

หน่วยที่ 8 การทำให้เกิดโรคของจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่พบอยู่บนหรือในอวัยวะต่างๆในร่างกายของมนุษย์นั้น ส่วนใหญ่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal flora) ซึ่งมักจะเป็นประโยชน์ต่อคนในภาวะปกติ การอยู่ร่วมกันนี้อาจเป็นแบบต่างคนต่างอยู่ หรืออาศัยประโยชน์ซึ่งกันและกัน แต่ในบางกรณีที่ร่างกายมีความต้านทานลดลง เชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นก็อาจฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคได้ (opportunistic infection) แต่ถ้ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการก่อโรค ซึ่งเรียกว่า pathogen คือเชื้อโรคที่เข้ามาอาศัยคนเป็น โฮสต์ แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และก่ออันตรายแก่คน ความสัมพันธ์แบบนี้จะจัดเป็นแบบ parasitism ผลลัพธ์ของความสัมพันธ์แบบนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการก่อโรคของเชื้อโรคที่เรียกว่า pathogenicity ซึ่งวัดออกมาเป็นระดับความรุนแรงในการก่อโรคหรือเรียกว่า virulence (= degree of pathogenicity) และยังขึ้นอยู่กับความต้านทานของโฮสต์, และจำนวนเชื้อโรคที่โฮสต์ได้รับเข้าไป ซึ่งอาจแสดงความสัมพันธ์ได้ดังนี้ $D = n V / R$

โดยที่ D = disease

V = ความรุนแรงในการก่อโรค (virulence)

R = ความต้านทานของร่างกาย

n = จำนวนเชื้อโรค

ซึ่งหมายความว่าในกรณีที่โฮสต์ได้รับเชื้อที่มี virulence สูงเข้าไปเพียงจำนวนน้อย ก็อาจเกิดโรคได้ หรือในกรณีที่ความต้านทานของร่างกายลดต่ำลง เชื้อโรคที่มี virulence ต่ำในปริมาณมากพอสมควรก็อาจก่อโรคได้เช่นเดียวกัน

โรคที่เกิดจากเชื้อโรคชนิดต่างๆนี้เรียกว่า โรคติดเชื้อ (infectious disease) คำว่า infection หรือภาวะการติดเชื้อ หมายถึง ภาวะที่มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในโฮสต์ ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อโฮสต์หรือไม่ก็ได้ ส่วนภาวะที่เกิดโรค (disease) ขึ้นจากการติดเชื้อ แสดงว่าเชื้อโรคก่อให้เกิดอันตรายหรือการบาดเจ็บ (injury) ขึ้นในโฮสต์

โรคติดเชื้อทุกชนิดจะเริ่มเกิดขึ้นที่ผิวพื้นส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกายโฮสต์ก่อน ไม่ว่าจะเป็นที่ผิวหนังส่วนนอก เยื่อเมือก หรือผิวหนังในที่เชื่อมุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร ลำไส้ ระบบขับถ่ายปัสสาวะและระบบอวัยวะสืบพันธุ์ โดยที่เชื้อโรคแต่ละชนิดจะเลือกเกาะกับผิวโฮสต์ในบริเวณเฉพาะแห่งต่างกัน เพื่อที่จะบุกรุกผ่านเข้าสู่อวัยวะภายในของร่างกายต่อไป ในบางกรณีของการติดเชื้อจะจำกัดอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับทางเข้าของเชื้อโรค เรียกว่า localized infection นอกจากนี้เชื้อโรคอาจจะแพร่กระจายไปสู่อวัยวะอื่นๆทั่วร่างกาย ซึ่งเรียกการติดเชื้อแบบนี้ว่า generalized infection เชื้อโรคบางชนิดสามารถเจริญเติบโตในเซลล์ชนิดต่างๆ, สามารถทำลายระบบการทำงานของหลายอวัยวะ บางชนิดเจริญเติบโตอยู่นอกเซลล์ แต่ก็ยังสร้างสารพิษ (toxin) ออกมาทำอันตรายโฮสต์ได้

ถ้าคนหายจากโรคติดเชื้อ ย่อมแสดงว่าร่างกายสามารถกำจัดเชื้อโรคให้หมดไปได้ อย่างไรก็ตามเชื้อโรคก็มีอาวุธประจำตัวซึ่งเรียกว่า virulence factors ที่ใช้ต่อสู้กับระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ โดยที่เชื้อโรคแต่ละชนิดก็มี virulence factors ต่างกัน ดังนั้นการเกิดโรคติดเชื้อก็เปรียบเสมือนการทำสงครามกันระหว่างระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์กับ virulence factors ของเชื้อโรคนั่นเอง โรคติดเชื้อบางชนิดทำให้เกิดอาการรุนแรงถึงตายได้รวดเร็ว

ซึ่งเรียกว่า acute infection แต่สำหรับเชื้อโรคแล้ว การติดเชื้อแบบที่ไม่ถึงกับทำให้โฮสต์ตายไปเลย ซึ่งเรียกว่า การติดเชื้อแบบเรื้อรัง (chronic infection) น่าจะมีประโยชน์สำหรับเชื้อโรรมากกว่า เพราะจะทำให้เชื้อโรค สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในธรรมชาติต่อไปได้ด้วย

ในการที่เชื้อโรคจะก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้นั้น เชื้อโรคต้องมีความสามารถในการ

1. เข้าไปในโฮสต์
2. แบ่งตัวเพิ่มจำนวนและมีเมตาโบลิซึมในหรือบนเนื้อเยื่อของโฮสต์
3. ต่อต้านระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์
4. ทำความเสียหายให้แก่โฮสต์ ในโรคติดเชื้อบางโรค

