บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกเชื้อจากสิ่งแวดล้อม

จากตารางที่ 8 พบว่าสามารถแยกเชื้อมัยโคแบคทีเรียได้ทุกชนิดของตัวอย่างที่ใช้ศึกษาและปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งการแยกเชื้อมัยโคแบคทีเรีย จากตัวอย่างน้ำชนิดต่างๆ นั้น Collin และคณะในปี ค.ศ. 1984(91) ได้รายงานว่าเชื้อมัยโคแบคทีเรียจะกระจายตัวอยู่ทั่วไปในน้ำคลอง, น้ำทะเลรวมทั้งน้ำประปาด้วย แต่ปริมาณและชนิดของเชื้อจะแตกต่างกัน Paulls ในปี ค.ศ. 1969(92) แยกเชื้อมัยโคแบคทีเรียชนิดเจริญเร็ว จากน้ำประปาในประเทศเวลล์ตอนใต้ได้ 4 ใน 30 ตัวอย่าง(13%) แต่จากการศึกษาพบเชื้อมัยโคแบคทีเรียจากน้ำประปา 9 ใน 19 ตัวอย่าง(47%) ซึ่งมากกว่าการศึกษาของ Paulls ถึง 3.5 เท่า และ Chapman ในปี ค.ศ. 1971(93) กล่าวว่าเชื้อมัยโคแบคทีเรียมีความทนทานต่อสาร-คลอรีนในน้ำประปาได้ดี จึงสามารถแยกเชื้อเหล่านี้ออกจากน้ำประปาได้, Carson และคณะในปี 1978(94) รายงานว่าเชื้อ M. chelonei มีชีวิตอยู่ได้นาน 60 นาที ในน้ำ-ประปาที่มีคลอรีนอยู่ในความเข้มข้น 0.3-0.7 มิลลิกรัม/ลิตร แต่การศึกษาครั้งนี้ไม่พบเชื้อ M. chelonei ในน้ำประปาเลย Goslee และ Wolinsky ในปี1976(29) พบเชื้อ M. fortuitum จากน้ำประปาเพียง 1 สายพันธุ์และพวก มัยโคแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญช้า อีกจำนวนหนึ่ง แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อ M. fortuitum ดังกล่าวถึง 4 สายพันธุ์ (ตารางที่ 12) การศึกษาของ Grulf และคณะในปี 1975, 1979 และ1981(95-97) สามารถแยกเชื้อมัยโคแบคทีเรียได้จากน้ำทะเล โดยไม่พบพวกเจริญเร็วเลย แต่การศึกษาครั้งนี้พบ มัยโค-แบคทีเรียชนิดเจริญเร็วในน้ำทะเล คือ M. fortuitum ถึง 2 สายพันธุ์ ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Grulf โดยสิ้นเชิง และล่าสุดการศึกษาของ Byoung ในปี ค.ศ. 1984(30) ที่ศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อมัยโคแบคทีเรีย ในสิ่งแวดล้อมของประเทศเกาหลี พบเชื้อ M. fortuitum มากที่สุดโดยใช้ตัวอย่างดิน, น้ำบ่อ, น้ำเสียและฝุ่นซึ่งตรงกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบเชื้อ M. fortuitum มากที่สุดเช่นกัน ตามที่แสดงไว้ในตารางที่ 12 (กลุ่มที่ 4) เมื่อมา

พิจารณาเชื้อที่แยกได้จากดินโคลน และฝุ่นผง ในจำนวนตัวอย่างที่เท่ากันซึ่ง Kazda ในปี 1983(98) รายงานว่าเชื้อมัยโคแบคทีเรียจะแบ่งตัวขยายพันธุ์ได้ดีในดินที่เปียกชื้น เช่น โคลน เลนมากกว่าในดินที่แห้ง เช่น ฝุ่นผง ซึ่งตรงกับการศึกษาครั้งนี้

ผลการวิเคราะห์ตามวิธี Numerical Taxonomy ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ใช้เชื้อทั้งหมด 113 สายพันธุ์กับการทดสอบ 120 ลักษณะได้ผลการจัดกลุ่มดังแสดงไว้ในตารางที่ 12 และผลของการทดสอบลักษณะของกลุ่มต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 13 จะเห็นว่า สามารถแบ่งกลุ่มออกตามเชื้อสายพันธุ์อ้างอิงได้ถึง 7 กลุ่ม และ 1 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่ 2,4,5,6,7, 8,10 และ 11A เป็นเชื้อ เชื้อ M. flavescens, M. fortuitum, M. chelonei subsp abscessus, M. chitae, M. chelonei subsp chelonei, M. austroafricanum, M. phlei และ M. neolactis ตามลำดับ ที่เหลือนอกนั้นจัดเป็นกลุ่มของ unclassified mycobacterium ที่ไม่สามารถกำหนดชื่อ เนื่องจากไม่มีเชื้อสายพันธุ์อ้างอิงอยู่ในกลุ่มของเชื้อเหล่านี้เลย ซึ่งอาจจะเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ที่ยังไม่เคยมีการค้นพบ และพิสูจน์เชื้อมาก่อน

