บทความปริทัศน์/Review article

Journal of Medicine and Health Sciences (Vol. 12 No.1 April 2005)

โรคเลปโตสไปโรซีส: จากอดีตถึงปัจจุบัน

Leptospirosis: from the past to present

พัชรินทร์ แสงจารึก

Patcharin Saengjaruk

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
Department of Pathology Faculty of Medicine Srinakharinwirot University

บทคัดย่อ

โรคเลปโตสไปโรซีสเป็นโรคที่ติดต่อจากสัตว์มาสู่คน พบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน สำหรับประเทศไทยเริ่มมีรายงานผู้ป่วยครั้งแรกเมื่อประมาณ 60 ปีที่ผ่านมา และจัดเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 ซึ่งพบผู้ป่วยนับร้อยราย และปีถัดมาพบเพิ่มขึ้นเป็นหลายพันราย จนเป็นหนึ่งหมื่นสี่พันกว่ารายในปี พ.ศ. 2543 หลังจากนั้นก็พบผู้ป่วยจำนวนนับพันรายทุกปี โรคนี้เกิดจากเชื้อ Spirochetes ที่อยู่ใน Family *Leptospiraceae* อาการของโรคมีได้ตั้งแต่อาการเล็กน้อยคล้ายเป็นไข้หวัดจนถึง อาการรุนแรงมาก เช่นตับอักเสบหรือไตวายจนเสียชีวิต และมีผู้ป่วยบางรายมีอาการรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากได้รับการวินิจฉัยและการรักษาที่ล่าช้า การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคนี้อาศัยการตรวจหาเชื้อหรือแอนติเจนของเชื้อ และการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน การรักษาผู้ป่วยด้วยยาปฏิชีวนะจะได้ผลดีที่สุดในระยะแรกของการเกิดโรค ส่วนการใช้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อที่ตายแล้ว ยังให้ผลไม่เป็นที่พอใจเพราะป้องกันโรคได้ในระยะสั้นๆ และจำกัดเฉพาะ serovars ที่ใช้เท่านั้น ทำให้ต้องใช้หลาย serovars และต้องฉีดซ้ำบ่อยๆ จึงได้ผลไม่คุ้มค่าเท่าที่ควร มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าโปรตีนในส่วน outer membrane ของตัวเชื้อสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ แต่เนื่องจากยังไม่สามารถสกัดโปรตีนเหล่านี้ออกมาให้คงสภาพเหมือนธรรมชาติได้ จึงมีการนำ recombinant protein มาใช้ในการผลิตวัคซีนโดยเลียนแบบส่วนประกอบของเชื้อตามธรรมชาติเพื่อกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อ การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโรคเลปโตสไปโรซีสในปัจจุบันยังคงดำเนินต่อไป ด้วยความมุ่งหวังที่จะผลิตวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: เลปโตสไปโรซีส

ABSTRACT

Leptospirosis is an emerging zoonosis with a worldwide distribution, especially in tropical zone. In Thailand, there was the first report about 60 years ago. It was not the public health problem until 1996, of which more than one hundred patients were affected. Increasing in numbers of the infected patients reached over than ten thousand in 2000. Leptospirosis is caused by the spirocheates in family *Leptospiraceae*. Symptom and severity of leptospirosis vary greatly from mild, flu-like illness to fatal. Some patients have severe symptom due to the delay of treatment. Laboratory diagnosis of leptospirosis is based primarily on either pathogen isolation from the specimen or a rise in serum antibodies. Antibiotic treatment is the best for the septicemia phase. Several problems confront the development of vaccine for leptospirosis. Killed bacterial vaccine is still unsatisfied because of short-term efficacy and lack of cross-protection against others serovars, so revaccination is necessary to maintain immunity. There are studies showing that outer membrane proteins of pathogenic leptospires can elicit protective antibodies against the disease. Because of the limitation in purify of this native component of organism, the recombination proteins were used instead. There are many ongoing researches in this aspect in order to get the efficacy vaccine.