เชื้อโรคก่อความเสียหายเพียงเล็กน้อยแก่โฮสต์จน โฮสต์หรือคนไม่มีอาการเจ็บป่วยที่สังเกตเห็นได้ชัดเจน ออกมา เรียกการติดเชื้อแบบนี้ว่า subclinical infection นอกจากนี้ยังมีคำศัพท์อีกหลายคำที่แสดงถึงภาวะการติดเชื้อดังแสดงในตารางข้างล่างนี้

คำที่ใช้ในเรื่องโรคติดเชื้อ ความหมายและตัวอย่าง

1. Acute infection โรคติดเชื้อที่มีระยะเวลาเป็นโรคสั้นและค่อนข้างรุนแรง เช่น อาการ เจ็บคอจากเชื้อ S. pyogenes
2. Chronic infection โรคติดเชื้อเรื้อรังใช้เวลานาน เช่น วัณโรค
3. Fulminating infection โรคติดเชื้อที่มีอาการเฉียบพลันรุนแรง เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบจาก *N. meningitidis*
4. Localized infection โรคติดเชื้อที่เกิดเฉพาะบริเวณ เช่น การติดเชื้อ E. coli ในระบบทางเดินปัสสาวะ
5. Generalized infection โรคติดเชื้อที่มีการกระจายไปทั่วร่างกาย เช่น การติดเชื้อ S. typhi ในกระแสเลือด
6. Mixed or polymicrobial infection โรคติดเชื้อที่มีเชื้อสาเหตุมากกว่าหนึ่งชนิด เช่น แผลกดทับ (Gas Gangrene) จากเชื้อ Clostridium
7. Primary infection โรคติดเชื้อเฉพาะบริเวณครั้งแรกซึ่งทำให้ร่างกายอ่อนแอเกิดการติดเชื้อซ้ำเติมได้ง่าย เช่น ไข้หวัดใหญ่
8. Secondary infection โรคติดเชื้อซ้ำที่เกิดตามหลัง Primary infection เช่น โรคปอดบวมจากเชื้อแบคทีเรียหลังเป็นไข้หวัดใหญ่

ขั้นตอนในการติดเชื้อ

1. ขั้นตอนแรกๆที่เริ่มมีการติดเชื้อโรคจะต้องเริ่มด้วยการเกาะ (adherence หรือ attachment) ของเชื้อโรคกับผิวเซลล์ของโฮสต์ ซึ่งเชื้อโรคต้องแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในการเกาะนี้ เชื้อโรคสามารถเกาะได้กับเนื้อเยื่อบางชนิดเท่านั้น ตัวอย่างเช่นเชื้อแบคทีเรีย Neisseria gonorrhoeae ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคหนองใน จะมี Pili ที่เกาะได้เฉพาะ Epithelial cell ของปากมดลูก, ท่อปัสสาวะ และเยื่อตาเชื้อ E. coli มี pili ที่เกาะได้กับเซลล์ mucosal lining ของลำไส้เล็กหนู, เชื้อ Vibrio cholera เกาะได้กับ Epithelial cell ของลำไส้เล็กคน, เชื้อ S. pyogenes มีส่วนผิวที่ใช้ในการเกาะกับเซลล์ในลำคอ เป็น โปรตีนที่อยู่บนผนังเซลล์แบคทีเรียที่เรียกว่า M-Protein

สำหรับไวรัส เช่น ไวรัสไข้หวัดใหญ่ มีผิวที่ใช้เกาะเซลล์เป็น ปุ่มยื่นออกมาเรียกว่า Hemagglutinin และยังมี Neuraminidase เป็นปุ่มเอ็นไซม์ที่ผิวไวรัสช่วยย่อยเยื่อเมือก ทำให้ไวรัสเข้าเกาะบนผิวเซลล์ได้ง่ายขึ้น อีกตัวอย่างหนึ่งคือ ไวรัสโปลิโอมีโปรตีนบนผิวสามารถเกาะกับตัวรับ (receptor) ซึ่งเป็นไขมันและ glycoprotein บนผิวเซลล์ของโฮสต์ที่อยู่ในลำไส้และในระบบประสาทส่วนกลาง โรคนี้มีการทำลายเซลล์ในสมองทำให้เกิดอาการอัมพาตตามมา วัคซีนป้องกันโรคโปลิโอที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้เป็นเชื้อไวรัสที่อ่อนฤทธิ์ (attenuated virus) สามารถเกาะได้เฉพาะเซลล์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารเท่านั้น ไม่สามารถเกาะกับเซลล์ในระบบประสาทส่วนกลางได้จึงไม่ทำให้เกิดโรคและอาการอัมพาตขึ้น

2. การบุกรุกผ่านชั้น epithelial cell เชื้อโรคบางชนิดจะ penetrate เข้าสู่โฮสต์เพื่อที่จะก่อให้เกิดโรค แต่มีหลายชนิดที่เจริญ บนผิวเซลล์เยื่อบุผิว เช่น ที่ลำไส้แล้วสร้างสารพิษ (toxin) ปล่อยออกมาทำให้เซลล์บริเวณ นั้นผิดปกติไปเช่นเชื้อ V. cholera ทำให้เกิดการเสียน้ำออกนอกเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด การบุกรุกผ่านเข้าสู่ในร่างกายของเชื้อโรคนั้นอาจเป็นไปได้โดยการเข้าตามรอยบาดแผล, ไฟไหม้ เป็นการเข้าสู่ร่างกายแบบที่เรียกว่า passive penetration โดยไม่ต้องอาศัยคุณสมบัติใดๆของเชื้อโรคในการ adherence และ penetration ตัวอย่างเช่น ทหารที่ถูกสะเก็ดระเบิดมีบาดแผลเกิดขึ้นเชื้อ C. perfringens ที่มีอยู่ทั่วไปในดินและอุจจาระอาจปะปนเข้าไปในบาดแผลก็จะเกิดการติดเชื้อขึ้นได้ หรือคนที่ถูกไฟลวกจะติดเชื้อ Ps. aeruginosa ซึ่งมีอยู่ทั่วไปในอากาศและสิ่งแวดล้อม หรืออีกตัวอย่างหนึ่งเช่นในโรค relapsing fever เชื้อ Borrelia ซึ่งเห็บนำมาถ้ากัดคนเชื้อก็เข้าทางบาดแผลเกิดโรคได้ เชื้อโรคบิดคือ Shigella spp. สามารถบุกรุกเข้าสู่ epithelium cells ของผนังลำไส้ใหญ่แล้วลุกลามไปเรื่อยๆ เกิดเป็นแผล (ulcers) เกิดขึ้นเนื่องจากเกิดการตายของเนื้อเยื่อในบริเวณนั้น อีกตัวอย่างหนึ่งคือการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (influenza virus) ไวรัสจะ penetrate เซลล์ที่บุผิวของ nasopharynx, หลอดลมและหลอดลมฝอยและเข้าไปเพิ่มจำนวนในเซลล์เหล่านี้ ความรุนแรงของโรคขึ้นกับว่าจะมีการทำลายเซลล์เหล่านี้ได้มากเพียงใด

