

วัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วง จากเชื้อแบคทีเรีย

51

ผกากรอง ลุ่มพิกานนท์

บทนำ

โรคอุจจาระร่วงเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตในเด็กโดยเฉพาะเด็กที่อยู่ในประเทศกำลังพัฒนา เชื้อก่อโรคอุจจาระร่วงมีหลายชนิดทั้งแบคทีเรีย ไวรัส และพาราสิต เชื้อในกลุ่มไวรัส เช่น enteric adenoviruses, astroviruses, human caliciviruses ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญเช่น *E. coli*, *Shigella* และ *Campylobacter* นอกจากโรคอุจจาระร่วงเกิดจากเชื้อต่างๆ ได้มากหลายชนิดแล้ว เชื้อชนิดเดียวกัน ยังมี antigenic diversity มาก ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต้องป้องกันเชื้อที่มีความแตกต่างเหล่านี้ได้ด้วยและวัคซีนต้องสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่ทางเดินอาหาร (gastrointestinal mucosal immunity) จึงจะป้องกันการติดเชื้อได้ ปัจจุบัน

เหล่านี้ทำให้การคิดค้นวัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อต่างๆ ที่กล่าวมาเป็นเรื่องยาก¹ ในบทความนี้จะกล่าวถึงวัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงที่กำลังวิจัยพัฒนาและมีแนวโน้มที่จะใช้ได้

โรคอุจจาระร่วงจาก Enterotoxigenic *E. coli*

เชื้อก่อโรค

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งชนิด facultative anaerobe ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ในปริมาณมาก มีเชื้อ *E. coli* อย่างน้อย 6 ชนิดที่สามารถทำให้เกิดอุจจาระร่วงได้ซึ่งรวมเรียกว่า diarrheagenic *E. coli*² *E. coli* แต่ละสายพันธุ์ทำให้เกิดอุจจาระร่วงโดยอาศัย virulent factor ต่างๆ ตาม ตารางที่³

ตารางที่ 1 Diarrheagenic *E. coli* แต่ละสายพันธุ์ virulent factor ลักษณะของโรค และวิธีการวินิจฉัย

	Adhesins	Toxins	ลักษณะอุจจาระ	ภาวะแทรกซ้อน	การวินิจฉัย
ETEC	CFA	LT, STa, STb	ถ่ายเป็นน้ำ	ขาดน้ำ	ใช้ probe ตรวจหา LT หรือ ST toxins
EAEC	AAFI, AAFII	EAST1	ถ่ายเป็นน้ำ	อุจจาระร่วงเรื้อรัง ขาดสารอาหาร	Adherence assay ใช้ probe ตรวจหา AAF1
EPEC	EAF	ไม่มี	ถ่ายเป็นน้ำ	ขาดน้ำ ขาดสารอาหาร	ใช้ probe ตรวจหา EAF adherence
STEC (EHEC)	EAF	Shiga-toxins	ถ่ายเป็นเลือด	HUS	ใช้ probe ตรวจหา shiga toxins
EIEC	EAF		ถ่ายเป็นน้ำหรือมีเลือดปน	ถ่ายเป็นเลือด	ใช้ probe ตรวจหา invasin

คำย่อ : AAF = adherence fimbriae, CFA = colonizing fimbriae, EAEC = enteroaggregative *E. coli*

EAF = EPEC adherence factor, EAST = *E. coli* aggregative secretory toxin, EHEC = enterohemorrhagic *E. coli*, EIEC = enteroinvasive *E. coli*, EPEC = enteropathogenic *E. coli*, ETEC = enterotoxigenic *E. coli*, HUS = hemolytic uremic syndrome, LT = heat-labile toxin, ST = heat-stable toxin, STEC = shiga-toxin producing *E. coli*

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 3)

ระบาดวิทยา

Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อแบคทีเรียในประเทศกำลังพัฒนาโดยเฉพาะในเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี พบประมาณร้อยละ 70-80 และพบโรคอุจจาระร่วงจาก ETEC ประมาณ 280-400 ล้านครั้งต่อปี โดยพบว่ามีอุบัติการณ์สูงสุดในเด็กช่วง 2 ขวบปีแรกของชีวิต ETEC เป็นสาเหตุสำคัญที่สุด (ร้อยละ 20-70) ของโรคอุจจาระร่วงในผู้เดินทาง (traveler diarrhea) นอกจากนั้นเชื้อ ETEC ยังเป็นสาเหตุของการระบาดของอุจจาระร่วงที่เกิดจากอาหารด้วย (foodborne outbreak)³

พยาธิกำเนิด

การติดเชื้อ ETEC เกิดจากการกินเอาเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารหรือน้ำ (fecal-oral route) เชื้อที่กินเข้าไปต้องมีจำนวนค่อนข้างมาก ประมาณ 10^8 ถึง 10^9 จึงจะก่อให้เกิดอาการได้ ซึ่งปริมาณเชื้อที่จะก่อโรคได้นี้มีจำนวนใกล้เคียงกับเชื้อ cholerae เชื้อ ETEC จะเกาะผนังของเยื่อบุลำไส้เล็กด้วย fimbriae ซึ่งเรียกว่า colonization factor antigens (CFAs) หรือ coli surface antigens (CSs) ซึ่งปัจจุบันพบว่า CFAs ของ ETEC ที่ก่อโรคในคนมีมากกว่า 20 ชนิดและชนิดที่พบบ่อยมี 7 ชนิด ได้แก่ CFA/I และ CS1 ถึง CS6⁴ มีการศึกษาพบว่าภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อ fimbriae สามารถป้องกันการที่ ETEC จะจับกับผนังลำไส้ ทำให้ป้องกันการติดเชื้อได้ แต่ภูมิคุ้มกันนี้จำเพาะสำหรับ fimbriae ชนิดหนึ่งๆ เท่านั้น ไม่สามารถ