Keywords: Leptospirosis

บทนำ

โรคเลปโตสไปโรซีสเป็นโรคติดต่อจากสัตว์มาสู่คน ที่พบได้ทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน โรคนี้ถูกตั้งชื่อว่า Weil's disease เมื่อ พ.ศ. 2429 โดยนายแพทย์ชาวเยอรมันชื่อ Adolf Weil จากการพบผู้ป่วยซึ่งมีอาการดีซ่านต่างจากโรคติดเชื้ออื่นๆ ต่อมาในปี พ.ศ. 2450 นายแพทย์ Stimson ได้พบตัวเชื้อ leptospires โดยตรงจากไตของผู้ป่วยที่เสียชีวิต ซึ่งถูกวินิจฉัยว่าเป็นโรคไข้เหลือง ที่เมืองนิวออลีนส์ ประเทศสหรัฐอเมริกา จึงตั้งชื่อเชื้อที่พบว่า Spirochaeta interrogans เชื้อจากเนื้อชิ้นเดียวกันนี้ได้ถูกนำมาวินิจฉัยใหม่ในปี พ.ศ.2483โดย Stellards ซึ่งยืนยันว่าเป็นเชื้อ leptospires [1] ในปี พ.ศ. 2459 นักวิจัยชาวญี่ปุ่น ชื่อ Inada และคณะ [2] ได้ลองฉีดเลือดของผู้ป่วย Weil's disease เข้าไปในหนูตะเภา (guinea pigs) แล้วนำตับหนูตะเภามาศึกษา พบว่ามีเชื้อ spirochetes ในตับหนูที่ได้รับเลือดของผู้ป่วย 13 ราย จากผู้ป่วยทั้งหมด 17 ราย และไม่พบเชื้อเมื่อทำเช่นเดียวกันนี้กับผู้ป่วยโรคติดเชื้อชนิดอื่นๆ จึงตั้งชื่อเชื้อนี้ว่า *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* ซึ่งในเวลาเดียวกันนั้น นักวิจัย ชาวอังกฤษ 2 คน คือ Stokes และ Ryle [2,3] ก็ได้รายงานการพบเชื้อ spirochetes จากหนูตะเภาที่ถูกฉีดด้วยเลือดของทหารที่ป่วยและมีอาการดีซ่าน 10 ราย โดยรายงานการพบเชื้อ 2 ราย หลังจากนั้นก็มีการพบเชื้อเลปโตสไปรา (*Leptospira*) serovars ต่างๆ ทั่วโลก ซึ่งเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยมีอาการทางคลินิกที่แตกต่างกันบ้าง รวมทั้งมีสัตว์หลายชนิดที่เป็นพาหะของโรค [4] แต่ความสัมพันธ์ของเชื้อและความรุนแรงของโรคยังไม่สามารถสรุปได้ เพราะมีบางรายงานสรุปว่าความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับ serovars ที่แตกต่างกัน [5] ในขณะที่มีอีกหลายรายงานสรุปว่าเชื้อแต่ละ serovars ไม่มีความเกี่ยวข้องกับอาการของโรค [6-8]

ในประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อเลปโตสไปรา ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2486 ที่โรงพยาบาลศิริราช หลังจากเหตุการณ์น้ำท่วมใหญ่ในกรุงเทพฯ เมื่อปี พ.ศ. 2485 โดยนายแพทย์ใช้ ยูนิพันธ์ [9] หลังจากนั้นมีรายงานการพบผู้ป่วยบ้างแต่จำนวนไม่มาก คือในระหว่างปี พ.ศ. 2491-2493 มีรายงานทั้งหมด 52 ราย เสียชีวิต 5 ราย ซึ่งสาเหตุเกิดจากเชื้อ

ห้องสมุดคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์

เลปโตสไปรา serovars ต่างๆ กัน เช่น bataviae, rachmanti, icterohaemorrhagiae และ canicola ซึ่งทั้ง 4 serovars นี้ได้รับการตรวจยืนยันจากห้องปฏิบัติการเลปโตสไปโรซีสขององค์การอนามัยโลก [10-11] ต่อมาในปี พ.ศ. 2503 พบผู้ป่วยที่จังหวัดพิษณุโลกจำนวน 20 ราย ติดเชื้อเลปโตสไปรา serovars icterohaemorrhagiae, hebdomadis และ bataviae ซึ่งต่อมามีการรายงานโรคนี้บ้างแต่ไม่ทุกปี โดยเฉลี่ยปีละไม่เกิน 20 ราย [12-13] จนกระทั่งปี พ.ศ. 2525 เกิดน้ำท่วมกรุงเทพฯ เป็นเวลานานหลายเดือนพบผู้ป่วยเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นก็มี การรายงานโดยเฉลี่ยปีละร้อยกว่าราย แต่ในปี พ.ศ. 2540 พบผู้ป่วยเพิ่มขึ้นเป็น 2,331 ราย และเสียชีวิตถึง 111 ราย การเพิ่มขึ้นของผู้ป่วยเป็นไปอย่างรวดเร็ว จนสูงสุดถึง 14,602 ราย ในปี พ.ศ. 2543 ในจำนวนนี้มีผู้ป่วยเสียชีวิต 365 ราย หลังจากนั้นก็มีรายงานผู้ป่วยด้วยโรคนี้ในอัตราหลายพันรายต่อปีตลอดมา ข้อมูลทางสถิติของโรคจากรายงานประจำปีของสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ.2531-2546 แสดงให้เห็นการระบาดของโรคเลปโตสไปโรซีสในประเทศไทยว่าพบได้สูงในช่วงรอยต่อระหว่างฤดูฝนกับฤดูหนาว คือ ประมาณเดือนตุลาคม และ พฤศจิกายน ยกเว้นเมื่อปี พ.ศ. 2543 ซึ่งพบการระบาดตั้งแต่เดือนกรกฎาคม [14]

นอกจากหนูแล้ว สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมชนิดอื่นเช่น โค กระบือ สุกร สุนัขและแมว ก็เป็นพาหะของโรคได้ด้วย จากการสำรวจฟาร์มต่างๆ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยตั้งแต่ปี 2539 ถึง 2541 โดยวิธี Microscopic Agglutination Test (MAT) ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ [15] สรุปได้ว่าแอนติบอดีที่ตรวจพบได้ในโคมีความจำเพาะต่อ serovars sarmin sejroe และ ranarum ในขณะที่แอนติบอดีส่วนใหญ่ที่พบในสุกรจะมีความจำเพาะต่อ serovars bratislava, pomona, sarmin และ ranarum ซึ่ง serovars bratislava, pomona และ sejroe สามารถพบได้ในคนด้วย