3. เมื่อเชื้อโรคผ่านทะลุชั้น epithelial cells ของโฮสต์แล้วก็จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อข้างล่าง เช่น ในกรณีการติดเชื้อ S. aureus ทำให้เกิดฝี (abscess) คือ โพรงในเนื้อเยื่อที่เต็มไปด้วยเชื้อโรค, เม็ดเลือดขาวและเซลล์เนื้อเยื่อที่ตายจากการที่เชื้อโรคปล่อยสารพิษออกมา การติดเชื้อพวก anaerobe คือ เชื้อ Clostridium perfringens ทำให้เกิดแผลกุดทับ (gas gangrene) ซึ่งเริ่มแรกเมื่อมีบาดแผลซ้ำ ซึ่งอาจมีก้อนเลือดข้างในเกิดเป็นสภาวะที่ไร้ออกซิเจนขึ้นในขณะที่ได้รับเชื้อนี้เข้าไปด้วย เชื้อ C. perfringens สามารถสร้าง toxin ออกมาทำลายเนื้อเยื่อบริเวณรอบๆ ทำให้เซลล์ตายและมีภาวะไร้ออกซิเจน ยิ่งทำให้เชื้อยิ่งเจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเพิ่มการสร้าง toxin มากขึ้นทำลายเนื้อเยื่อบริเวณโดยรอบกว้างออกไปทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อ นอกจากนี้เชื้อยังสร้างแก๊ซไฮโดรเจนทำให้เกิดความกดดันทำให้เนื้อเยื่อ และกล้ามเนื้อบริเวณนั้นแยกตัวออกจากกัน เกิดเป็นโพรงช่องว่างซึ่งจะมีของเหลวที่เต็มไปด้วยเชื้อเข้าแทนที่อย่างรวดเร็ว โดยวิธีการนี้เชื้อ C. perfringens สามารถทำลายกล้ามเนื้อในบริเวณนั้นทั้งหมดได้อย่างรวดเร็ว ทำให้มีวิธีเดียวที่จะรักษาคือ การตัดอวัยวะบริเวณนั้นทิ้งไปจึงจะหยุดยั้งการแพร่กระจายของเชื้อได้

4. การติดเชื้อในระบบน้ำเหลือง (Infection of the lymphatic system)

ในร่างกายคนมีระบบไหลเวียนของเลือดซึ่งไปสิ้นสุดที่เส้นเลือดฝอย ซึ่งจ่ายออกซิเจนและอาหารแก่เซลล์ในเนื้อเยื่อ พร้อมทั้งนำของเสียบริเวณเนื้อเยื่อไปกำจัด บางส่วนของเหลวในเลือดจะมีการรั่วซึมออกสู่เนื้อเยื่อทำให้

เกิดการบวมได้ จึงมีระบบน้ำเหลืองในการเก็บของเหลวเหล่านี้กลับคืนสู่ระบบไหลเวียนของเลือดอีกทีหนึ่งของเหลวดังกล่าวเรียกว่าน้ำเหลือง (lymph) ซึ่งจะมีท่อน้ำเหลืองเล็ก ๆ นำน้ำเหลืองผ่านเข้าสู่ต่อมน้ำเหลือง (lymph nodes) ซึ่งมีรูปร่างเป็นรูปไข่ มีขนาดตั้งแต่หนึ่งถึงหลายมิลลิเมตรมีอยู่กระจายทั่วร่างกาย จากต่อมน้ำเหลืองก็มีท่อน้ำเหลืองไปรวบรวมเป็นท่อที่ใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ จนไปไหลเทกลับคืนเข้าสู่เส้นเลือดดำกลับเข้าสู่ระบบไหลเวียนของเลือด เมื่อมีการติดเชื้อในเนื้อเยื่อ เชื้ออาจจะหลุดเข้าไปในระบบน้ำเหลือง เกิดการอักเสบลุกลามไปตามเนื้อเยื่อต่างๆ ได้ เช่น การติดเชื้อ Streptococcus pyogenes ทำให้เกิดโรคไฟลามทุ่ง (erysipelas) เชื้อโรคอาจแพร่กับน้ำเหลืองเข้าไปที่ต่อมน้ำเหลือง ซึ่งที่ผิวของต่อมน้ำเหลืองจะมีเซลล์พวก macrophage คอยดักจับกินและทำลายเชื้อโรคที่ผ่านเข้ามาทั้งหมด ดังนั้นถ้ามีเชื้อโรคปริมาณมาก ต่อมน้ำเหลืองอาจเกิดการอักเสบและบวมแดงใหญ่ขึ้น อาจจะคลำเห็นได้ชัดเรียกว่า bubo เช่นในโรคกาฬโรคชนิด bubonic plague มีการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองอย่างเห็นได้ชัด และสามารถพบเชื้อกาฬโรค (Yersinia pestis) เป็นจำนวนมากจากต่อมน้ำเหลืองนั้น

