่ 1 Jones Criteria ในการวินิจฉัย Acute rheumatic fever**

การวินิจฉัยโดยอาศัย 2 major หรือ 1 major กับ 2 minor criteria และมีหลักฐานของการติดเชื้อ GAS มาก่อน

| Major criteria | Minor criteria | Supporting evidence |
|---|---|---|
| Carditis | Clinical findings: | Positive throat culture or rapid |
| Polyarthritis | Fever, arthralgia | test |
| Chorea | Laboratory findings: | OR |
| Erythema marginatum | Elevated acute phase reactants; | Elevated or rising |
| Subcutaneous nodules | prolonged PR interval | streptococcal antibody test |

ร้อยละ 10 นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อ GAS ในลำคอไม่สามารถแยกการติดเชื้อ GAS ออกจากคนที่เป็นพาหะของเชื้อนี้ได้ การทำ rapid test ที่มีใช้อย่างแพร่หลาย ส่วนใหญ่เป็นการตรวจหา nitrous acid จาก group A carbohydrate antigen มีค่าความจำเพาะสูง แต่ความไวแตกต่างกันแล้วแต่วิธีตรวจ กรณีที่การทดสอบให้ผลลบแต่ยังสงสัยการติดเชื้อ GAS ให้ทำการเพาะเชื้อต่อไป แต่ถ้าให้ผลบวกไม่จำเป็นต้องทำการเพาะเชื้อต่อเพราะมีความจำเพาะสูงอยู่แล้ว rapid test ที่ใช้วิธีอื่น เช่น optical immunoassay และ chemiluminescent DNA probe กำลังอยู่ในระหว่างการพัฒนา

**การรักษา**[1]

การให้ยาเพนนิซิลินเพื่อการป้องกันโรค ARF แบบปฐมภูมิ ได้ผลมากกว่าร้อยละ 90 ถ้าให้ยาภายใน 9 วันนับตั้งแต่เริ่มมีการติดเชื้อของคออักเสบ จากการสังเกตพบว่าประมาณร้อยละ 30 ของผู้ป่วย RHD มีการทำลายของลิ้นหัวใจเพิ่มเติมเมื่อมีการติดเชื้อซ้ำของเชื้อ GAS ดังนั้น จึงมีการให้ยาต้านจุลชีพเพื่อป้องกันโรคแบบทุติยภูมิเป็นเวลาหลายปีในผู้ที่ยังมีความเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อ GAS นี้ ในทางตรงข้ามแม้ว่ายาต้านจุลชีพจะทำให้แผลจากการติดเชื้อที่ผิวหนังดีขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่มันไม่ได้ป้องกันการเกิดโรค AGN ตามหลังคออักเสบหรือผิวหนังอักเสบได้ดีนัก ส่วนการติดเชื้อ GAS ที่มีความรุนแรงแนะนำให้มีการใช้ยาหลายอย่างร่วมกัน ได้แก่ เพนนิซิลินและคลินดามัยซิน (เพื่อยับยั้งการสร้างโปรตีน) ร่วมกับการผ่าตัดทำความสะอาดแผล การให้ยาอิมมูโนโกลบูลินทางหลอดเลือดดำได้ถูกนำมาใช้ในการรักษา STSS เพื่อเป็นการกำจัดท็อกซินชนิดรุนแรง แต่ประสิทธิภาพก็ยังไม่สามารถสรุปได้

การรักษาโรคติดเชื้อ GAS มีข้อจำกัด เนื่องจากหนึ่งในสามของโรค ARF มีประวัติของการเกิดโรคติดเชื้อ GAS ที่ไม่ได้มารับการรักษา ในหลายๆ ส่วนของโลกพบว่ายังไม่สามารถเข้าถึงระบบสาธารณสุขได้ดี หรือแม้ว่าจะได้รับการรักษาแล้ว แต่ผลการรักษาของโรคที่รุนแรงก็ยังไม่ดีนัก ดังนั้นการพัฒนาวัคซีนที่ปลอดภัย มีประสิทธิภาพ และราคาย่อมเยา ย่อมเป็นทางที่จะเอาชนะอุปสรรคต่างๆ เหล่านี้ได้

## วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอ

การพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอ หรือ GAS vaccine นี้มีความยากลำบากเนื่องจากต้องมีความสมดุลระหว่างความปลอดภัยและความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ในระยะแรกๆ ได้มีการพัฒนาวัคซีนจากแบคทีเรียทั้งเซลล์ ต่อมาจึงนำแอนติเจนเฉพาะส่วนมาพัฒนาต่อเป็นวัคซีน รายละเอียดดังตารางที่ 2 GAS vaccine ในปัจจุบันสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. M protein vaccines
2. non-M protein vaccines

**1. M protein vaccines**[1,8]

M protein ประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์ที่ขดเป็นวง โดยมีส่วนสำคัญ 4 ส่วนที่สำคัญดังกล่าวข้างต้นแล้วนั้น แต่แอนติเจนที่สำคัญถูกนำมาสร้างเป็นวัคซีนได้แก่ ส่วนของ A-repeat และ C-repeat ทำให้ M protein vaccines แบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่

**1.1 N-terminal GAS vaccines** โดยนำส่วน A-repeat ซึ่งเป็นส่วนที่มีความหลากหลายของแอนติเจนอย่างมาก (highly variable) การนำส่วนนี้มาทำเป็นวัคซีน ทำให้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นสามารถป้องกันโรคได้ เพราะมีคุณสมบัติ opsonization, bactericidal, protective, M type-specific และ long-lasting แต่ใน ปี ค.ศ. 1970 มีรายงานการเกิดโรค ARF ตามหลังการให้วัคซีน partially purified M3 protein ทำให้องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาได้ระงับการนำเชื้อ GAS หรือผลิตภัณฑ์มาใช้ในมนุษย์ อย่างไรก็ตามหลังจากนั้นก็ไม่ได้มีการพิสูจน์ว่า ARF เกิดจากวัคซีนจริง จึงได้กลับมาทำการศึกษาใหม่ในระยะหลัง การศึกษาของ Dale และคณะ เป็นอันที่มีความ

**ตารางที่ 2 Group A streptococcal vaccines ที่ได้ทำการศึกษาในมนุษย์[8]**

| ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์ | แอนติเจน |
|---|---|
| 1923 | 21 strain heat-killed GAS |
| 1930 | Heat-killed GAS |
| 1931 | Heat-killed GAS |
| 1932 | Heat-killed GAS |
| 1933-1943 | GAS toxin and GAS tannic acid precipitated toxin |
| 1937-1941 | GAS tannic acid precipitated toxin |
| 1946 | Heat-killed or ultraviolet-inactivated M17 and M19 GAS |
| 1949 | Heat-killed M3 and M17 GAS |
| 1960 | Partially purified M19 GAS |
| 1962 | Cell wall of M5 and M12 GAS |
| 1963 | Cell wall of M14 GAS |
| 1968 | Partially purified M protein M3 GAS |
| 1969 | Highly purified M protein M12 GAS |
| 1973 | Highly purified M protein M1 GAS |
| 1975 | Highly purified M protein M1 GAS |
| 1978 | Highly purified M protein M3 and M12 GAS |
| 1979 | Polypeptide fragment M protein M24 GAS |
| 2004 | Six-valent N-terminal M protein fragment M1, M3, M5, M6, M19, M24 |
| 2005 | Recombinant 26-valent M protein vaccine along with Spa |