มี cross protection ได้⁵ CFAs จะจับกับ receptor ของ enterocyte แล้วเชื้อจะสร้าง enterotoxin ซึ่งมี 2 ชนิด คือ heat labile toxin (LT) และ heat stable toxin (ST) LT มีส่วนประกอบคล้ายกับ cholera toxin (CT) มาก โดยประกอบด้วย 1 A subunit และ 5 B subunit LT กระตุ้น adenylate cyclase และเพิ่ม intracellular cyclic AMP ทำให้เกิด secretory diarrhea พบว่าแอนติบอดีต่อ LT สามารถป้องกันการเกิดโรคได้ ST เป็น peptide toxin มีขนาดเล็กเพียง 18-19 amino acid ส่วน ST ไม่ immunogenic จึงไม่เป็น candidate immunogen

วัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงจาก ETEC

การศึกษาการดำเนินโรค (natural history) ของการติดเชื้อ ETEC พบว่า อัตราการเกิดโรคอุจจาระร่วงจาก ETEC และสัดส่วนของผู้ที่มีอาการต่อผู้ติดเชื้อแบบไม่มีอาการลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น ทำให้เชื่อว่าการติดเชื้อ ETEC สามารถป้องกันได้ด้วยวัคซีน ส่วนกลุ่มเป้าหมายที่จะได้ประโยชน์จากวัคซีนนี้เป็นอย่างมากคือเด็กเล็กในประเทศกำลังพัฒนาและผู้เดินทางไปยังประเทศกำลังพัฒนา ETEC candidate vaccine ที่มีการพัฒนาแบ่งเป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย (inactivated ETEC vaccine) และชนิดเชื้อเป็น (live candidate vaccine)

1. วัคซีน ETEC ชนิดเชื้อตาย

วัคซีนที่มีการพัฒนามีหลายชนิด ดังตารางที่ 2⁶

ตารางที่ 2 วัคซีน ETEC ชนิดเชื้อตายที่มีการพัฒนา

แอนติเจนของวัคซีน ETEC	การบริหารวัคซีน
Toxoids (CTB, LT, mutant LT, LTB, CTB/LTB hybrid)	ให้ทางปาก หรือ transcutaneous
Inactivated CF-expressing whole bacterial cell + toxoid	ให้ทางปาก
Purified CFs หรือ CF tip proteins	ให้ทางปาก หรือ transcutaneous
Heat-stable enterotoxin toxoids	ให้ทางปาก หรือ transcutaneous

คำย่อ : ETEC= enterotoxigenic *Escherichia coli*, CF = colonization factor, LT = heat —labile toxin, CTB = cholera toxin subunit B, LTB = heat-labile toxin subunit B (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6)

วัคซีนที่มีข้อมูลค่อนข้างมากและน่าสนใจ เช่น

- Cholera-ETEC vaccine เป็น whole cell killed vaccines ซึ่งพัฒนาโดยคณะนักวิจัยที่มหาวิทยาลัย Goteborg ประเทศสวีเดน ประกอบด้วย formalin-killed ETEC 5 strains ซึ่ง express fimbriae ชนิดต่างๆ ของเชื้อที่พบบ่อยคือ CFA/I และ CS1-CS6 ร่วมกับ recombinant cholera toxin B subunit (rCTB) การศึกษาในอาสาสมัครผู้ใหญ่รวมทั้งเด็กอายุ 2-12 ปี พบว่าวัคซีนมีความปลอดภัยและป้องกันโรค⁷ การตรวจ intestinal lavage และ antibody secreting cells (ASC) พบว่าวัคซีนกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคในลำไส้ได้โดยพบแอนติบอดีต่อ rCTB และ fimbrial แต่ละชนิด การศึกษาในผู้ใหญ่และเด็กใน endemic area ที่ประเทศบังกลาเทศ และประเทศอียิปต์พบว่า วัคซีนสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ มีการศึกษา rCTB-killed ETEC vaccine ในชาวยุโรปที่เดินทางไปยังประเทศกำลังพัฒนา พบว่ามีประสิทธิภาพป้องกันอุจจาระร่วงจาก ETEC ได้ร้อยละ 82⁸ ส่วนการศึกษาแบบ placebo-controlled phase III trial ในผู้ใหญ่ชาวสหรัฐอเมริกาที่เดินทางไปประเทศเม็กซิโกและกัวเตมาลา พบว่าประสิทธิภาพในการป้องกันอุจจาระร่วงที่รุนแรงจาก ETEC เท่ากับร้อยละ 77⁹ แต่การ