5. การติดเชื้อในกระแสเลือด (Infection of The Blood)

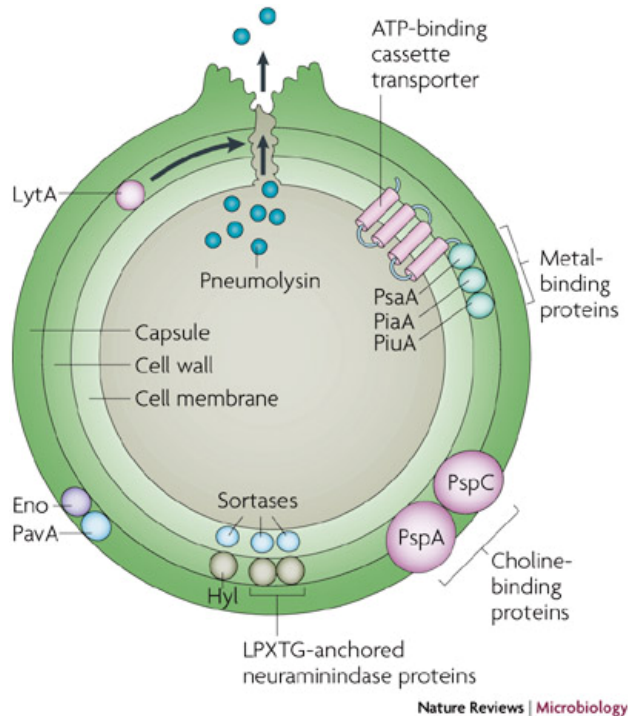
เชื้อโรคอาจเข้าสู่กระแสเลือด ทางเส้นเลือดฝอย หรือเส้นเลือดดำ เกิดมีแบคทีเรียขึ้นในกระแสเลือดเรียกว่า bacteremia ซึ่งเชื้อสามารถกระจายไปได้ทุกส่วนของร่างกายทำให้เกิดการติดเชื้อในอวัยวะต่าง ได้อีก ตัวอย่างเช่นเชื้อ Neisseria meningitidis ที่บริเวณหลังจมูก (nasopharynx) สามารถหลุดเข้าสู่กระแสเลือดกระจายไปก่อการติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง ทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบขึ้นได้ หรือเชื้อ Leptospira ซึ่งมีรูปร่างคล้ายเกลียวสว่าน ซึ่งเข้าทางบาดแผลอาจหลุดไปกับกระแสเลือดไปก่อโรคที่ไต ทำให้การทำงานของไตล้มเหลวได้ ในกรณีอื่นเชื้ออาจเริ่มต้นติดที่ระบบน้ำเหลืองก่อน แล้วจึงเข้าสู่กระแสเลือด เช่นกรณีไข้ไทฟอยด์ซึ่งเกิดจากเชื้อ Salmonella typhi แรกเริ่มจะเกาะกับ epithelium cell ในผนังลำไส้เล็กแล้วบุกรุกสู่ชั้น lamina propria mucosae เข้าสู่ท่อน้ำเหลือง และต่อมน้ำเหลืองที่บริเวณท้อง (mesenteric lymphnodes) เชื้อถูกทำลายโดยเซลล์ macrophage ได้ไม่หมด ทำให้หลุดรอดเข้าสู่กระแสเลือดไปเจริญแพร่จำนวนในหลายอวัยวะโดยเฉพาะในตับและม้าม ในการติดเชื้อโรคบางชนิด เชื้อแบคทีเรียมีการแบ่งตัวมากมายในเลือด และมีการสร้างพิษ (toxin) ด้วยทำให้เกิดอาการทางคลินิก ที่มีอวัยวะหลายอวัยวะทำงานผิดปกติในเวลาเดียวกัน เรียกว่า ภาวะเซพติซีเมีย (septicemia) ซึ่งมีทั้งแบบที่มีอาการเฉียบพลันและเรื้อรัง ตัวอย่างคือโรคแอนแทรกซ์ (anthrax) ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Bacillus anthracis อาจพบว่ามีจำนวนเชื้อแบคทีเรียในร่างกาย มากกว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงเสียอีก การเกิดภาวะเซพติซีเมีย (septicemia) นี้ อาจเกิดจากมีการติดเชื้อในบริเวณเฉพาะอื่น ๆ ก่อนที่จะมีเชื้อเข้าสู่กระแสเลือด เช่น การเจ็บคอจากเชื้อ S. pyogenes, การเป็นฝีจากเชื้อ S. aureus, Bubonic Plaque จากเชื้อ Yersinia pestis

ปัจจัยก่อความรุนแรงของเชื้อโรค (Microbial Virulence Factors)

ความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียเกิดจากปัจจัยหลายอย่างคือ :

I. การมีแคปซูล (capsule) แคปซูลซึ่งเป็นสารพวก polysaccharide ที่ผิวของเชื้อแบคทีเรียสามารถป้องกันการถูกจับกินโดย phagocyte ของคน มีเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่มีแคปซูลและมีความรุนแรงในการก่อโรค เช่น เชื้อ Streptococcus pneumoniae, Hemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae, Neisseria meningitidis และ B. anthracis เป็นต้น แคปซูลของเชื้อ B. anthracis แปลกกว่าของเชื้ออื่นคือเป็น polypeptide

มากกว่าเป็น polysaccharide คนที่สร้างแอนติบอดีต่อแคปซูลได้ ก็มีความต้านทานต่อเชื้อเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ยังมีสารอื่นที่ไม่ใช่แคปซูล แต่ก็สามารถป้องกันการถูกจับกินได้เช่นกันคือ M-Protein ในเชื้อ *S. pyogenes*