ก้าวหน้ามากที่สุด เป็นการศึกษา recombinant fusion protein ที่มี N-terminus fragments จาก 6 M protein ที่มีความสำคัญทางระบาดวิทยาได้แก่ M1, M3, M5, M6, M19 และ M24 แล้วนำ epitope ที่อาจทำให้เกิด cross react กับเนื้อเยื่อของมนุษย์ออกไป พบว่ามีความปลอดภัย ผลข้างเคียงน้อย ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี 57/60 (ร้อยละ 95) หลังจากนั้นได้มีการพัฒนาต่อเป็นวัคซีนรุ่นที่สองคือ recombinant 26-valent M protein vaccine[6] เป็นชนิดที่สามารถครอบคลุมเชื้อที่ทำให้เกิดโรคคออักเสบและโรครุนแรงในกลุ่มพลเรือนและทหารในประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา เม็กซิโก และอิสราเอล ถึงร้อยละ 85-90 ร่วมกับ Streptococcal protective antigen (Spa) ซึ่งเป็นโปรตีนบนผิวเซลล์ที่กระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้หลังการติดเชื้อตามธรรมชาติ วัคซีนนี้ประกอบด้วย 4 component fusion protein ได้แก่ Hexa A.1 (M24, M5, M6, M19, M29, M14, M24), Septa B.2 (M1.0, M12, Spa, M28, M3, M1.2, M18, M1.0), Septa C.2 (M2, M43, M13, M22, M11, M59, M33, M2) และ Septa D.1 (M89, M101, M77, M114, M75, M76, M92, M89) ผลการศึกษาพบว่ามีผลข้างเคียงได้บ่อย แต่ไม่รุนแรง ไม่พบว่าเป็น ARF มากขึ้น ส่วนใหญ่มีแอนติบอดีสูงขึ้น แต่อาจมีบาง M type ที่พบแอนติบอดีแตกต่างกันในกลุ่มทดลอง นอกจากนี้ 26 valent นี้กำลังมีการศึกษาการให้วัคซีนทางจมูกในหนูทดลอง เนื่องจากเคยพบว่าการให้วัคซีนชนิด 6 valent ร่วมกับ adjuvant นี้ได้ผลดีมาแล้ว[1]

**1.2 Conserved region M protein vaccines**[8] ส่วนของ C-repeat เป็นส่วนของ conserved region ซึ่งได้มีการนำมาพัฒนาเป็นวัคซีน ได้แก่

1. C-terminal region ของ M6
2. Selected B and T-cell epitopes จาก C-repeat region ของ M5 (PepVac StreptInCor vaccine)
3. 12-amino acid minimal B-cell epitope จาก

C-repeat region (J8)

เนื่องจากนำส่วน conserved region มาเป็นวัคซีนน่าจะมีประโยชน์ในแง่ที่อาจป้องกันโรคได้จากทุกสายพันธุ์ มีการศึกษาในสัตว์ทดลองว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีหลังการฉีดและการให้วัคซีนทางจมูก การให้วัคซีนทางเยื่อบุนี้มีข้อดีในแง่ที่กระตุ้นการสร้างอิมมูโนโกลบูลินเอ (IgA) ได้ด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลในมนุษย์ และมีหลักฐานว่า อัลบูมินอาจรบกวนการจับกับแอนติบอดีต่อส่วน C-repeat ได้

## 2. Non-M protein vaccines[8]

เนื่องจากนักวิทยาศาสตร์บางคนมีความกังวลว่า การทำวัคซีนจาก M-protein อาจมีส่วนทำให้เกิด cross-react กับเนื้อเยื่อมนุษย์ และแอนติบอดีเป็น type-specific ก็อาจไม่ครอบคลุมเพียงพอ จึงมีคนคิดว่าน่าจะเอา non-M protein มาทำวัคซีน โดยมีแนวคิดจาก 2 วิธีได้แก่ การนำแอนติเจนที่อยู่ภายนอกเซลล์มาทำเป็นวัคซีน (extracellular virulence factors) เช่น streptococcal C5a peptidase (SCPA), GAS carbohydrate, streptococcal fibronectin-binding proteins และ cysteine protease และวิธีการสรรหาแอนติเจนโดยใช้เทคนิคทางพันธุกรรมและ proteomic reverse vaccinology วัคซีนที่ทำจาก non-M protein ได้แก่

**2.1 Streptococcal C5a peptidase หรือ SCPA** เป็นโปรตีนขนาดใหญ่บนผิวเซลล์ และเป็นกุญแจสำคัญของปัจจัยก่อความรุนแรงสำหรับเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ป A, B, C และ G โดยมันจะไปแบ่ง chemokine C5a ทำให้ป้องกันการรวมพลของเม็ดเลือดขาวชนิด phagocyte และมีส่วนสำคัญของ colonization ของเชื้อ คุณสมบัติของ SCPA ได้แก่ สามารถกระตุ้น IgG และ mucosal IgA ได้ สร้างแอนติบอดีที่มีคุณสมบัติ opsonization และสามารถป้องกันได้หลายๆ M type สามารถป้องกันการติดเชื้อข้ามกลุ่มไปยังสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ป B ได้ด้วย