เชื้อในกลุ่มที่ 1 ที่เป็นเชื้อ unclassified mycobacterium นั้นมีลักษณะคล้ายกับเชื้อในกลุ่มที่ 2 ที่เป็นเชื้อ M. flavescens แต่แตกต่างกันดังแสดงไว้ในตารางที่ 14 คือ เชื้อในกลุ่มที่ 1 ให้ผลบวกกับการทดสอบ Tellurite reduction, ไม่เจริญบนอาหาร Lowenstein-Jensen ที่ผสมสาร hydroxylamine hydrochloride ในความเข้มข้น 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, ไม่ผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรทชนิด fructose แต่สามารถผลิตได้จากสารประกอบ mannose ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Tsukamura และ Mizuno (102)

เชื้อในกลุ่มที่3 เป็นเชื้อ unclassified mycobacteria อีกกลุ่มหนึ่งเมื่อดูจากตารางที่ 14 พบว่ามีลักษณะที่แตกต่างจากกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 คือ ให้ผลลบกับการทดสอบ nitrate reduction, ให้ผลลบกับการทดสอบ amide activity ของสารประกอบ amide ประเภท nicotinamide, ไม่สามารถใช้ sodium nitrite เป็นแหล่งของไนโตรเจนได้ และสามารถใช้ D-glucosamine เป็นแหล่งของไนโตรเจน และคาร์บอนได้พร้อมกัน.

เชื้อในกลุ่มที่ 4,5,6 และ 7 เป็นกลุ่มของเชื้อที่มีสีขาวหรือไม่มีสี ซึ่งสามารถแยกออกจากกลุ่มของเชื้อที่มีสีออกได้อย่างชัดเจน ตามเดนโดรแกรม รูปที่ 3 กลุ่มที่ 4, 5 และ 7 ที่เป็นเชื้อ M. fortuitum, M. chelonei subsp abscessus และ M. chelonei subsp chelonei ตามลำดับนั้น ได้แสดงความแตกต่างไว้ในตารางที่ 15 พบว่าการ

ใช้ลักษณะของการทดสอบ nitrate reduction สามารถใช้เป็นลักษณะที่ใช้แยกระหว่าง M. fortuitum กับ M. chelonei ทั้งสอง subsp. ได้(99) นอกจากนี้ยังมีการทดสอบอื่น ๆ ที่ใช้แยกความแตกต่างระหว่างเชื้อในกลุ่มที่ 4, 5 และ 7 คือกลุ่มที่ 4 สามารถผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรทประเภท fructose ได้, ให้ผลบวกกับการทดสอบ Iron uptake, ให้ผลลบกับการทดสอบ amide activity ต่อสารประกอบ amide ประเภท nicotinamide และการทดสอบ Tween 80 Hydrolysis ก็ใช้เป็นลักษณะที่แยกระหว่างกลุ่มของเชื้อที่มีสีกับไม่มีสีได้อย่างชัดเจน., Wayne ในปี 1961(100) รายงานว่าการทดสอบ arylsulfatase ของเชื้อ M. fortuitum จะให้ผลบวกซึ่งตรงกับการศึกษาครั้งนี้และตรงกับการทดลองของ Tsukamura(59) เช่นกัน

เชื้อในกลุ่มที่ 5 และ 7 ที่เป็นเชื้อ M. chelonei subsp abscessus และ M. chelonei subsp chelonei นั้นสามารถแยกความแตกต่างออกได้โดยลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ คือ M. chelonei subsp abscessus จะมีผิวของโคโลนีเรียบ, ใช้สารประกอบของกรดอินทรีย์ประเภท sodium citrate เป็นแหล่งของคาร์บอนได้, ให้ผลลบกับการทดสอบ amide activity ต่อสารประกอบ amide ประเภท benzamide และ isonicotinamide, สามารถใช้ D-glucosamine เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนได้พร้อมกัน และผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรทประเภท glucose

เชื้อในกลุ่มที่ 6 เป็นเชื้อ M. chitae มีลักษณะสำคัญที่ Tsukamura.(59,101) รายงานไว้คือ รูปร่างเซลล์จะเป็น cocco bacillary ซึ่งตรงกับการศึกษาครั้งนี้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 13 และมีลักษณะที่แตกต่างจากกลุ่มที่ 4,5 และ 7 คือ ให้ผลลบกับการทดสอบ arylsulfatase และ Tellurite reduction, สามารถผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรท ประเภท manitol ดังแสดงไว้ในตารางที่ 15.