ภาพที่ 8.1 แสดงองค์ประกอบของ *Streptococcus pneumoniae* cell ที่มีลักษณะเป็น capsule
ที่มา : http://www.nature.com/nrmicro/journal/v6/n4/fig_tab/nrmicro1871_F2.html

II. การสร้างสารพิษ

Exotoxins

Exotoxins มีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่สร้างสารพิษขับออกมานอกเซลล์เรียกว่า Exotoxin ซึ่งมีความรุนแรงสูงในการทำอันตราย เช่น

1. Botulinum toxin สร้างจากเชื้อ *C. botulinum* มีความรุนแรงกว่าสตริคนิน (Strychnine) ซึ่งเป็นยาเบื่อถึง 1 ล้านเท่า

2. Tetanus toxin สร้างจากเชื้อบาดทะยัก (*C. tetani*) Exotoxin ทั้งสองชนิดมีความรุนแรงมากเพราะออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วน Exotoxin อื่น ๆ ส่วนมากออกฤทธิ์ต่อเนื้อเยื่อชนิดอื่นและมีความรุนแรงน้อยกว่าเช่น Diphtheria toxin จากเชื้อ *Corynebacterium diphtheria*, Cholera toxin จากเชื้อ *V. cholera* การวัดความรุนแรงหรือฤทธิ์ (potency) ของ toxin สามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่แม่นยำที่สุดคือการหาเป็น LD50 dose ซึ่งหมายถึงปริมาณของ toxin ที่ฆ่าสัตว์ทดลองได้ 50% แต่วิธีที่หาค่าเป็น MLD (Minimum Lethal Dose หรือ LD100) คือปริมาณ toxin ที่น้อยที่สุดที่ฆ่าสัตว์ทดลองได้ทุกตัวก็ใช้กันมาก นอกจาก exotoxin แล้วยังมี toxin อีกพวกหนึ่งซึ่งเรียกว่า endotoxin ซึ่งมีลักษณะต่างจาก exotoxin ดังในตาราง

การแบ่งประเภทของ exotoxin

แบ่งออกได้เป็นหลายชนิด ตามบริเวณของเนื้อเยื่อ หรือชนิดเซลล์ที่ toxin ออกฤทธิ์ทำอันตราย เช่น

- Neurotoxin คือ toxin ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท เช่น botulinum toxin และ tetanus toxin

- Enterotoxin คือ toxin ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ ทำให้เกิดอาการท้องเสีย เช่น

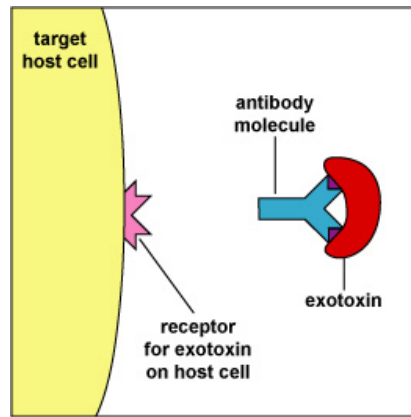
cholera toxin

- Cytotoxin คือ toxin ที่ทำลายเซลล์หลายชนิด ถ้าทำลายเม็ดเลือดขาวเรียกว่า leukocidins ถ้าทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเรียกว่า hemolysins

Toxoids คือ exotoxin ที่เป็นโปรตีนซึ่งเมื่อถูกสาร formaldehyde จะสูญเสียความเป็นพิษไป แต่ยังสามารถกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี ซึ่งเรียกแอนติบอดีนี้ว่า anti-toxins สามารถทำ ปฏิกิริยาบดล้างพิษ (neutralize) ได้ toxoids ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันคือ tetanus toxoid ใช้ฉีดป้องกันโรคบาดทะยัก และ diphtheria toxoid ใช้ฉีดป้องกันโรคคอตีบ

ตารางแสดงลักษณะของ exotoxin และ endotoxin

ลักษณะ	Exotoxins	Endotoxins
Bacterial source	สร้างและขับจากเซลล์ที่มีชีวิตอยู่	ปล่อยจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่แตกสลายแล้ว
ส่วนประกอบทางเคมี	เป็นโปรตีน	เป็น Lipopolysaccharide
ความทนทานต่อความร้อน	ไม่ทนความร้อน	ทนทานได้ดีแม้กระทั่งการ autoclave
ปริมาณที่ทำให้ตาย (Lethal Dose)	ปริมาณน้อยก็ทำให้ตายได้	ใช้ปริมาณมากกว่ามาก
การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน	ทำเป็น toxoid ได้และกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี	ทำเป็น toxoids ไม่ได้และกระตุ้นภูมิคุ้มกันไม่ได้
ลักษณะทางเภสัชวิทยา	มีการออกฤทธิ์เฉพาะตัวต่างกัน	มีการออกฤทธิ์คล้ายกันคือมีไข้มีการเปลี่ยนแปลง ในเลือดและอาจมีอาการช็อค



ภาพที่ 8.2 แสดงกลไกการทำงานของ antibody ที่มีต่อ exotoxin

ที่มา : <http://student.cbcemd.edu/courses/bio141/lecguide/unit5/intro/th1th2/u3fg22.html>

