บทที่ 1

บทนำ

Mobiluncus เป็นเชื้อบัคเตรีที่มีลักษณะเป็นแท่งโค้ง (curved rods หรือ comma shaped rods) ซึ่ง Holst , Hofmann and Mardh (1984c) แบ่งเชื้อตามรูปร่างสัณฐานวิทยา (morphology) ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือ long curved rods (LCR) และอีกกลุ่มหนึ่งคือ short curved rods (SCR) เชื้อนี้มีคุณสมบัติเป็นแอนแอโรบส์และสามารถพบเชื้อนี้ได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis ซึ่งปัจจุบันเรียกว่า bacterial vaginosis) (Durieux and Dublanchet 1980, Hjelm et al. 1982, Holst e t al. 1982, Holst et al. 1983, Phillips and Taylor 1982, Spiegel et al. 1983, Sprott et al. 1983)

Blackwell and Barlow (1984) พบว่าช่องคลอดซึ่งมีการติดเชื้อแอนแอโรบส์ในช่องคลอดนั้นมีกลิ่นเหม็น (malodour) และมีปริมาณของสิ่งคัดหลั่งของช่องคลอด (vaginal discharge) มากกว่าปกติเป็นระยะเวลานานเป็นเดือน ๆ และมีกลิ่นเหม็นโดยแพทย์ไม่สามารถหาสาเหตุของโรคได้ จะทำให้คนไข้แยกตัวเองจากสังคม เพราะความกลัวว่าคนรอบข้างจะได้กลิ่นที่ผิดปกตินี้ อาการช่องคลอดอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อแอนแอโรบส์ (anaerobic vaginitis) มักเรื้อรังทำให้มีผลกระทบต่อสภาวะจิตใจของผู้ป่วย เนื่องจากการเพาะเชื้อแอนแอโรบส์ทำได้ยาก เพราะต้องจัดอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน และอาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษ บ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมง เป็นอย่างต่ำ และได้ผลช้า ทำให้มีผู้ศึกษาเชื้อนี้กันน้อย

Holst and Svenson (1984) รายงานผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบที่มีการติดเชื้อ *Mobiluncus* ร่วมกับ *Gardnerella vaginalis* ส่วนการทำให้เกิดโรค (pathogenesis) ของเชื้อ *Mobiluncus* ยังไม่ทราบกันแน่ชัด

Spiegel et al. (1983) รายงานว่าผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบพบมีเชื้อ curved rods ร่วมกับเชื้อแอนแอโรบส์ชนิดอื่น ๆ เช่น *Bacteroides spp.*, *Peptococcus* spp., *Eubacterium* spp. เป็นต้น การเกิดโรคช่องคลอดอักเสบอาจจะเป็นลักษณะติดเชื้อร่วมกัน (symbiotic infection) ระหว่างเชื้อ *G. vaginalis* และเชื้อ curved rods หรือ *G. vaginalis* ร่วมกับเชื้อแอนแอโรบส์อื่น ๆ

การศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ *Mobiluncus* ในต่างประเทศมีรายงานน้อย และในประเทศไทยยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับเรื่องนี้เลย ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ *Mobiluncus* นี้ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของเชื้อ *Mobiluncus* ในการทำให้เกิดช่องคลอดอักเสบ ความไวต่อยาปฏิชีวนะ คุณสมบัติต่าง ๆ ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อแพทย์ที่จะนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยโรคและทำการรักษาต่อไป

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. ศึกษาอุบัติการณ์ของเชื้อ *Mobiluncus* ในสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และสตรีที่ไม่มีอาการ

2. ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีโดยศึกษารูปร่างสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี (Morphology and biochemical activities) ของเชื้อ *Mobiluncus* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากช่องคลอดของสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis)

3. ดูความสัมพันธ์ของการตรวจเชื้อ *Mobiluncus* โดยวิธีย้อมแกรมและการเพาะเชื้อจากสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ

4. ดูความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *Mobiluncus* และ *G. vaginalis*

ในผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis)

5. ศึกษาระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Mobiluncus* และ *G. vaginalis* (Minimal Inhibitory Concentration = MIC) โดยทำกับยาปฏิชีวนะ 3 ตัว คือ ampicillin, tetracycline และ metronidazole