ศึกษาภาคสนามในเด็กอายุ 6-18 เดือนจำนวน 350 คน ที่ประเทศอียิปต์กลับพบว่าวัคซีนไม่มีประสิทธิภาพ¹

ในปัจจุบัน มีการพัฒนาวัคซีน rCTB-killed ETEC vaccine เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นในเด็กอายุน้อย⁶ โดยการเพิ่มจำนวน protective antigen คือ CFA ด้วยวิธี recombinant technology^{10,11} และการใช้ LT toxoid ชนิดอื่นเช่น hybrid LTB/CTB toxoid (ซึ่งอาจจะป้องกันได้ทั้ง cholera และ ETEC) การใช้ mucosal adjuvant เช่น LTR192G/L211A ซึ่งพบว่ามี strong adjuvant activity ในสัตว์ทดลอง นอกจากนั้นยังมีการศึกษาการบริหารวัคซีนวิธีอื่น เช่นการให้ทาง sublingual ซึ่งพบว่าเป็นวิธีบริหารวัคซีนที่ง่ายและมีประสิทธิภาพสำหรับวัคซีนที่ต้องการภูมิคุ้มกันที่เยื่อเมือก (mucosal vaccine)¹²

2. วัคซีน ETEC ชนิดเชื้อเป็น

วัคซีนชนิดต่างๆที่มีการพัฒนาดังแสดงในตารางที่ 3⁶ ตัวอย่างเช่น

- Live attenuated ETEC vaccine ใช้ genetically attenuated ETEC เป็น vector ของ ETEC แอนติเจนที่ immunogenic เช่น ETEC ที่มี

ตารางที่ 3 วัคซีน ETEC ชนิดเชื้อเป็นชนิดต่างๆที่มีการพัฒนา

Vaccine approach หรือ prototype	สถาบันที่พัฒนา
Attenuated nontoxigenic ETEC bacteria expressing colonization factor	ACE Biosciences
Hybrid <i>Shigella</i> /ETEC live vector vaccine	Center for Vaccine Development (CVD) มหาวิทยาลัยแมรีแลนด์ สหรัฐอเมริกา
<i>Vibrio cholerae</i> Peru 15 expressing cholera toxin subunit B	Avant Immunotherapeutics
<i>Salmonella</i> expressing heat-labile toxin subunit B	Emergent Biosolutions
<i>Vibrio cholerae</i> CVD 103-HgR expressing CS3	Berna Biotech/Crucell

คำย่อ : ETEC= enterotoxigenic *Escherichia coli*, CS = coli surface antigen

(ดัดแปลงจากเอกสารหมายเลข 6)

deletion mutation ที่ aroC, ompC, ompF และ express CS2 ถึง CS3 หรือ CS1+CS2+CS3 การศึกษา phase I พบว่าทำให้เกิด mucosal immunity ต่อ CF ชนิดต่างๆ ได้^{13,14} นอกจากนั้นยังมีการทำวัคซีน 3 strain คือ ACM2023, ACM2025, ACM2027 ซึ่ง express LTB ร่วมกับ CS4-CS6, CFA/I และ CS1-CS3 ตามลำดับ กำลังจะมีการทดลองความปลอดภัย และ immunogenicity ในอาสาสมัครผู้ใหญ่

- Multivalent *Shigella*/ETEC vaccine ใช้ attenuated *Shigella* 5 ซีโรทัยป์ ได้แก่ *Shigella dysenteriae* 1, *S. flexneri* 2a, *S. flexneri* 3a, *S. flexneri* 6 และ *S. sonnei* เป็น live vector เพื่อให้ express ETEC แอนติเจน ได้แก่ CFA/I, CS1-6 และ LT จาก ETEC ของคนที่ทำให้อ่อนฤทธิ์โดยวิธีการทางพันธุวิศวกรรม การศึกษาวัคซีนเหล่านี้ในสัตว์ทดลองพบว่าสามารถกระตุ้น systemic IgG และ mucosal IgA ต่อทั้ง ETEC และ *Shigella*^{15,16} และกำลังจะมีการศึกษาในคนต่อไป วัคซีนชนิดนี้มีขั้นตอนในการผลิตที่ยุ่งยาก แต่ถ้าวินิจฉัยการทดลองเป็นผลสำเร็จจะเป็นวัคซีนที่มีประโยชน์อย่างมาก เพราะป้องกันได้ทั้ง ETEC และ *Shigella* ซึ่งเป้าหมายของการใช้วัคซีนนี้คือคนกลุ่มเดียวกันได้แก่ เด็กเล็กในประเทศกำลังพัฒนาและผู้เดินทางไปยังประเทศกำลังพัฒนา

- Attenuated *Vibrio cholerae* และ *Salmonella* strain เพื่อใช้เป็น vector ของ ETEC แอนติเจน หลักการคล้ายกับการใช้ attenuated *Shigella* เช่นการใช้ attenuated *Salmonella* serovar Typhi และ *V. cholera* O1 strain ที่ express CTB/LT B subunit และ CFs ชนิดต่างๆ ของ ETEC มาทดลองเป็นวัคซีน