บทบาทของ bacteriophages และ plasmids

ความสามารถของแบคทีเรียในการสร้าง exotoxin เรียกว่า toxigenicity อาจถูกควบคุมโดยยีนส์ที่อยู่บนโครโมโซมของแบคทีเรีย แต่พบว่าในหลายกรณี คุณสมบัติในการสร้าง exotoxin นี้ถูกควบคุมโดย ยีนส์ของ bacteriophage ซึ่งเป็นไวรัสของ แบคทีเรียชนิดนั้น แบคทีเรียซึ่งมี bacteriophage ติดเชื้อและนำยีนส์ที่เป็น plasmid มาให้ ทำให้สามารถสร้าง toxin ได้เรียกว่าเกิด lysogenic conversion ตัวอย่างเช่นเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* บางสายพันธุ์จะทำให้เกิดท้องเสียต่อเมื่อได้รับ plasmid ที่มีรหัสในการสร้าง enterotoxin ซึ่ง bacteriophage นำมาติดให้ กลไกในการออกฤทธิ์ของ toxin การออกฤทธิ์ของ toxin จะเริ่มต้นที่การเกาะติดของ exotoxin บนเนื้อเยื่อ โดยใช้บริเวณบาง subunit ของ toxin เอง จากนั้น subunit อื่นของ toxin ซึ่งอาจมีฤทธิ์เป็นเอ็นไซม์จึงออกฤทธิ์ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อ toxin บางชนิดรู้จักการทำงานแล้วแต่บางชนิดก็ยังไม่รู้จักหมด

การทำงานของ diphtheria toxin

diphtheria toxin มีลักษณะเป็น polypeptide สายเดี่ยวประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 part คือ part A และ part B part B ใช้เกาะกับผิวเซลล์ เมื่อเกาะแล้ว part A จะถูกตัดออกจาก part B แล้วเข้าไปในเซลล์ part A มีคุณสมบัติเป็นเอ็นไซม์เร่งปฏิกิริยา ซึ่งห้ามการทำงานของ Elongation Factor-2 (EF-2) ซึ่งจำเป็นในการสร้างสาย โปรตีน โดยไรโบโซม ทำให้เซลล์ไม่สามารถสร้างโปรตีนได้ และตายไปในที่สุด แอนติบอดีต่อ toxin ที่เรียกว่า antitoxin ซึ่งสามารถห้ามการทำงาน of toxin ได้ จะลบล้างฤทธิ์ของ toxin part B ทำให้ toxin เกาะกับเซลล์ไม่ได้จึงออกฤทธิ์ไม่ได้

การทำงานของ Botulinum toxin

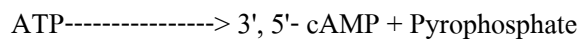
ในการทำงานของกล้ามเนื้อ กระแสประสาทจะส่งผ่านตาม axon ของ motor nerve มาที่กล้ามเนื้อ โดยเมื่อกระแสประสาทมาถึงรอยต่อระหว่างเส้นประสาทกับกล้ามเนื้อ (neuromuscular junction) จะกระตุ้นให้มีการหลั่ง acetylcholine ทำให้กล้ามเนื้อหดตัว ถ้าคนได้รับพิษ botulinum toxin เข้าไป มันจะไปจับกับ axon ใกล้กับบริเวณ neuromuscular junction และป้องกันการหลั่ง acetylcholine ทำให้กล้ามเนื้อไม่หดตัว ถ้าเหตุการณ์นี้เกิดขึ้นในบริเวณกล้ามเนื้อหน้าอกและกระบังลม จะทำให้ตายจากระบบการหายใจล้มเหลว

การทำงานของ Tetanus toxin

มีฤทธิ์ห้ามการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (Central Nervous System, CNS) ทำให้กล้ามเนื้อที่อยู่ตรงกันข้ามกันทำงานแบบไม่ประสานงานกัน เกิดการเกร็งกระตุก (tetanic spasm) ของกล้ามเนื้ออย่างแรง ซึ่งอาจแรงพอที่จะทำให้กระดูกและกล้ามเนื้อในบริเวณนั้นเสียหายได้ ผู้เป็นบาดทะยักมักจะตายเนื่องจากระบบการหายใจล้มเหลว ไม่สามารถควบคุมกล้ามเนื้อหน้าอกและกระบังลม ซึ่งทำหน้าที่ในการช่วยหายใจได้

การทำงานของ cholera toxin

cholera toxin จากเชื้ออหิวาต์ (*V. cholera*) ประกอบด้วย subunit A 1 หน่วย และ subunit B จำนวน 5 หน่วย subunit B ทำหน้าที่เกาะกับผิวของ epithelial cell ของผนังลำไส้เล็ก จากนั้น subunit A จะผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปพร้อมทั้งถูกย่อยเป็น subunit A1 ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงาน (regulatory protein) ของเอนไซม์ adenylate cyclase ในเซลล์ ทำให้ adenylate cyclase มีการทำงานตลอดเวลา เปลี่ยน ATP ได้เป็น cyclic AMP (cAMP) ในระดับสูง ดังปฏิกิริยา



ระดับ cAMP ที่สูงขึ้นนี้จะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำและอิเล็กโทรไลต์จากเซลล์ เยื่อลำไส้เล็กออกสู่ lumen นั่นก็คือเกิดการท้องเสียอย่างรุนแรงขึ้น ผู้เป็นอหิวาต์ตกโรคอาจถ่ายเป็นน้ำถึงวันละ 10-12 ลิตรก็ได้ ทำให้สูญเสียไบคาร์บอเนตไอออนออกไปจากเลือดมาก ทำให้ pH ของเลือดลดลง เกิดภาวะเป็นกรด (acidosis) ขึ้น นอกจากนี้เมื่อมีอาการท้องเสียมากขึ้นจะทำให้เม็ดเลือดแดงใน โปรตีนในเลือดเข้มข้นขึ้นเรียกว่าเกิด hemoconcentration อาจเกิดอาการช็อคแบบที่เรียกว่า hypovolemic shock โดยมีระบบไหลเวียนเลือดล้มเหลว ดังนั้นการรักษาอหิวาต์ตกโรคทำได้โดยการให้น้ำเกลือและ electrolyte แทนที่น้ำและเกลือแร่ที่สูญเสียไปแก่ผู้ป่วยนั่นเอง