**2.2 Group A streptococcus carbohydrate** มีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งระบบ และที่เยื่อบุลำคอกับ M type หลายๆชนิดได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาในมนุษย์

**2.3 Streptococcal fibronectin-binding proteins** ได้แก่ serum opacity factor (SOF), fibronectin-binding protein 54 (FBP54), FbaA, streptococcal fibronectin-binding protein 1 (Sfb1) มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีได้เป็นอย่างดี หากให้วัคซีนทางการพ่นจมูก มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเฉพาะที่จมูก แต่ไม่มีการกระตุ้น IgG และในทางตรงกันข้ามการฉีดวัคซีนก็ไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จมูกได้ แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาในมนุษย์

**2.4 Cysteine protease and streptococcal pyrogenic exotoxins** ได้แก่

- Streptococcal pyrogenic exotoxin A (SpeA) และ SpeC เป็น superantigen toxin เป็นสาเหตุของ STSS
- extracellular cysteine protease หรือ streptococcal pyrogenic exotoxin B (SpeB) (เป็นการตั้งชื่อผิด เพราะไม่ได้มีโครงสร้างเหมือน pyrogenic exotoxin ตัวอื่น) พบอยู่เกือบทุกเชื้อ GAS และเป็นส่วนสำคัญของปัจจัยความรุนแรงบนผิวหรือสารที่หลั่งออกมา

การนำแอนติเจนสองชนิดคือ SpeA และ SpeB ทำเป็นวัคซีน พบว่าป้องกันการเสียชีวิตของหนูและ STSS ได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาในมนุษย์

**2.5 Streptococcal pili (หรือเรียกว่า T antigen) Pili** จากเชื้อ GAS, GBS, *S.pneumoniae* สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันได้ในสัตว์ทดลอง และเป็นส่วนที่ highly conserved หากมีการนำมาทำวัคซีนจาก 12 pili variants ก็จะสามารถครอบคลุมเชื้อได้ถึงร้อยละ 90

**2.6 New antigens identified by proteomics and/or genomics** เป็นการสร้างวัคซีนจาก reverse vaccinology โดยมีการวิเคราะห์สารพันธุกรรมเพื่อทราบมีโปรตีนชนิดใดที่เหมาะที่จะนำมาทำวัคซีน ส่วน Proteomics เป็นการศึกษาโปรตีนของแบคทีเรียที่ปรากฏอยู่บนผิวเซลล์นั้น จากการศึกษานี้ทำให้ทราบว่ามีปัจจัยก่อ

ความรุนแรง ที่อาจนำมาทำวัคซีนได้แก่ streptococcal serine esterase (Sse), 2 heme-binding proteins (shp and HtsA), Streptococcal cell envelope proteinase (Spy0416 หรือเรียกว่า SpyCEP or ScpC) และ Lipoproteins

นอกจากการพัฒนาวัคซีนป้องกันเพื่อโรคติดเชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอแล้ว เรายังสามารถป้องกันการติดเชื้อ GAS ได้ด้วยวิธีทางอ้อม เพราะเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่า การติดเชื้อไวรัสบางชนิด เช่น อีสุกอีใส และ ไข้หวัดใหญ่ อาจเป็นตัวนำ (predisposed) ต่อการติดเชื้อ GAS ที่รุนแรง ดังนั้นถ้าเราป้องกันการติดเชื้อไวรัสเหล่านี้ด้วยวัคซีนป้องกันโรคอีสุกอีใสหรือวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ที่มีอยู่แล้ว ก็จะสามารถลดอัตราการเกิดการติดเชื้อ GAS ที่รุนแรงได้ด้วย