ปัญหาสำคัญของวัคซีนชนิดกินเหล่านี้คือเมื่อทำการทดสอบในเด็กเล็กในประเทศกำลังพัฒนามักพบว่าภูมิคุ้มกันและประสิทธิภาพในการป้องกันโรคมักจะน้อยกว่าในผู้ใหญ่และน้อยกว่าการตอบสนองต่อวัคซีนชนิดเดียวกันในการศึกษาในคนในประเทศพัฒนา

แล้ว^{17,18} มีความพยายามที่จะศึกษาหาวิธีทำให้การตอบสนองต่อวัคซีนในเด็กเล็กดีขึ้น เช่นการศึกษา cholera vaccine ชนิดกินในเด็กอายุ 6-18 เดือนที่ประเทศบังคลาเทศโดยการให้ดนมแม่ 3 ชั่วโมงก่อนให้วัคซีนหรือการให้กินธาตุสังกะสีเป็นเวลา 3 สัปดาห์ก่อนให้วัคซีน พบว่าทำให้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นดีกว่าเดิม¹⁹

โรคอุจจาระร่วงจาก *Shigella* species

เชื้อก่อโรค

Shigella เป็นแบคทีเรียแกรมลบ family Enterobacteriaceae, non-motile, nonencapsulated *Shigella* มี 4 ซีโรกรุป ได้แก่ กรุป A (*S. dysenteriae*), กรุป B (*S. flexneri*), กรุป C (*S. boydii*) และ กรุป D (*S. sonnei*) แต่ละ ซีโรทัยป์ ยังแบ่งเป็น serotype โดยอาศัย O แอนติเจน รวม 47 ซีโรทัยป์ O แอนติเจนเป็นส่วนหนึ่งของ lipopolysaccharide ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ outer membrane protein ของแบคทีเรียแกรมลบ lipopolysaccharide ยังประกอบด้วย core oligosaccharide และ lipid A

ระบาดวิทยา

Shigella เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงซึ่งสามารถติดต่อจากคนไปสู่คนได้ง่ายมากโดยการปนเปื้อนเชื้อที่ขับถ่ายออกมาทางอุจจาระ เชื้อมีชีวิตในน้ำที่อุณหภูมิห้องได้นานถึง 6 เดือน การทดลองในอาสาสมัครผู้ใหญ่พบว่าเชื้อจำนวนเพียง 10 ตัว สามารถทำให้เกิดอุจจาระร่วงได้ การติดเชื้อพบบ่อยที่สุดในเด็ก ซีโรกรุป ที่พบบ่อยแตกต่างกันในแต่ละประเทศโดยในประเทศกำลังพัฒนาพบเชื้อ *S. flexneri* บ่อยที่สุด ส่วนในประเทศที่พัฒนาแล้วพบ *S. sonnei* บ่อยที่สุด²⁰ (ตารางที่ 4) *Shigella* ไม่มีแหล่งรังโรคในสัตว์

พยาธิกำเนิด

การติดเชื้อ *Shigella* เกิดจากการกินอาหาร

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะต่างๆ ทางระบาดวิทยาของการติดเชื้อ *Shigella* ในประเทศกำลังพัฒนาและประเทศที่พัฒนาแล้ว

ลักษณะ	ประเทศกำลังพัฒนา	ประเทศที่พัฒนาแล้ว
จำนวนผู้ป่วยต่อปี	160 ล้าน	ประมาณ 100,000
จำนวนผู้ป่วยเสียชีวิต	ประมาณ 1.1 ล้าน	น้อยกว่า 10,000
สภาวะที่มักพบการติดเชื้อ	การอยู่อย่างแออัด สุขอนามัยไม่ดี	การอยู่รวมกันของคนจำนวนมาก เช่น การเข้าค่าย ผู้โดยสารบนเรือ หรือในเครื่องบิน สถานเลี้ยงเด็ก
ผู้เสี่ยงต่อการติดเชื้อ	เด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี การขาดสารอาหาร ภูมิคุ้มกันบกพร่อง	ผู้ที่ไม่ใช่ภูมิคุ้มกัน (ยังไม่เคยติดเชื้อ)
Serogroup ที่พบบ่อย (%)		
<i>S. flexneri</i>	60	18
<i>S. sonnei</i>	23	72
<i>S. dysenteriae</i>	10	2
<i>S. boydii</i>	6	1

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 20)

หรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อที่ออกมากับอุจจาระของผู้ป่วย เชื้อรุกรานเข้าสู่ epithelium cell ของลำไส้ใหญ่โดย transcytosis เข้าไปใน M cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่ lymphoid follicles ของผนังลำไส้ ทำให้เกิดการอักเสบและทำลายเซลล์ผนังลำไส้ใหญ่ จึงทำให้มีมูกเลือดออกมากับอุจจาระ นอกจากนั้นเชื้อ *S. dysenteriae* ยังมี Shiga toxin ซึ่งทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนเช่น hemolytic uremic syndrome⁵

วัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงจาก *Shigella*

การศึกษาทางระบาดวิทยาและการศึกษาในอาสาสมัครพบว่าภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อน่าจะขึ้นกับ O แอนติเจนของ *Shigella* และเป็นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะสำหรับแต่ละสายพันธุ์ ปัญหาในการพัฒนา *Shigella* vaccine คือการติดเชื้อ *Shigella* ที่พบบ่อยเกิดจากเชื้อหลายซีโรทัยป์⁵ ดังนั้น LPS *Shigella* vaccine ต้องรวมหลายซีโรทัยป์ ที่ทำให้เกิดโรคบ่อยๆนี้ไว้ด้วย จึงจะป้องกันโรค