Streptolysin O และ streptolysin S

เป็น exotoxin ที่สร้างจากเชื้อ *S. pyogenes* Streptolysin O ถูกทำลายด้วยออกซิเจน มีฤทธิ์ในการทำลาย cell membrane เช่นเป็น hemolysin ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกสลายโดยสมบูรณ์ใน blood agar ในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เรียกว่าเกิด beta-hemolysis ฤทธิ์ของ Streptolysin O ที่สำคัญในการติดเชื้อคือเป็น leukocidin คือสามารถซึมผ่านผิวเซลล์เม็ดเลือดขาว เข้าไปทำลาย membrane ของ lysosomes ภายในเม็ดเลือดขาว ทำให้ hydrolytic enzymes ในเซลล์ถูกปล่อยออกมาใน cytoplasm และฆ่าเซลล์ในที่สุด นอกจากนี้เมื่อนิ็ด streptolysin O เข้าสู่เส้นเลือดดำของกระต่าย จะออกฤทธิ์เป็น cardiotoxin ทำลายการสูบฉีดโลหิตของกระต่ายได้ภายในไม่กี่วินาที แต่ฤทธิ์อันนี้ยังไม่ทราบแน่นอนในมนุษย์ พิษ streptolysin S ไม่ถูกทำลายโดยออกซิเจน ทำให้เกิด beta-hemolysis ใน blood agar ในภาวะที่มีออกซิเจน streptolysin S พบอยู่ที่ผิวของแบคทีเรียและจะฆ่าเม็ดเลือดขาวที่กินแบคทีเรียเข้าไป

ตารางแสดง exotoxin ชนิดอื่น ๆ และกลไกการทำงาน

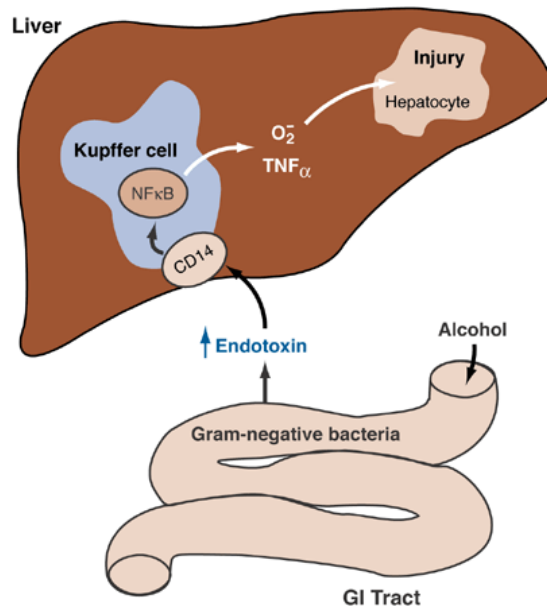
Toxin และเชื้อที่สร้าง	มีฤทธิ์เป็น	กลไกการทำงาน
1. Clostridial Alpha-toxin จากเชื้อ <u>C. perfringens</u>	hemolysin, cytotoxin	เป็นเอนไซม์ Phospholipase จะ hydrolyse lecithin ทำลายผนังเซลล์เม็ดเลือดและเนื้อเยื่อ
2. Staphylococcal alpha-toxin จากเชื้อ <u>S. aureus</u>	hemolysin, leukocidin, cytotoxin	ไม่ทราบแน่นอน อาจทำงาน โดยการทำลาย hydrophobic region ของ cell membrane หรือเปลี่ยนเป็น protease
3. Staphylococcal enterotoxin จากเชื้อ <u>S. aureus</u>	enterotoxin	ไม่ทราบแน่นอน
4. Pantone-Valentine factor จากเชื้อ <u>S. aureus</u>	leukocidin	ทำให้เกิด Degranulation ของเม็ดเลือดขาว
5. LT-toxin จากเชื้อ <u>E. coli</u>	enterotoxin	กลไกคล้าย cholera toxin
6. Exotoxin A จากเชื้อ <u>Ps. aeruginosa</u>	neurotoxin	กลไกคล้าย diptheria toxin
7. Anthrax toxin จากเชื้อ <u>B. anthracis</u>	cytotoxin	ไม่ทราบแน่ อาจออกฤทธิ์ต่อ CNS ทำให้การทำงานของระบบหายใจล้มเหลว
8. Pertussis toxin (Pertussigen) จากเชื้อ <u>B. pertussis</u>	cytotoxin	ไม่ทราบแน่ทำให้เพิ่มความไวต่อฮิสตามีน, เพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวในเลือด ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง
9. Erythrogenic toxin จากเชื้อ <u>S. pyogenes</u>	cytotoxin	ทำลายเส้นเลือดฝอยโดยกลไกที่ยังไม่ทราบแน่ ฆ่า macrophage ทำให้เกิดผื่นแดงในโรค scarlet fever เกิดไข้, เพิ่มความไวต่อ endotoxic shock

Endotoxins

Endotoxins เป็นสารพวก lipopolysaccharides ที่อยู่บน outer membrane ของเซลล์แบคทีเรียพวกที่ติดสีกรัมลบหลายชนิด และยังสามารถตรวจพบ endotoxin ในน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรัมลบในระยะหลังๆ ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีการแตกตัวของเซลล์แบคทีเรียแล้ว ความแตกต่างของ endotoxin กับ exotoxin ได้แสดงไว้แล้วในตารางข้างต้น ปริมาณของ endotoxin ที่สามารถฆ่าสัตว์ทดลองได้นั้นต้องใช้ปริมาณสูงกว่า exotoxin มาก

ส่วนใหญ่ endotoxin มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาคล้ายๆ กันคือ