Taxonomy

เชื้อ Leptospira จัดอยู่ใน family *Leptospiraceae* เป็นเชื้อที่ก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ เชื้อใน family นี้มี 3 genus คือ genus *Leptospira*, *Turneria* (*Leptospira*) *parva* และ *Leptonema illini* เชื้อใน genus *Leptospira* มีลักษณะเป็นเกลียววนตามเข็มนาฬิกาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.1-0.2 ไมโครเมตร และยาวประมาณ 6-20 ไมโครเมตร ส่วนปลายงอคล้ายตะขอ (hook) ด้วยขนาดของตัวเชื้อที่บางมากและเคลื่อนไหวอย่างรวดเร็วตลอดเวลา ทำให้ไม่สามารถมองเห็นเชื้อขณะที่มีชีวิตอยู่ได้ด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark-field หรือ phase-contrast เชื้อใน genus *Leptospira* สามารถจำแนกได้เป็น 2 สายพันธุ์คือ *Leptospira interrogans* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคมีอยู่มากกว่า 200 serovars ใน 25 serogroups [16] และ *Leptospira biflexa* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค อาศัยอยู่ตามผิวน้ำและในดินตามธรรมชาติ มีอยู่มากกว่า 60 serovars ใน 38 serogroups [17] ซึ่งเป็นการจัดตามคุณสมบัติทาง serology แต่ละ serogroups ก็คือกลุ่มของเชื้อใน serovars ที่มีแอนติเจนใกล้เคียงกันหรือคล้ายกัน วิธีการแยกเชื้อที่ไม่ก่อโรคออกจากเชื้อที่ก่อโรคนั้นทำได้โดยอาศัยคุณสมบัติของเชื้อที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ13°C [18] และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 8-azaguanine ผสมอยู่ด้วย ซึ่งเชื้อที่ก่อโรคจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะดังกล่าว [19] ต่อมาได้มีการจำแนกเชื้อตามคุณสมบัติทางพันธุกรรม (genetic) โดยวิธี DNA-DNA hybridization พบว่าเชื้อใน สายพันธุ์ *L. interrogans* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมอย่างมาก จึงได้เสนอให้มีการจำแนกเชื้อ โดยอาศัยความเหมือนและความต่างกันทางพันธุกรรม [20]

การจำแนกเชื้อตามคุณสมบัติทางพันธุกรรมสามารถแบ่งออกได้ถึง 16 สายพันธุ์ โดยกลุ่ม *L. interrogans* ถูกแบ่งออกเป็น 9 สายพันธุ์ ที่ได้รับการตั้งชื่อแล้วคือ *L. interrogans*, *L. borgpetersenii, L. inadai, L. noguchii, L. santarosai, L. weillii, L. krischneri* [21], *L. fainei* [22] *L. alexanderi* [23] และอีก 4 สายพันธุ์ที่ยังใช้ชื่อแบบตัวเลขคือ *L. genomospecies 1, 3, 4* และ *5* ส่วนกลุ่ม *L. biflexa* แบ่งออกเป็น 3 สายพันธุ์ คือ *L. biflexa, L. meyeri* และ *L. wolbachii* ถึงแม้ว่าการศึกษาทางพันธุกรรมของเชื้อจะมีความก้าวหน้าไปมากเพียงไรก็ตาม แต่การจำแนกเชื้อที่ตรวจพบได้จากผู้ป่วยยังคงนิยมใช้วิธีทาง serology