ได้ดี วัคซีนที่กำลังพัฒนามีทั้งชนิดเชื้อตายและชนิดเชื้อเป็น เช่น

1. Live attenuated *Shigella* vaccine

- *S. flexneri* 2a, SC602 การศึกษาในอาสาสมัครผู้ใหญ่ 88 คน เด็ก 79 คน อายุ 8-10 ปี โดยสุ่มให้กลุ่มหนึ่งได้วัคซีนกิน 1 ครั้งในขนาดต่างๆ และอีกกลุ่มได้ยาหลอก พบว่าวัคซีนมีความปลอดภัย แต่การตรวจซีรัมแอนติบอดีต่อ LPS พบว่าวัคซีนยังกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการกินได้ไม่ดี²¹

- FS bivalent vaccine เป็นวัคซีนเชื้อเป็นชนิดอ่อนฤทธิ์ชนิดกิน ประกอบด้วยด้วยเชื้อ *S. sonnei* ที่ปราศจาก invasion plasmid รวมกับ *S. Flexneri* 2a²² การศึกษาในอาสาสมัครพบว่าวัคซีนมีความปลอดภัยและกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี ประมาณร้อยละ 65-75 ของอาสาสมัครมีเชื้อออกมาในอุจจาระเป็นเวลา 1-3 วัน การศึกษาภาคสนามโดยการให้วัคซีนในผู้ใหญ่และเด็กโตจำนวน

17,500 คน และให้ยาหลอกในอาสาสมัครจำนวนเท่าๆ กันที่ประเทศจีน ประเมินผลโดยการเฝ้าระวังการเกิดโรค (passive surveillance) เป็นเวลา 5-6 เดือน พบว่าวัคซีนมีประสิทธิภาพป้องกันการติดเชื้อ *S. flexneri*, *S. sonnei* และ *Shigella* ชนิดอื่นได้ร้อยละ 61-65, 50-72 และ 48-52 ตามลำดับ วัคซีนได้จดทะเบียนและมีใช้แล้วในประเทศจีน ยังไม่มีข้อมูลเหล่านี้ในเด็กเล็ก

2. วัคซีนเชื้อตาย (killed whole cell) และ subunit vaccine

มีมากมายหลายชนิด เช่น

- Shigella LPS conjugate vaccine มีการศึกษาอย่างน้อย 3 ชนิดได้แก่^{1,5}

- *S. dysenteriae* type 1 LPS conjugate กับ tetanus toxoid

- *S. flexneri* 2a LPS conjugate กับ recombinant *Pseudomonas* exoprotein A

- *S. sonnei* LPS conjugate กับ exoprotein A

วัคซีนทั้ง 3 ชนิดนี้ได้ทดลองในอาสาสมัครในประเทศอิสราเอลพบว่า สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ และมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรค มีการพัฒนาวัคซีนให้ดียิ่งขึ้นและต้องมีการศึกษาในเด็กต่อไป

- วัคซีนที่ใช้ invasin เป็นส่วนประกอบ invasin คือ extracellular protein ที่แบคทีเรียใช้ในการเกาะติดและเข้าสู่เซลล์²³ มีการศึกษา invasion complex vaccine ของเชื้อ *S. flexneri* หรือ *S. sonnei* ในหนูแล้วพบว่าทำให้วัคซีนของเชื้อตัวใดตัวหนึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อที่เหลือได้ โดยการทดลอง challenge ด้วย homologous strain และวัคซีนรวมเชื้อทั้งสองชนิดนี้ (bivalent vaccine) ก็สามารถป้องกันการติดเชื้อจากเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้^{24,25} การศึกษา *S. flexneri* 2a Invaplex50 ในอาสาสมัคร 32 คนโดยการให้วัคซีนทางจมูก 3 ครั้งห่างกันทุก 2 สัปดาห์ พบว่าวัคซีนมีความปลอดภัยและกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ทั้งในซีรัมและที่เยื่อ (systemic and mucosal immune

response) ปัจจุบันกำลังมีการศึกษาเพื่อหาขนาดที่เหมาะสมและปรับปรุงเครื่องมือที่ใช้ในการให้วัคซีนทางจมูกเพื่อให้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น รวมทั้งการพัฒนา multivalent vaccine ซึ่งประกอบด้วย *S. flexneri* 2a, *S. sonnei* และ *S. dysenteriae*²⁶

โรคอุจจาระร่วงจาก Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC)⁵

เชื้อก่อโรค

E. coli ที่ lysogenized โดย phage ซึ่ง encode Shiga toxin เรียกว่า Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) ชื่อเดิมคือ enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)

ระบาดวิทยา

STEC serotype O157:H7 เป็นเชื้อที่พบประจำถิ่น (endemic) ในประเทศสหรัฐอเมริกา การรับเชื้อเกิดจากการกินอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อเข้าไป มีข้อมูลจากการระบาดพบว่าเชื้อ STEC serotype O157:H7 เพียง 100 ตัวสามารถก่อโรคได้ และยังพบว่าในธรรมชาติเชื้ออาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์พวกวัวควายและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นด้วย มีรายงานการระบาดจากการสัมผัสสัตว์ในสวนสัตว์ การกินเนื้อสัตว์และอาหารอื่นที่ปนเปื้อนเชื้อจากมูลสัตว์และอาหารนั้นทำให้สุกไม่นานพอหรือไม่ได้ทำให้สุกเลย²⁷