1. ทำให้เกิดอาการไข้ (pyrogenicity) endotoxin ไปกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวให้หลั่งสารที่ทำให้อุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น โดยมีผลต่อสมองส่วน hypothalamus ซึ่งควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย
2. ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเลือด (blood changes) ทำให้จำนวนเม็ดเลือดลดลงชั่วคราวแล้วก็มีจำนวนสูงขึ้น endotoxins สามารถทำลายเกล็ดเลือด (platelets) ทำให้เกล็ดเลือดปล่อยสารที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดภายในเส้นเลือดฝอย เกิดการบวมน้ำและทำให้เลือดออกได้ นอกจากนี้ยังทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการไหลเวียนความดันโลหิตด้วย
3. ทำให้เกิดอาการช็อก (Shock) ถ้าผู้ป่วยมีแบคทีเรียพวกกรัมลบในกระแสเลือดเป็นจำนวนมาก จะมี endotoxin อยู่ในกระแสเลือดด้วย ทำให้เกิดอาการช็อกโดยมีความดันโลหิตลดต่ำลง, อ่อนเพลีย, ชีพจรเต้นเร็ว การหายใจช้าลงและอาจหมดสติ ถ้ามี endotoxin ปริมาณมาก ก็อาจทำให้ระบบการไหลเวียนของเลือดล้มเหลวลงและตายได้



ภาพที่ 8.3 แสดงการเกิดพิษ ชนิด endotoxins ในผู้ป่วยด้วยโรคตับแข็ง

ที่มา : <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh27-4/300-306.htm>

Virulence factor อื่น ๆ

นอกจาก exotoxins และ endotoxins แล้ว ยังมี virulence factor อื่น ๆ ที่ทำให้เกิดความรุนแรงของโรค เช่น ช่วยในการแพร่กระจายของเชื้อโรค, ส่งเสริมการเกิดฝีโดยการทำลายเนื้อเยื่อ หรือช่วยให้เชื้อโรคแก่งแย่งสารอาหารจากโฮสต์ได้ เช่น

1. Hyaluronidase เป็นเอนไซม์สร้างโดย *C. perfringens* มีฤทธิ์ช่วยย่อย hyaluronic acid ที่เชื่อมต่อระหว่างเซลล์ในเนื้อเยื่อ
2. Streptokinase สร้างโดย beta-streptococcus group A,C และ G จะทำงานโดยเปลี่ยน plasminogen ใน

เลือดให้เป็น plasmin ซึ่งเป็นเอ็นไซม์พวก protease ที่ละลายไฟบรินในก้อนเลือดที่แข็งตัว (clot) streptokinase อาจช่วยให้เชื้อแพร่กระจายไปในเนื้อเยื่อโดยการละลายไฟบรินที่เข้ามาล้อมรอบบริเวณที่มีการติดเชื้อ

3. Deoxyribonuclease (DNase) สร้างโดย *S. pyogenes*, *S. aureus*, *C. perfringens* และเชื้ออื่นๆ DNase จะย่อยสาย DNA ที่ปล่อยจากเซลล์ที่ตายแล้ว มันไม่สามารถซึมผ่านผิวเซลล์เข้าไปย่อย DNA ในเซลล์ได้

4. Coagulase เชื้อ *S. aureus* สร้าง coagulase ที่กระตุ้นสารที่ทำให้พลาสมาแข็งตัว (clotting) ได้โดยเปลี่ยน fibrinogen ให้เป็นไฟบริน (fibrin) ซึ่งละลายไม่ได้ ไฟบรินจะไปหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ป้องกัน phagocytosis ได้ และ coagulase ยังมีส่วนช่วยทำให้เกิดผนังรอบผีที่เกิดจากเชื้อนี้

5. Protein A เป็นโปรตีนบนผนังเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* มีคุณสมบัติเกาะกับส่วน Fc ของโมเลกุล แอนติบอดี ทำให้แอนติบอดีทำงานไม่ได้ และทำให้เกิดการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ (complement system) ซึ่งก่อให้เกิดการอักเสบตามมา

6. Hydrogen peroxide และ ammonia แบคทีเรียใน genus mycoplasma และ ureaplasma ซึ่งเกาะอย่างแน่นหนา บนเซลล์บุทางเดินหายใจ หรือทางเดินปัสสาวะ แล้วขับสารพิษที่เกิดจาก เมตาโบลิซึมของมันคือ hydrogen peroxide และ ammonia ซึ่งสามารถทำลาย epithelial cells ได้

7. Microbial Iron Chelators เชื้อโรคต้องการเหล็กไปใช้ในการสร้างเอ็นไซม์บางตัวที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบ เช่น เอ็นไซม์ cytochromes และ catalase เหล็กที่เชื้อโรคพวก aerobes นำไปใช้ได้จะอยู่ในรูป oxidized ferric ซึ่งละลายได้ยากมาก (เชื้อพวก anaerobe ใช้เหล็กได้ง่ายกว่าเพราะอยู่ในรูป ferrous forms) ดังนั้นเชื้อโรคพวก aerobes จึงมีวิวัฒนาการของมันเองในการที่ละลายสารที่มีเหล็กเพื่อนำ ferric iron มาใช้ สารที่เชื้อสร้างขึ้นมีหน้าที่แย่งเหล็กมาจากโฮสต์เรียกรวมว่า siderophores ที่รู้จักกันดีคือ enterochelin จากเชื้อ *E. coli* enterochelin จะออกมาละลาย polymerric ferric iron เกิดเป็น complex แล้วส่งเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย แล้วจึงถูกสลายเป็น ferrous form ต่อไป ในสัตว์ทดลองพบว่าเชื้อโรคที่แย่งเหล็กจากโฮสต์ (ซึ่งมี lactoferrin และ transferrin ทำหน้าที่จับเหล็ก) ได้น้อยโดยไม่หลัง siderophore มีความรุนแรงในการก่อโรคลดน้อยลงมาก

คำถามการทำให้เกิดโรคของจุลินทรีย์

1. pathogen คือ.....
2. virulence factors คือ.....
3. หน้าที่โดยย่อของต่อมน้ำเหลือง.....
4. ความแตกต่างในด้านความรุนแรงระหว่าง endotoxin กับ exotoxin คือ.....
5. Neurotoxin คือ.....