<u>การสำรวจเอกสาร</u>

1. <u>ประวัติ</u>

เชื้อ *Mobiluncus* ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1913 โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Curtis เขารายงานตามลักษณะรูปร่างสัณฐานของเชื้อว่า anaerobic motile curved bacillus โดยแยกเชื้อนี้ได้จากช่องคลอด (vagina), คอมดลูก (cervix) ของผู้ป่วยติดเชื้อภายหลังคลอด (puerpheral infection) เพาะเชื้อบน blood agar บ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน ได้โคโลนีแบบโปร่งแสง (translucent) จัดเชื้อนี้อยู่กลุ่ม *Vibrio* และใน ปี ค.ศ. 1921 Schroder ได้รายงานว่าพบเชื้อ curved bacilli ในสิ่งคัดหลั่งของหญิงที่มีอาการของช่องคลอดอักเสบ และ Moore (1954) ได้ให้ข้อสรุปลักษณะของเชื้อนี้ว่าเป็นเชื้อ anaerobic curved motile rods ที่ติดสีแกรมลบหรือติดสีแกรมไม่แน่นอน (gram variable) ช่วงไม่กี่ปีหลัง ๆ นี้นักวิทยาศาสตร์สนใจเชื้อนี้ว่าจะเป็นตัวที่ทำให้เกิดช่องคลอดอักเสบ (vaginitis) ดังการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ คนคือGardner and Dukes (1955)ได้รายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของอาการช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis) และเชื้อ *G. vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*) และในปี ค.ศ. 1957 เขาก็ได้รายงานว่าพบเชื้อเหมือน *Vibrio* อยู่ในสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบด้วย

Durieux and Dublanchet (1980) เป็นนักวิทยาศาสตร์กลุ่มแรกที่ได้อธิบายถึงคุณสมบัติของเชื้อว่าเป็นบัคเตรีที่เป็นแอนแอโรบส์ มีการเคลื่อนที่

ได้อย่างรวดเร็ว สามารถเพาะเชื้อได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ และทำการทดสอบความไวของเชื้อ comma - shaped rods จำนวน 18 สายพันธุ์ ต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา chloramphenicol, clindamycin, erythromycin, gentamicin, minocycline, penicillin-G, rifampicin ยกเว้นมีเชื้อ 1 สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา rifampicin, spiramycin และ vancomycin และทุก ๆ สายพันธุ์จะดื้อต่อยา nitroimidazole, colistin และ nalidixic acid

Durieux et al. (1980) รายงานว่าพบเชื้อ comma shaped bacteria เมื่อส่องดูสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดผู้ป่วยที่มีอาการตกขาวด้วย phase contrast microscopy พบจำนวน 36 ราย ใน 330 ราย คิดเป็นร้อยละ 11 และพบว่าเมื่อผู้ป่วยซึ่งมี vibrio-associated discharge เมื่อรักษาด้วยยา metronidazole เชื้อจะหายไปและอาการกลับมาเป็นปกติ

Skarin, Holst and Mardh (1983) ศึกษา comma shaped bacteria จากสิ่งคัดหลั่งช่องคลอดของผู้ป่วยที่มีอาการของทางเดินระบบสืบพันธุ์สตรีช่วงล่าง (lower genital tract infection) ด้วยวิธี dark field examination พบเชื้อ 5 ราย ในผู้ป่วยจำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 20 และทำการตรวจในผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 92 ราย พบเชื้อ comma-shaped bacteria จำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 5

Spiegel et al.(1981) พบเชื้อ comma shaped bacteria โดยการย้อมสีเกรมจากสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis = NSV) ร้อยละ 44 และเพาะเชื้อพบเชื้อ comma - shaped bacteria 6 รายจากผู้ป่วย NSV 39 ราย คิดเป็นร้อยละ 14 ในคนปกติพบเชื้อนี้ 1 ราย จากจำนวน 38 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.6