อาการทางคลินิกและพยาธิกำเนิด

เชื้อเลปโตสไปรามีความสามารถในการไชผ่านเยื่อบุชนิดต่างๆ (mucous membrane) เช่น เยื่อบุตา (conjunctiva) เยื่อบุช่องจมูก (nasopharynx) เยื่อบุช่องคลอด (vagina) และผิวหนังที่มีบาดแผลหรือผิวหนังเปื่อยยุ่ยจากการแช่ในน้ำนานๆ เช่นในช่วงเวลาที่เกิดน้ำท่วม เมื่อเชื้อไชผ่านผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 7-12 วัน เพราะเชื้อมีระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนยาวกว่าเชื้อแบคทีเรีย ส่วนใหญ่คือประมาณ6-8ชั่วโมงหรือนานกว่านั้น อาการของโรคแบ่งออกได้เป็น 2 ระยะคือ ระยะแรกเป็นระยะที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด เมื่อมีเชื้อจำนวนมากจะทำให้เกิดอาการของโรคที่ไม่เฉพาะเจาะจงเช่น มีไข้หนาวสั่น ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ (โดยเฉพาะกล้ามเนื้อน่อง) เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อาจมีผื่นขึ้นตามตัว และมีตาแดงเนื่องจากเยื่อบุตาอักเสบ (conjunctival suffusion) [24] เชื้อสามารถไชเข้าไปที่ anterior chamber ของตาซึ่งเป็นอวัยวะที่เชื้อชอบหลบอยู่เนื่องจากภูมิคุ้มกันของร่างกายเข้าไปไม่ถึง ทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อบุตา ซึ่งเป็นอาการหนึ่งที่บ่งชี้ว่าเป็นโรคเลปโตสไปโรซีส หลังจากนั้นเชื้อจะแพร่กระจายไปสู่อวัยวะต่างๆ และมีการทำลาย endothelial cell ที่บุผนังหลอดเลือด (capillary) ทำให้เกิดการอักเสบของหลอดเลือด เป็นเหตุให้เกิดความผิดปกติที่อวัยวะต่างๆ เช่น ตับและไต[25] และยังอาจพบเชื้อได้ในน้ำไขสันหลัง (cerebrospinal fluid) ของผู้ป่วย อาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ (myalgia) โดยเฉพาะกล้ามเนื้อน่องซึ่งเกิดในระยะแรกๆ ของโรคนั้นเกิดจากเชื้อ Leptospira ไชผ่านกล้ามเนื้อทำให้เกิด hemorrhages และ necrosis ของ myofibrils ซึ่งเป็นเหตุผลที่น่าเชื่อถือมากกว่าเหตุผลที่ว่าอาการดังกล่าวเกิดจาก toxin ของเชื้อ [26-27] ต่อมาในระยะที่ 2 เป็นระยะที่ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อซึ่งเป็นระยะที่สำคัญ สามารถจำแนกอาการของระยะนี้ออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีอาการเหลืองเนื่องจากมีดีซ่าน (icteric leptospirosis หรือ Weil's syndrome) และกลุ่มที่ไม่มีอาการเหลือง (anicteric leptospirosis) เมื่อร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อและไม่พบเชื้อในน้ำไขสันหลังแล้วจะมีอาการเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งเป็นหนึ่งในอาการที่บ่งชี้ว่าเป็นโรคเลปโตสไปโรซีส การตอบสนองของร่างกายในคนจะมีความแตกต่างจากสัตว์ชนิดอื่น และในแต่ละคนจะมีการตอบสนองต่อโรคไม่เท่ากัน บางรายมีอาการน้อยคล้ายเป็นไข้หวัดธรรมดา ในขณะที่บางรายมีอาการรุนแรงมากจนถึงขั้นเสียชีวิต สาเหตุของการเสียชีวิตส่วนใหญ่ เกิดจากอาการไตวายหรือตับอักเสบ ในรายที่หายจากโรคนี้ จะตรวจไม่พบเชื้อในเลือดหรือในเนื้อเยื่อต่างๆ แต่บางรายเชื้อจะหลบอยู่ในไตหรือใน anterior chamber ของตา [28-29] ทำให้เป็นพาหะของโรคได้ การตรวจหาแอนติบอดีในผู้ป่วยโดยทั่วไปพบแอนติบอดีชนิด IgM ได้ในสัปดาห์แรกตั้งแต่มีอาการ แต่บางครั้งอาจตรวจพบได้ช้ากว่านี้ หลังจากนั้นจึงพบแอนติบอดีชนิด IgG ซึ่งจะคงอยู่ในร่างกายได้นานนับปีหรือหลายปี แต่บางรายอาจตรวจไม่พบ IgG ต่อเชื้อเลปโตสไปรา ส่วนพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคประชากรอาจได้รับเชื้อซ้ำๆ ทำให้ตรวจพบ IgG ต่อเชื้อเลปโตสไปราได้โดยไม่มีอาการป่วย [30-31]

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory diagnosis)

การตรวจทางห้องปฏิบัติการสามารถแบ่งเป็นการตรวจหาเชื้อหรือชิ้นส่วนของเชื้อและการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ ซึ่งการตรวจพบอย่างใดอย่างหนึ่งถือเป็นการยืนยันการเกิดโรคได้ การตรวจหาเชื้อหรือชิ้นส่วนของเชื้อในระยะแรกของโรคมีความสำคัญอย่างมาก เพราะยังไม่มีอาการรุนแรง การรักษาจะทำได้ง่าย การตรวจหาเชื้อมีหลายวิธี เช่น การตรวจโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย (direct examination) การเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture methods) [24] การตรวจหา DNA ของเชื้อ โดยวิธี PCR [32-33] และ การตรวจหาเชื้อหรือชิ้นส่วนของเชื้อจากปัสสาวะโดยใช้โมโนโคลนาลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ (Monoclonal antibody-based dot-ELISA) [34] แต่ละวิธีการจะมีความยากง่ายแตกต่างกันไปเช่น การตรวจหาตัวเชื้อโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย มีข้อจำกัดที่ว่า จำนวนเชื้อต้องมีมากกว่า 10,000 ตัว/มิลลิลิตร และต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Dark-field ในการตรวจ แต่ได้ผลทันที ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อนั้น

สิ่งส่งตรวจอาจมีเชื้อจำนวนไม่มากก็สามารถเพาะเลี้ยงได้ แต่ผลการตรวจต้องรอให้เชื้อแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวน นานหลายวันหรือหลายสัปดาห์ เพราะเชื้อเจริญเติบโตช้า ซึ่งทำให้ไม่สามารถใช้วิธีนี้ช่วยวินิจฉัยโรคเพื่อให้การรักษาได้ทันเวลา แต่ยังคงเป็นวิธีที่จำเป็นในการตรวจเพื่อยืนยันการเกิดโรค และการหาชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุการระบาดของโรค ซึ่งอาจเป็นชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน ส่วนวิธี PCR เพื่อตรวจหา DNA ของเชื้อสามารถตรวจได้แม้จะมีเชื้ออยู่ในปริมาณที่น้อย แต่มีข้อจำกัดคือ ในสิ่งส่งตรวจจะต้องไม่มีสารที่ยับยั้งปฏิกริยาโพลีเมอเรส (PCR-inhibitor) นอกจากนี้เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้ยังมีราคาแพง จึงทำให้การตรวจด้วยวิธีนี้นิยมใช้อยู่เฉพาะในห้องปฏิบัติการของบางโรงพยาบาลและสถาบันที่มีเครื่อง PCR เท่านั้น ส่วนวิธี Monoclonal antibody-based dot-ELISA เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว มีความจำเพาะสูง และการเก็บสิ่งส่งตรวจกระทำได้ง่าย โดยการเก็บปัสสาวะผู้ป่วย แต่การตรวจอาจต้องทำการเก็บปัสสาวะหลายครั้งเพราะเชื้อที่ถูกหลั่งออกมาในปัสสาวะแต่ละครั้งมีจำนวนไม่แน่นอน