เชื้อในกลุ่มที่ 8 เป็นเชื้อ M. austroafricanum มีเชื้อที่พบโดย นสพ. ดร.เกรียงศักดิ์ สายธนู 2 สายพันธุ์ ตั้งชื่อว่า M. selandiae (61) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับเชื้อสายพันธุ์อ้างอิงคือ M.austroafricanum(30004 และ 30005) ที่ Tsukamura (58) ได้ศึกษาและพิสูจน์เชื้อไว้ทั้งยังมีรายชื่ออยู่ใน Bergey's manual of systematic Bacteriology(7) ดังนั้นกลุ่มที่ 8 จึงต้องเป็นเชื้อ M. austroafricanum ตามเชื้ออ้างอิงที่กล่าวถึงโดยมีลักษณะที่สำคัญคือ โคโลนีสีเหลือง, ผิวเรียบ, สามารถเจริญบนอาหาร Lowenstein-Jensen ที่ผสมสาร Hydroxylamine Hydrochloride ในความเข้มข้น

125 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร, สามารถเปลี่ยน nitrate เป็น nitrite ได้, สามารถใช้ L-glutamate และ ethalnolamine เป็นแหล่งของไนโตรเจน และคาร์บอนได้พร้อมกัน, ให้ผลบวกกับการทดสอบ amide activity ต่อสารประกอบ amide ประเภท pyrazinamide และ ให้ผลลบต่อสารประกอบ amide ประเภท benzamide, isonicotinamide และ succinamide ดัง แสดงไว้ในตารางที่ 13

เชื้อในกลุ่มที่ 9 มีเชื้ออ้างอิง 3 สายพันธุ์คือ M. aurum MNC 974, M. vaccae MNC 455 และ M. neoaurum ATCC 25796 ตรงกับการศึกษาของ Tsukamura และ Mizuno ในปี ค.ศ. 1972(102) และรายงานว่าเป็นเชื้อ M. vaccae complex ที่ใช้ลักษณะทดสอบ 80 ลักษณะแต่จากการศึกษาของ Tsukamura และคณะในปี 1983(58) ที่เพิ่มลักษณะทดสอบเป็น 107 ลักษณะ พบว่าเชื้อ 3 สายพันธุ์นี้ สามารถแยกออกจากกันได้ ซึ่งจะตรงกับการศึกษาครั้งนี้ถ้าใช้ระดับคล้ายคลึงที่ 85% จะได้เป็นกลุ่มของ M. aurum ที่ประกอบด้วยเชื้อ 2 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากผู้ป่วย 1 สายพันธุ์ และเป็นเชื้ออ้างอิง คือ M. aurum MNC 974 อีก 1 สายพันธุ์.

เชื้อในกลุ่มที่ 11 ประกอบด้วย 4 กลุ่มย่อยคือ กลุ่มย่อยที่ 11A, 11B, 11C และ 11D กลุ่มย่อยที่ 11A เป็นเชื้อ M. neolactis มีลักษณะที่สำคัญคือ โคโลนีมีสีชมพูอ่อน (61) และมีลักษณะที่แตกต่างจากกลุ่มย่อยที่ 11B, 11C และ 11D ซึ่งเป็นเชื้อ unclassified mycobacterium ดังแสดงไว้ในตารางที่ 16 นอกจากนี้ยังมีลักษณะที่ต่างไปจากกลุ่มอื่นๆ คือ ไม่ผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรต และไม่ใช้สารประกอบของกรดอินทรีย์ (organic acid) เป็นแหล่งของคาร์บอนยกเว้น sodium acetate ดังแสดงไว้ในตารางที่ 13

หากมาพิจารณากลุ่มย่อยที่ 11C ที่มีจำนวน 11 สายพันธุ์จะพบได้ว่ามีลักษณะที่สำคัญ คือ complete acid fast เซลล์เป็นรูปร่าง short rod, ผิวเรียบ, โคโลนีสีเหลือง, ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, ผลการทดสอบ semi-quantitative catalase ให้ฟองสูงกว่า 45 มิลลิลิตร, ให้ผลบวกกับการทดสอบ arylsulfatase 14 วัน, ให้ผลบวกกับการทดสอบ tween 80 hydrolysis 3 วัน, ให้ผลลบกับการทดสอบ tellurite reduction ให้ผลบวกกับการทดสอบ acid phosphatase, ไม่ผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรททุกชนิด, ไม่ใช้สารประกอบของกรดอินทรีย์เป็นแหล่งของคาร์บอน ยกเว้น sodium acetate และแยกเชื้อได้จากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อมทั้งน้ำคลองและดินโคลน ซึ่งคิดว่ามีแนวโน้มที่จะเป็นสปีชีใหม่ที่ยังไม่เคยมีการค้นพบมาก่อน

กลุ่มที่ 12 เป็นกลุ่มของ Unclassified Mycobacterium มีลักษณะที่ต่างไปจากกลุ่มอื่นๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 13 คือมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่า 4 วัน การทดสอบ semi-quantitative catalase ให้ฟองสูงน้อยกว่า 45 มิลลิเมตร เจริญได้บนอาหาร sauton agar. ที่ผสมสารประกอบ sodium nitrite ในความเข้มข้น 0.1% ไม่ผลิตกรดจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรต และไม่ใช้สารประกอบของกรดอินทรีย์ เป็นแหล่งของคาร์บอน ยกเว้น sodium acetate แต่สามารถใช้สารประกอบ nicotinamide เป็นแหล่งของไนโตรเจน สำหรับการเจริญเติบโตได้.