พยาธิกำเนิด

เชื้อ STEC colonize ที่เยื่อของผนังลำไส้ใหญ่ และทำลายผนังลำไส้ เชื้อ STEC ที่สำคัญคือ STEC serotype O157:H7 เชื้อนี้ทำให้เกิดอาการถ่ายเป็นน้ำและเกิด hemorrhagic colitis ส่วน Shiga toxin ที่ดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดทำให้เกิดอาการแทรกซ้อนต่างๆ รวมทั้ง hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งพบได้ร้อยละ 20 ของผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้อ อาการแทรกซ้อนอาจรุนแรงทำให้เสียชีวิตได้เช่น intestinal

perforation และ cerebro-vascular accident²⁸

วัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงจาก STEC

มีการศึกษา STEC serotype O157:H7 วัคซีนโดยใช้ส่วนต่างๆ ของตัวเชื้อหลายชนิด เช่น O157 polysaccharide ซึ่งเป็น capsular type O แอนติเจนสำคัญและกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่น่าจะป้องกันโรคได้ การป้องกันกันการเป็นแหล่งรังโรคในสัตว์อาจเป็นประโยชน์ในการป้องกันการติดเชื้อในคน จึงมีการพัฒนาวัคซีนสำหรับสัตว์ด้วย⁵

- *E. coli* O157:H7 Type III secreted protein vaccine เป็นวัคซีนสำหรับใช้กับสัตว์พวกวัวควาย ใช้ type III-secreted supernatant protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่ entero-hemorrhagic *E. coli* ปล่อยเข้าไปในเซลล์ที่มีการติดเชื้อ²⁹ การศึกษาโดยการให้วัคซีน 3 ครั้งห่างกัน 3 สัปดาห์พบว่า สัตว์ที่ได้วัคซีนมีจำนวนวันที่พบเชื้อในอุจจาระลดลงร้อยละ 36.5 และจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ออกมาในอุจจาระก็ลดลงด้วย ประสิทธิภาพของวัคซีนโดยรวมมากกว่าร้อยละ 99³⁰ ปัจจุบันบริษัท Bioniche Life Science Inc. ของประเทศแคนาดาได้ผลิตวัคซีนชนิดนี้สำหรับวัวควายเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ในประเทศแคนาดา และต้องมีการติดตามผลต่อไปทั้งผลการลด colonization ในสัตว์และผลการลดการติดเชื้อในคน เนื่องจากในธรรมชาติยังมีสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อ STEC³¹

โรคอุจจาระร่วงจาก *Campylobacter*

เชื้อก่อโรค

Campylobacter เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Campylobacterales ซึ่งมี 2 families คือ Helicobacteraceae, และ Campylobacteraceae ซึ่งประกอบด้วย genera *Campylobacter*, *Arcobacter* และ *Sulfurospirillum* *Campylobacter* เป็นแบคทีเรีย

กรัมลบรูปแท่ง ชนิด microaerophilic รูปร่างโค้ง spiral หรืองอคล้ายตัวอักษร s เคลื่อนที่ได้รวดเร็วโดยอาศัย flagella genus *Campylobacter* มี 14 species และ 7 subspecies การติดเชื้อในคนส่วนใหญ่เกิดจาก *C. jejuni* และ *C. coli* มีส่วนน้อยที่เกิดจากเชื้อ *C. upsaliensis*, *C. lari* และ *C. fetus*

ระบาดวิทยา

Campylobacter เป็นเชื้อที่พบในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม การติดเชื้อในสัตว์ส่วนใหญ่ไม่มีอาการ การติดเชื้อในคนส่วนใหญ่เกิดจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อโดยไม่ได้ทำให้สุก เช่น สัตว์ปีก นมที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ น้ำที่ปนเปื้อน รวมทั้งการสัมผัสสัตว์ปีก โดยเป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงจากเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้วและประเทศที่กำลังพัฒนา พบมากที่สุดในเด็กอายุน้อยกว่า 4 ปี และเป็นสาเหตุอันดับ 2 ของอุจจาระร่วงในผู้เดินทางรองจาก ETEC พบการติดเชื้อซ้ำโดยไม่มีอาการและอาจมีเชื้ออยู่เป็นเวลานานได้³² มีรายงานการติดเชื้อในสถานเลี้ยงเด็ก การติดต่อจากมารดาสู่ทารกผ่านทางช่องคลอดและการติดต่อทางเพศสัมพันธ์ในชายรักร่วมเพศ