เนื่องจากการตรวจหาเชื้อหรือชิ้นส่วนของเชื้อโดยตรงมีข้อจำกัดหลายประการ การตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อ *Leptospira* จึงยังคงความสำคัญต่อการวินิจฉัยเพื่อยืนยันการเกิดโรคและการจำแนกชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุเพื่อประโยชน์ในการศึกษาทางระบาดวิทยา อย่างไรก็ตาม การตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อ *Leptospira* ก็มีข้อจำกัดมากเช่นกัน คืออาจตรวจไม่พบแอนติบอดีในระยะแรกของการติดเชื้อ เพราะในบางครั้งร่างกายอาจสร้างแอนติบอดีได้น้อยทำให้เกิดผลลบปลอมหรือในผู้ป่วยบางรายมีการสร้างแอนติบอดีในระดับที่ตรวจพบได้แล้วจะอยู่นานหลายเดือนหรืออาจนานเป็นปี ทำให้ไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าเป็นแอนติบอดีที่เกิดจากการติดเชื้อครั้งนี้ หรือจากการติดเชื้อครั้งก่อนที่ยังคงอยู่ วิธีการตรวจหาแอนติบอดีที่ใช้กันเป็นส่วนใหญ่ได้แก่ Microscopic Agglutination Test (MAT) เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Leptospira* เพื่อยืนยันการเกิดโรค[24] ตามข้อแนะนำขององค์การอนามัยโลก(WHO) ซึ่งเป็นที่ยอมรับและยังคงใช้กันอยู่ในปัจจุบัน แต่มีข้อจำกัดเรื่องความยุ่งยากของการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ใช้แต่ละ serovars ให้อยู่ในมาตรฐานเดียวกัน และชนิดของเชื้อที่ใช้ต้องครอบคลุมทุก serovars ที่เคยมีการระบาดในพื้นที่ รวมทั้งการเกิด cross reaction ในแต่ละ serovar ดังนั้นการตรวจโดยวิธี MAT จึงใช้กับซีรัมของผู้ป่วยซึ่งผ่านการตรวจคัดกรองด้วยวิธีอื่นมาแล้วเพื่อเป็นข้อมูลทางระบาดวิทยานอกจากวิธี MAT แล้วยังมีวิธีอื่นๆ ที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น Indirectimmunofluorescent test (IFA) [24] Lepto dipstick [35] Lateral-flow assay [36] Enzyme-linked-immunosorbent- assay (ELISA) [37-38] และ Latex agglutination test [24] ซึ่งแต่ละวิธีจะมีข้อจำกัดแตกต่างกัน

การใช้ยาเพื่อการรักษาและการป้องกัน

การใช้ยาปฏิชีวนะ (doxycycline) ในช่วงเวลา 2-4 วันแรกที่มีอาการ ช่วยลดระยะเวลาที่เจ็บป่วยได้ และในรายที่มีอาการรุนแรงการใช้ยายังช่วยลดความรุนแรงและลดอัตราการตาย ในผู้ป่วยลงด้วย [30,39,40] แต่ก็มีบางรายงานที่ชี้ให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการใช้และไม่ใช้ยาปฏิชีวนะในผู้ป่วยที่มีอาการ [41] รวมทั้งไม่มีความแตกต่างกันของอัตราการตายด้วย [42] จึงยังคงเป็นข้อขัดแย้งกันเกี่ยวกับการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซีส อย่างไรก็ตามแพทย์ ยังคงใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาผู้ป่วยที่มีอาการและอยู่ในพื้นที่ รวมทั้งที่มีประวัติหรือมีความเสี่ยงต่อโรค[43] การให้ยา doxycycline เพื่อป้องกันโรค (chemoprophylaxis) ในพื้นที่ที่มีการระบาดก็มีข้อจำกัดที่ว่าเป็นยาอันตรายจึงไม่ควรใช้เป็นระยะเวลานานติดต่อกัน ดังนั้นการให้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันโรค อาจทำได้ในกรณีป้องกันทหารหรือนักท่องเที่ยวที่ต้องเดินทางเข้าไปในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค หรือใช้กับผู้ปฏิบัติหน้าที่ในห้องปฏิบัติการที่อาจสัมผัสเชื้อโดยอุบัติเหตุ

วัคซีนป้องกันโรคเลปโตสไปโรซีส

การพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคเลปโตสไปโรซีสมีมาอย่างต่อเนื่องในหลายประเทศ เช่น จีน รัสเซีย คิวบา แต่มีผู้ป่วยน้อยรายที่ได้รับวัคซีนแล้วจะสามารถสร้างแอนติบอดีได้ตรงกับ serovar ของเชื้อที่ได้รับการกระตุ้น(จากการตรวจสอบโดย MAT)[44] จึงอาจกล่าวได้ว่า in vitro test ไม่