## สิ่งที่ท้าทายในการพัฒนาวัคซีน[1]

ภายใต้วัคซีนหลายชนิดที่กำลังพัฒนาอยู่นี้ มีเพียงวัคซีนชนิดเดียวที่ไปถึงการศึกษา phase I คือ 26-valent M protein vaccine ของ Dale และคณะ[6] ส่วน conserved region M protein vaccine ที่มีแนวโน้มจะนำไปสู่การศึกษา phase I ในอนาคตอันใกล้คือ J8 vaccine[8] เชื้อ GAS ที่มีมากกว่า 120 M serotype หรือ 150 *emm* types แถมยังมีความหลากหลายของ aminoterminus ของ M type เดียวกันด้วย เชื้อที่วนเวียนอยู่ในประเทศกำลังพัฒนาก็มีความแตกต่างกับเชื้อในประเทศสหรัฐอเมริกาพอสมควร การศึกษาระดับ preclinic ยังมีปัญหาว่า ไม่สามารถหาสัตว์ทดลองที่เหมาะสมต่อโรค ARF ได้และรับประกันไม่ได้ว่าจะไม่มี B และ T cell epitopes ที่ cross react กับเนื้อเยื่อของ host หรือ ไม่มีคุณสมบัติของ superantigen จริง

นอกจากนี้ยังมีปัญหาเกี่ยวกับการวัดผลของการศึกษา phase III อยู่ที่ใด และอาจมีปัจจัยรบกวนในการแปลผลการศึกษาเช่น herd immunity และ asymptomatic colonization และหากมีการให้วัคซีนแล้วจะมี *emm* type ใหม่โผล่ขึ้นมาหรือไม่ หรืออาจพบ non-vaccine serotype มาแทนที่ก็อาจเป็นได้

## สรุป

เชื้อสเตร็ปโตคอคคัสกรุ๊ปเอสามารถทำให้เกิดโรคที่มีความหลากหลายอย่างมาก ตั้งแต่รุนแรงน้อย เช่น คออักเสบ ผิวหนังอักเสบไปจนถึงภาวะแทรกซ้อนที่มีความรุนแรงมาก ได้แก่ ARF, AGN และ STSS การศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของเชื้อ GAS และเข้าใจถึงพยาธิกำเนิดโรค มีบทบาทอย่างมากต่อการพัฒนาวัคซีนที่มีคุณภาพและความปลอดภัย M protein ถือเป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการผลิตวัคซีนปัจจุบัน นอกจากนี้ยังมีแนวคิดใหม่ในการนำแอนติเจนชนิด non-M protein เพื่อมาพัฒนาวัคซีนต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง

1. Kotloff KL. Streptococcus group A vaccines. In: Plotkin S, Orenstein W, Offit P, editors. Vaccines. 5th ed. Philadelphia: Saunders; 2008. p.1317-25.

2. American Academy of Pediatrics. Group A Streptococcal infections. In: Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, editors. Red Book: 2009 Report of the Committee on Infectious Diseases. 28th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2009. p.616-28.

3. Glezen WP, Clyde WA Jr, Senior RJ, Sheaffer CI, Denny FW. Group A streptococci, mycoplasma, and viruses associated with acute pharyngitis. JAMA. 1967;202:455-60.

4. Centers of Disease Control and Preven-

tion (CDC)[Internet]. Active bacterial core surveillance report, Emerging infections program network, Group A streptococcus; 2005. Available from: http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/abcs/survreports/gas05.pdf

5. Guilherme L, Fae KC, Higa F, Chaves L, Oshiro SE, Freschi de Barros S, et al. Towards a vaccine against rheumatic fever. Clin Dev Immunol. 2006;13:125-32.

6. Dale JB. Current status of group A streptococcal vaccine development. Adv Exp Med Biol. 2008;609:53-63.

7. Anthony BF, Kaplan EL, Wannamaker LW, Briese FW, Chapman SS. Attack rates of acute nephritis after type 49 streptococcal infection of the skin and of the respiratory tract. J Clin Invest. 1969; 48:1697-704.

8. Steer AC, Batzloff M, Mulholland K, Carapetis JR. Group A streptococcal vaccines: facts versus fantasy. Curr Opin Infect Dis. 2009;22:544-52.