พยาธิกำเนิด

เชื้อ *Campylobacter* เข้าสู่ทางเดินอาหารผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น มาเกาะติดที่ terminal ileum และลำไส้ใหญ่ เชื้ออาจสร้าง enterotoxin ทำให้เกิด noninflammatory diarrhea หรือเชื้อสามารถรุกรานเข้าสู่เซลล์ แบ่งตัวและทำลาย epithelium ทำให้เกิด dysentery และ inflammatory diarrhea หรืออาจรุกรานผ่าน epithelium เข้าสู่ lamina propria แบ่งตัวและแพร่กระจายไปยัง mesenteric lymph node ทำให้เกิด mesenteric lymphadenitis การติดเชื้อนอกทางเดินอาหาร เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบ กระจกน้ำตอักเสบ และการติดเชื้อของทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น *Campylobacter* มีความสัมพันธ์กับการเกิด Guillain Barré syndrome แต่ยังไม่

ทราบกลไกที่แน่ชัด^{5,33}

วัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงจาก *Campylobacter*

ภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ *Campylobacter* ก่อนข้างซับซ้อนและยังไม่ทราบว่าแอนติเจนชนิดใดที่กระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ มีหลักฐานบ่งชี้ว่า ภูมิคุ้มกันชนิดพั้งเซลล์สามารถป้องกันโรคได้ กลุ่มเป้าหมายสำคัญของการใช้วัคซีนป้องกัน *Campylobacter* คือ ทหารและเด็กเล็กในประเทศกำลังพัฒนา⁵

Candidate vaccine ประกอบด้วยตัวเชื้อแบคทีเรียทำลายด้วยความร้อนหรือฟอร์มาลิน ร่วมกับ LT ของเชื้อ *E. coli* เพื่อเป็น mucosal adjuvant ซึ่งจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าป้องกัน *Campylobacter* colonization ในลำไส้ได้ร้อยละ 87 วัคซีนอีกชนิดหนึ่งคือ truncated recombinant flagellin subunit ให้ทางจุมกร่วมกับ LT และ multivalent vaccine ที่ express แอนติเจน 3 ชนิดคือ *Campylobacter*, *Shigellas* และ ETEC แต่จนถึงปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนตัวใดที่ได้นำมาทดลองใช้³⁴

สรุป

โรคอุจจาระร่วงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศกำลังพัฒนาและเป็นปัญหาในผู้เดินทางสำหรับประเทศพัฒนาแล้ว วัคซีนป้องกันโรคอุจจาระร่วงต้องสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลำไส้และต้องป้องกันเชื้อหลายสายพันธุ์ในเชื้อชนิดเดียวกันได้ นอกจากนี้ถ้าสามารถคิดค้นวัคซีนที่ป้องกันการติดเชื้อได้หลายชนิด (multivalent vaccine) เช่น ETEC, *Shigellas* และ *Cholerae* ก็จะเป็นประโยชน์ที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Girard MA, Steele D, Chaignat CL, Kieny MP. A review of vaccine research and development: human enteric infections. *Vaccine*. 2006;24:2732-50.
2. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:142-201.
3. Wanke C, Sears CL. *Escherichia coli*. In: Hamer D, Griffiths JK, Maguire JH, Heggenhougen HK, and Quah SA, editors. *Public Health and Infectious Diseases*. 1st ed. San Diego: Academic Press; 2010. p.125-32.
4. Peltola H, Siitonen A, Kyrönseppä H, Simula I, Mattila L, Oksanen P, et al. Prevention of travellers' diarrhoea by oral B-subunit/whole-cell cholera vaccine. *Lancet*. 1991;338:1285-9.
5. Nataro JP, Barry EM. Diarrheal disease vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editors. *Vaccines*. 5th ed. Elsevier Inc; 2008. p.1162-71.
6. Svennerholm AM, Glenn GM. Vaccines against enterotoxigenic *E.coli*. In: Levine MM, Dougan G, Good MF, Liu MA, Nabel GJ, Nataro JP, et al. editors. *New Generation Vaccines*. 4th ed. New York: Informa Healthcare USA, Inc.; 2010.p.714-22.
7. Hall ER, Wierzbica TF, Ahrén C, Rao MR, Bassily S, Francis W, et al. Induction of systemic antitoxin and antitoxin antibody responses in Egyptian children and adults by an oral, killed enterotoxigenic *Escherichia coli* plus cholera toxin B subunit vaccine. *Infect Immunity*. 2001;69:2853-7.
8. Wiedermann G, Kollaritsch H, Kundi M, Svennerholm AM, Bjare U. Double blind randomized placebo controlled pilot study evaluating efficacy and reactogenicity of oral ETEC B-subunit-inactivated whole cell vaccine against travelers' diarrhea. *J Travel*

Med. 2000;7:27-9.

9. Sack DA, Shimko J, Torres O, Bourgeois AL, Francia DS, Gustafsson B, et al. Randomised, double-blind, safety and efficacy of a killed oral vaccine for enterotoxigenic *E. coli* diarrhea of travelers to Guatemala and Mexico. *Vaccine*. 2007;25:4392-400.

10. Tobias J, Lebens M, Bölin I, Wiklund G, Svennerholm AM. Construction of non-toxic *Escherichia coli* and *Vibrio cholera* strains expressing high and immunogenic levels of enterotoxigenic *E. coli* colonization factor I fimbriae. *Vaccine*. 2008; 26:743-52.

11. Tobias J, Holmgren J, Hellman M, Nygren E, Lebens M, Svennerholm AM. Over-expression of major colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli*, alone or together, on non-toxicogenic *E. coli* bacteria. *Vaccine*. 2010;28:6977-84.