สัมพันธ์กับภูมิคุ้มกันที่ร่างกายสร้างขึ้น ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการพัฒนาวัคซีนในระยะแรกคือ วัคซีนที่ใช้ทำจากเชื้อที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเดิม ทำให้เกิดผลข้างเคียงอันเนื่องมาจากโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปนมา วัคซีนนี้ยังมีข้อจำกัดอีกมากเช่น ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อข้ามสายพันธุ์ ซึ่งมีมากกว่า 250 serovars ทำให้ต้องกระตุ้นภูมิคุ้มกันทุกปีหรือ ปีละสองครั้ง การใช้วัคซีนที่เตรียมจากเชื้อตาย อาจทำให้เกิดอาการข้างเคียงเฉพาะที่ เช่น มีไข้อ่อนเพลียได้นาน 2-3 วัน ระยะเวลาในการป้องกันโรคสั้นมากและไม่สมบูรณ์ ซึ่งผลที่ได้นี้คล้ายกันทั้งในคนและสัตว์ ความหลากหลายของรูปแบบของเชื้อที่เข้าสู่ร่างกายอาจป้องกันการสร้างภูมิคุ้มกัน และวัคซีนอาจกระตุ้นให้เกิด autoimmune disease เช่น uveitisได้ ความรู้เกี่ยวกับกลไกการป้องกันโรคเลปโตสไปโรซีสยังมีน้อย วัคซีนที่ใช้ในสัตว์เลี้ยงตามบ้านและสัตว์เศรษฐกิจ จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อป้องกันไม่ให้สัตว์ เจ็บป่วยซึ่งช่วยให้ได้ผลผลิตสูงขึ้น แต่ไม่สามารถป้องกันเชื้อที่ออกมาในปัสสาวะของสัตว์ซึ่งอาจติดต่อสู่คนได้ [45-46]

จากปัญหาที่กล่าวข้างต้นทำให้นักวิจัยสนใจที่จะสกัดเอาส่วนประกอบของเชื้อมาเตรียมเป็นวัคซีน เช่น outer membrane (OM), periplasmid space, lipopolysaccharide (LPS) และแอนติเจนส่วนที่เป็น conserved antigen [47] ซึ่งแอนติบอดีต่อแอนติเจนเหล่านี้อาจช่วยป้องกันโรคในระยะยาวได้ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายส่วนใหญ่สร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อส่วน outer membrane และ LPS ของตัวเชื้อซึ่ง LPSของเชื้อเลปโตสไปรามีความแตกต่างจากแบคทีเรียประเภทที่ย้อมติดสีแกรมลบ (gram negative bacteria) คือไม่มีคุณสมบัติของ toxins และ pyrogens [48-50] และแอนติบอดีต่อส่วน LPS มีความจำเพาะในแต่ละ serogroups นอกจาก LPS แล้ว transmembrane proteins ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ outer membrane เช่น OmpL1 (outer membrane of pathogenic leptospires) [51-52], LipL36 (lipoprotein of pathogenic leptospires)[53], LipL41 [54] ก็เป็นแอนติเจนที่ดีอีกประเภทหนึ่งที่กระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อได้ แต่จะต่างจาก LPS ตรงที่ OmpL1 และ LipL41 เป็น common antigen คือ พบได้ในเชื้อเลปโตสไปราทุก serogroups [54-55] ซึ่งสามารถกระตุ้น host ให้สร้างแอนติบอดีต่อเชื้อและป้องกันการติดเชื้อซ้ำได้ แต่การสกัดโปรตีนเหล่านี้ให้มีสภาพเหมือนธรรมชาติยังทำไม่ได้ จึงมีการใช้ transmembrane protein และ lipoprotein OMPs จากการทำ recombination protein ซึ่งมีรายงานว่าสามารถป้องกันโรคได้ เช่น การใช้วัคซีนที่ผลิตได้จาก recombinant OmpL1 และ LipL41 ผสมกันสามารถป้องกันการเกิดโรคเลปโตสไปโรซีสในหนูแฮมสเตอร์ได้ แต่ถ้าใช้เพียงตัวใดตัวหนึ่ง (OmpL1 หรือ LipL41) ยังไม่ได้ผล [56-58] นอกจากนี้ยังมีการสังเคราะห์ FlaB protein ของเชื้อ *L. interrogans* serovar pomona โดย periplasmic flagellin gene (FlaB)ใน E. *coli* ได้ ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับซีรัมของหนูและโคที่มีแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราโดยวิธีเวสเทอร์นบลอทได้ [59]

สรุป

เลปโตสไปโรซีสเป็นโรคติดต่อจากสัตว์มาสู่คนที่ยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย การวินิจฉัยเพื่อยืนยันโรคยังต้องใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งในปัจจุบันมีหลายวิธีที่มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน การใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาจะได้ผลดีในระยะแรกของการเกิดโรคและอาจใช้ป้องกันโรคได้ในรายที่ต้องเสี่ยงเข้าไปในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค หรือกรณีเกิดอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการ ในปัจจุบันมีการนำวิธี Recombination DNA Technology มาใช้เพื่อผลิตแอนติเจนที่เลียนแบบส่วนของเชื้อให้ใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด เพื่อนำมาใช้เป็นวัคซีน ด้วยความมุ่งหวังที่จะผลิตวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์แพทย์หญิงนันทนา แก้วพิลา ที่ช่วยอ่านและให้คำแนะนำ

เอกสารอ้างอิง

1. Alston JM, Broom JC. Leptospirosis in man and animals. Edinburgh and London: E&S Livingstone LTD, 1958.
2. Inada R, Ido Y, Hoki R. Etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica). J Exp Med 1916; 23:377-402.
3. Stokes A, Ryle J. A note on Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica) as it has occured in the Army in Flanders. BMJ 1916; 2:413.
4. Kelly PW. Leptospirosis. In: Gorbach B, ed. Infectious disease. Blacklow: WB Saunders Company, 1998:1580-9.
5. Rathinam S, Rathnam S, Selvaraj S, Nozik R, Namperumalsamy P. Uveitis associated with an epidemic outbreak of leptospirosis. Am J Ophthalmol 1997; 124:71-9.
6. Martone W, Kaumann A. Leptospirosis in human in the United States, 1974-1978. J Infect Dis 1979; 140:1020-22.
7. Edwards CN, Nicholson GD, Hassell TA, Everard C, Callender J. Leptospirosis in Babados: a clinical study. West Indian Med J 1990; 39:27-34.
8. Ragnaud J, Morlat P, Buisson M, et al. Aspects epidemiologiques, cliniques, biologiques et evolutifs de la leptospirose: a propose de 30 observations recuiellies en Aquitaine. Rev Med Intern 1994; 15:452-9.
9. Yunibandha J. First report of Weil's disease in Thailand. J Med Assoc Thai 1943; 26:83-136.
10. Sundharagiati B, harinasuta C. Leptospirosis isolated from man and animal in Thailand. J Med Assoc Thai 1965; 48:343-51.
11. Sundharagiati B, Harinasuta C. Human leptospirosis in Thailand. Trans R Soc Trop Med and Hyg 1966; 60:361-5.
12. Sundharagiati B, Panas-ampol K, N S. Leptospirosis in nakorn Chiengmai Hospital: a report of forty-two cases. Med J Chiengmai Hospital 1962; 4:213-8.
13. Charoonruangrit S, Boonpacknavig S. Leptospirosis at Chulalongkorn: a report of 54 cases. J Med Assoc Thai 1964; 47:653-61.
14. สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กรมควบคุมโรคติดต่อ รายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2531-2545. 2002.
15. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรมปศุสัตว์ รายงานประจำปี 2539-2541. 1996-1998.
16. Kmety E, Dikken H. Classification of the species L. interrogans and history of its serovars. Groningen, The Netherland: University Press, 1993.
17. Johnson RC, Faine S. Family II Leptospiraceae. In: Krieg NR, Holt JG, eds. Bergey's manual of systemic bacteriology. Vol. 1. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1984:62-7.
18. Johnson R, Harris V. Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospires. I. Growth at low temperatures. J Bacteriol 1967; 94:27-31.
19. Johnson R, Rogers P. Differentiation of pathogenic and saprophytic leptospires with 8-azaguanine. J Bacteriol 1964; 88:1618-1623.
20. Yasuda P, Streigerwalt A, Sulzer K, Kaufmann A, Rogers F, Brenner D. Deoxyribonucleic acid and relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposal for seven Leptospira species. Int J Syst Bacteriol 1987; 37: 404-15.
21. Ramadass P, Jarvis B, Corner R, Penny D, Marshall R. Genetic characterization of pathogenic Leptospira species by DNA hybridization. Int J Syst Bacteriol 1992; 42:215-9.
22. Perolat P, Chappel R, Adler B, et al. Leptospira fainei sp. nov., isolated from pigs in Australia. Int J Syst Bact 1998; 48:851-8.
23. Brenner D, Kaufman A, Suzer K, Steigerwalt A, Rogers F, Weyant R. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with aproposal for Leptospira alexanderisp. nov. and four new Leptospira genomicspecies. Int J Syst Bacteriol 1999; 49:839-58.
24. Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. In: Faine S, ed. Geneve: World Health Organization, 1982:171.
25. Feigin R, Anderson D. Human leptospirosis. Crit Rev Clin Lab Sci 1975; 5:413.
26. Arean VM. The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). Am J Pathol 1962; 40:393-414.
27. Solbrig A, Sher J, Kula R. Rhabdomyolysis in leptospirosis (Weil's disease). J Infect Dis 1987; 156:692-3.
28. Alexander A, Baer A, Fair JP, et al. Leptospiral uveitis: Report of bacteriologically verified cases. Arch Ophthalmol 1952; 48:292-7.
29. Feigin RD, Anderson DC. Leptospirosis. In: Feigin RD, Cherry JD, eds. Text book of pediatric infection disease. Vol. 2, 1998.
30. Chapman AJ, Everard CO, Faine S, Adler B. Antigens recognized by the human immune response to severe leptospirosis in Barbados. Epidemiol infect 1991; 107:143-55.
31. Lupidi R, Cinco M, etal. Serological follow-up of patients involved in a localized outbreak of leptospirosis. J Clin Microbiol 1991; 29:805-9.
32. Merien F, Amouriaux P, Perolat P, Baranton G, Saint girons I. Polymerase chain reaction for detection of Leptospira spp. in clinical samples. J Clin Microbiol 1992; 30:2219-24.
33. Gravekamp C, Van de Kemp H, Franzen M, et al. Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. J Gen Microbiol 1993; 139:1691-700.
34. Saengjaruk P, Chaicumpa W, Watt G, et al. Diagnosis of human leptospirosis by monoclonal antibody-based antigen detection in urine. J Clin Microbiol 2002; 40:480-9.
35. Gussenhoven GC, van der Hoorn MA, Goris MG, et al. LEPTO dipstick, a dipstick assay for detection of Leptospira-specific immunoglobulin M antibodies in human sera. J Clin Microbiol. 1997; 35:92-7.
36. Smits HL, Eapen CK, Sugathan S, et al. Lateral-flow assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8:166-9.
37. Adler B, Murphy A, Locarnini S, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunoadsorbant assay. J Clin Microbiol 1980; 11:52-7.