12. Cuburu N, Kweon MN, Song JH, Hervouet C, Luci C, Sun JB, et al. Sublingual immunization induces broad-based systemic and mucosal immune responses in mice. *Vaccine*. 2007;25:8598-610.

13. Turner AK, Beavis JC, Stephens JC, Greenwood J, Gewert C, Thomas N, et al. Construction and phase I clinical evaluation of the safety and immunogenicity of a candidate enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine strain expressing colonization factor antigen CFA/I. *Infect Immun*. 2006;74:1062-71.

14. Daley A, Randall R, Darsley M, Choudhry N, Thomas N, Sanderson IR, et al. Genetically modified enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccines induce mucosal immune responses without inflammation. *Gut*. 2007;56:1550-6.

15. Barry EM, Wang J, Wu T, Davis T, Levine MM. Immunogenicity of multivalent Shigella-ETEC candidate vaccine strains in guinea pig model. *Vaccine*.

2006;24:3727-34.

16. Barry EM, Levine MM. Multivalent Shigella enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine. In: Levine MM, Dougan G, Good MF, Liu MA, Nabel GJ, Nataro JP, et al. editors. *New Generation Vaccines*. 4th ed. New York: Informa Healthcare USA, Inc.; 2010. p.723-7.

17. Levine MM. Immunogenicity and efficacy of oral vaccines in developing countries: lessons from a live cholera vaccine. *BMC Biol*. 2010;8:129.

18. Czerkinsky C, Holmgren J. Enteric vaccines for the developing world: a challenge for mucosal immunology. *Mucosal Immunol*. 2009;2:284-7.

19. Ahmed T, Svennerholm AM, Al Tarique A, Sultana GN, Qadri F. Enhanced immunogenicity of an oral inactivated cholera vaccine in infants in Bangladesh obtained by zinc supplementation and by temporary withholding breast-feeding. *Vaccine*. 2009;27:1433-9.

20. Bhattacharya SK, Sur D. Shigellosis. In: Hamer D, Griffiths JG, Maguire JH, Heggenhougen HK, Quah SR, editors. *Public Health and Infectious Diseases*. 1st ed. San Diego: Academic Press; 2010. p.141-4.

21. Rahman KM, Arifeen SE, Zaman K, Rahman M, Raqib R, Yunus M, et al. Safety, dose, immunogenicity, and transmissibility of an oral live attenuated *Shigella flexneri* 2a vaccine candidate (SC602) among healthy adults and school children in Matlab, Bangladesh. *Vaccine*. 2011;29:1347-54.

22. Venkatesan M, Kaminski RW, Ranallo RT. Shigellosis. In: Barrett ADT, Stanberry LR, editors. *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases*. 1st ed. London: Academic Press; 2009. p.1163-92.

23. Kaminski RW, Turbyfill KR, Oaks EV. Mucosal adjuvant properties of the *Shigella* invasin complex. *Infect Immun*. 2006;74:2856-66.
24. Oaks EV, Turbyfill KR. Development of a *Shigella flexneri* 2a and *S. sonnei* bivalent invasin complex (Invaplex) vaccine. *Vaccine*. 2006;24:2290-301.
25. Turbyfill KR, Kaminski RW, Oaks EV. Immunogenicity and efficacy of highly purified invasin complex vaccine from *Shigella flexneri* 2a. *Vaccine*. 2008;26:1353-64.
26. Tribble D, Kaminski R, Cantrell J, Nelson M, Porter C, Baqar S, et al. Safety and immunogenicity of a *Shigella flexneri* 2a Invaplex 50 intranasal vaccine in adult volunteers. *Vaccine*. 2010;28:6076-85.
27. Slutsker L, Ries AA, Greene KD, Wells JG, Hutwagner L, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. *Ann Intern Med*. 1997;126:505-13.
28. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. 2005;365:1073-86.
29. Potter AA, Klashinsky S, Li Y, Frey E, Townsend H, Rogan D, et al. Decreased shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. *Vaccine*. 2004;22:362-9.
30. Peterson RE, Klopfenstein TJ, Moxley RA, Erickson GE, Hinkley S, Bretschneider G, et al. Effect of a vaccine product containing type III secreted proteins on the probability of *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding and mucosal colonization in feedlot cattle. *J Food Prot*. 2007;70:2568-77.
31. Alfredo GT. Intestinal pathogenic *Escherichia coli*. In: Barrett ADT, Stanberry LR, editors. *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases*. 1st ed. London: Academic Press; 2009. p.1013-29.
32. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO, Obi CL. Human campylobacteriosis in developing countries. *Emerging Infectious Diseases*. 2002;8:237-43.
33. Israeli E, Agmon-Levin N, Blank M, Chapman J, Shoenfeld Y. Guillain-Barré syndrome—a classical autoimmune disease triggered by infection or vaccination. *Clin Rev Allergy Immunol*. Epub 2010 Oct 5.
34. Jagusztyn-Krynicka EK, Laniewski P, Wyszynska A. Update on *Campylobacter jejuni* vaccine development for preventing human campylobacteriosis. *Expert Rev Vaccines*. 2009;8:625-45.