38. Terpstra W, Ligthart G, Schoone G. ELISA for the detection of specific IgM and IgG in human leptospirosis. J Gen Microbiol 1985; 131:377-85.
39. Watt G, Padre L, Tuazon M, et al. Placebo-controlled trial of intravenous penicillin for severe and late leptospirosis. Lancet 1988; 1:433-5.
40. Sehgal SC, Sugunan AP, Murhekar MV, Sharma S, Vijaya chari P. Randomized controlled trial of doxycycline prophylaxis against leptospirosis in an endemic area. Int J Antimicrob Agents 2000; 13:249-55.
41. Katz AR, Ansdell VE, Effler PV, Middleton CR, Sasaki DM. Assessment of the clinical presentation and treatment of 353 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Hawaii, 1974-1998. Clin Infect Dis 2001; 33:1834-41.
42. Edwards CN, Nicholson GD, Hassell TA, Everard CO, Callender J. Penicillin theraphy in icteric leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1988; 39:388-90.
43. Vinetz JM. Mountain out of a molehill: do we treat acute leptospirosis, and if so, with what? Clin Infect Dis 2003; 36:1514-5.
44. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. The LANCET Infect Dis 2003; 3:757-71.
45. Feigin RD, Lobes LA, Anderson D, Pickering L. Human leptospirosis from immunized dogs. Ann Intern Med 1973; 79:777-85.
46. Bolin CA, Alt DP. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to Leptospira borgpetersenii serovar hardjo. Am J Vet Res 2001; 62:995-1000.
47. Sonrier C, Branger C, Michel V, Ruvoen-Clouet N, Ganiere JP, Andre-Fontaine G. Evidence of cross potection within Leptospira interrogans in an experimental model. Vaccine 2000; 19:86-94.
48. Shimizu T, Matsusaka E, Nagakura N, et al. Biological properties of lipopolysaccharide-like substance (LLS) extracted from Leptospira interrogans serovar canicola strain Moulton. Microbiol and Immunol 1987; 31:727-35.
49. Shimizu T, Matsusaka E, Nagakura N, et al. Chemical prpperties of lipopolysaccharide-like substance (LLS) extracted from Leptospira interrogans serovar canicola strain Moulton. Microbiol and Immunol 1987; 31:717-25.
50. Vinh T, Adler B, Faine S. Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from Leptospira interrogans serovar copenhageni. J Gen Microbiol 1986; 132:103-9.
51. Haake D, Champion C, Martinich C, Shang E, Blanco D, Miller J. Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding OmpL1, a transmembrane outer membrane protein of pathogenic Leptospira spp. J Bacteriol 1993; 175:4225-34.
52. Shang ES, Exner MM, Summers TA, et al. The rare outer membrane protein, OmpL1, of pathogenic Leptospira species is a heat-modifiable porin. Infect Immun 1995; 63:3174-81.
53. Hayashi S, Wu H. Lipoproteins in bacteria. J Bioennerg Biomembr 1990; 22:451-71.
54. Shang E, Summers T, Haake D. Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding lipoprotein of pathogenic Leptospiraspecies. Infect Immun 1996; 64:2322-30.
55. Haake DA, Walker EM, Blanco DR, Bolin CA, Miller JN, Lovett MA. Chang in the surface of Leptospira interrogans serovar grippotyphosa during in vitro cultivation. Infect. Immun 1991; 59:1131-40.
56. Finke M, Duchane M, Eckhardt A, Domdey H, von Specht BU. Protection against experimental Pseudomonas aeruginosa infection by recombinant P. aeruginosa lipoprotein I expressed in Escherichia coli. Infect Immun 1990; 58:2241-4.
57. Gerlach GF, Anderson C, Klashinsky S, Rossi-Campos A, Potter AA, Willson PJ. Molecular characterization of a protective outer membrane lipoprotein (OmlA) fromActinobacillus pleuropneumoniae serotype 1. Infect. Immun. 1993; 61:565-72.
58. Haake DA, Mazel MK, McCoy AM, et al. Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and LipL41 exhibit synergistic immunoprotection. Infect Immun 1999; 67:6572-82.
59. Lin M, Bughio N, Surujballi O. Expression in Escherichia coli of flaB, the gene encoding for a periplasmic flagellin of Leptospira interrogans serovars pomona. J Med Microbiol 1999; 48:977-82.