Hjelm (1981) ตรวจสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยด้วยการป้ายมาดูสด ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อที่สามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมาก และมีลักษณะเป็นแท่งโค้ง จำนวน 48 ราย จากผู้ป่วยหญิง non - specific lower genital tract infection จำนวน 162 ราย คิดเป็นร้อยละ 30 และในกลุ่มคนปกติไม่พบเชื้อนี้เลย และที่น่าสนใจคือการพบเชื้อ motile curved rods ควบคู่กับการพบเชื้อ *G. vaginalis* โดย Hjelm พบเชื้อ *G. vaginalis* 131 ราย จากผู้ป่วยจำนวน 162 ราย คิดเป็นร้อยละ 81 และพบเชื้อ *G. vaginalis* 12 ราย จากคนปกติจำนวน 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 44.4 จากผลการศึกษานี้ทำให้เขาพยายามที่จะแยกเชื้อ และวินิจฉัยเชื้อ motile curved rods จากสิ่งส่งตรวจซึ่งเป็นสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้หญิงบริเวณ fornix โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ blood agar plates ที่เสริม (supplement) ด้วย heamine, yeast extract และวิตะมินเค (J-plates) บ่มเชื้อในตู้อบ 37 °ซ สภาวะไร้ออกซิเจนนาน 3-4 วัน Hjelm ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อ พบว่าเชื้อนี้มีโพลาร์แฟลกเจลลาเพียง 1 เส้น เซลล์ปลายกลม นอกจากเชื้อเจริญได้บน J - plate แล้วยังสามารถเจริญได้ใน peptone / yeast extract / glucose broth (PYG) และ chopped meat broth แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตใน thioglycollate broth, ทดสอบ oxidase และ catalase ให้ผลลบ, ไม่สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ เชื้อ motile curved rods สามารถหมักย่อย (ferment) pepptone / yeast extract / glucose broth ได้กรดไขมัน 3 ตัวคือ กรดซัคซินิค , กรดแล็คติค และกรดอะเซติค

Phillips and Taylor (1982) พบเชื้อ anaerobic comma rods จำนวน 8 รายคิดเป็นร้อยละ 11 จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 71 ราย โดยการย้อมสีเกรมสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอด และเพาะเชื้อบน Columbia blood agar บ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมง เมื่อดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน พบว่าเชื้อนี้มี สับโพลาร์แฟลกเจลลา จำนวน 2-8 เส้นอยู่บริเวณส่วนโค้งด้านในของบัคเตรี (concave side) ซึ่ง Hjelm et al.(1982) และ Moore

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(1954) พบริพลาร์แฟลกเจลลาเพียง 1 เส้นเท่านั้น ในการตรวจหาเชื้อ anaerobic vibrio

การศึกษาของนักวิทยาศาสตร์ซึ่งได้รายงานการพบเชื้อ comma-shaped rods จากช่องคลอดของสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบ (NSV) และสตรีที่ปกติ (healthy control) ดังแสดงในตารางที่ 1

Holst, Skarin and Mardh (1982) ศึกษาลักษณะรูปร่างเซลล์ของ comma shaped rods ที่แยกจากช่องคลอดของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ เขาแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

1. long variant มีความยาวประมาณ 4 ไมโครเมตร
2. medium - sized variant มีความยาวประมาณ 3 ไมโครเมตร
3. short variant มีความยาวประมาณ 1 ไมโครเมตร

Holst et al. (1982) พบว่า "Columbia CNA agar" เป็นอาหารแข็งที่ใช้เพาะแยกเชื้อ comma shaped rods ที่ดี และใช้ Columbia agar ที่เติมซีรัมของม้าร้อยละ 2.5 (CHS agar) เป็นอาหารสำหรับการเก็บเชื้อ เขาได้ศึกษาการเจริญเติบโตของ comma shaped rods บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ เช่น Columbia agar, Columbia CNA agar, blood agar, haematin agar เป็นต้น ขนาดของโคโลนีประมาณ 1-2 มม. ลักษณะของโคโลนีจะนูน (convex) เป็นมันเงา (glossy) บน Columbia agar, Columbia CNA agar, gonococcal medium (GAB) และลักษณะของโคโลนีแบน (flat) บน blood agar, haematin agar, horse-sheep (HS) blood agar, Gardnerella medium มีสีขาวเหลือง, โปร่งแสง, สีเทา, สีเทาเหลืองแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2

Piot et al.(1982) พบเชื้อ anaerobic gram negative curved rods จากการเพาะเชื้อ ร้อยละ 11 ของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบและพบ

short chain organic acid เมื่อวิเคราะห์สิ่งคัดหลั่งของช่องคลอดของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบด้วยเครื่อง gas liquid chromatography ได้ succinate peak และ lactate peak และพบว่าเมื่อนำมาเทียบอัตราส่วนของ succinate/lactate peak มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.3 และจากการย้อมสีแกรมในสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยดังกล่าว และไม่พบเชื้อ *lactobacilli* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นในช่องคลอด

ในผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบพบเชื้อ motile curved bacilli และเชื้อแอนแอโรบส์อื่น ๆ ที่พบปริมาณมากขึ้นได้แก่ *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Propionibacterium spp.* และ *Bacteroides spp.* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่เพาะแยกได้จากคนปกติ Thomason ได้ให้ข้อสังเกตว่าผู้ป่วยที่พบเชื้อ motile curved bacteria ในสิ่งคัดหลั่งจะเป็นหลักเกณฑ์ในการวินิจฉัยช่องคลอดอักเสบ (vaginitis)

Spiegel and Roberts (1984)รายงานถึงลักษณะและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ curved rods ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ พบว่ามีรูปร่างสัณฐานเป็นแท่งโค้ง, ย้อมติดสีแกรมไม่แน่นอน ขนาด 1-3 ไมโครเมตร และมีปลายเรียว, สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาหลาย ๆ เส้น ที่อยู่บริเวณเกือบปลายของแท่งโค้ง (subterminal end), เจริญเติบโตในสภาวะไร้อ็อกซิเจน และต้องการซีรัมกระต่ายเพื่อไปกระตุ้นช่วยในการเจริญเติบโตให้ทรดชัคชินค เป็นผลิตผลพลอยได้ที่สำคัญ Spiegel et al. (1984) ได้ตั้งเป็นยีนัส (genus) ใหม่ชื่อว่า *Mobiluncus* (mobilis = capable of movement, uncus = a hook, Mobiluncus = a motile curved rod)

ตารางที่ 1 แสดงข้อสรุปการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์ซึ่งได้รายงานเชื้อ comma shaped rods จากช่องคลอดของสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และสตรีที่ปกติ (healthy control) (Holst et al.1983)

ผู้ศึกษา	จำนวนคนไข้ NSV (%)	จำนวนคนปกติ (%)	วิธีการตรวจ
Durieux et al. (1980)	36/330(11%)	0/0	phase-contrast microscopy และการเพาะเชื้อ
Phillips et al. (1982)	8/71(11%)	0/0	ย้อมสีเกรม และการเพาะเชื้อ
Hjelm (1981)	48/162(30%)	0/27	wet mount preparation และการเพาะเชื้อ
Spiegel et al. (1981)	6/39(14%)	1/38	การเพาะเชื้อ
Spiegel et al. (1981)	11/25(44%)	0/35	ย้อมสีเกรม
Skarin et al. (1983)	10/116(9%)	0/0	dark-field examination
Holst et al. (1982)	21/87(24%)	0/150	wet mount preparationและการเพาะเชื้อ

ตารางที่ 2 ขนาด, สีและลักษณะต่าง ๆ ของโคโลนีของเชื้อ comma-shaped rods ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อวุ้นแข็ง (solid media) ชนิดต่าง ๆ บ่มนาน 72 ชั่วโมงในบรรยากาศไร้ออกซิเจน (Holst et al. 1982)

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ขนาดของโคโลนี (มม.)	ลักษณะของโคโลนี	สีของโคโลนี
Columbia agar	1-2	convex,glossy	white-yellow
Columbia CNA agar	1-2	convex, glossy	white-yellow
blood agar	0.5-1	flat	translucent
haematin agar	0.5-1	flat	greyish
gonococcal medium (GAB)	1-2	convex, glossy	grey-yellow
horse-sheep(HS) blood agar	1-2	flat	translucent
Gardnerella medium (HBT)	1-2	flat	greyish

2. รูปร่างสัณฐานและลักษณะรูปพรรณของเชื้อ *Mobiluncus*

Holst et al. (1984c) แบ่งเชื้อ *Mobiluncus* ตามรูปร่างสัณฐานได้ 2 ลักษณะ ดังนี้

ก. long variant มีความยาวประมาณ2 - 4 ไมโครเมตร มีความโค้งมาก มีปลายเรียว , ติดสีแกรมลบ

ข. short variant มีความยาวประมาณ 1 ไมโครเมตร มีความโค้งเพียงเล็กน้อย มีปลายกลม, ติดสีแกรมไม่แน่นอน

2.1 ลักษณะรูปพรรณของเชื้อ *Mobiluncus*

Spiegel et al. (1984) ศึกษาเกี่ยวกับผนังเซลล์ของ *Mobiluncus* พบเป็นบัคเตรีที่มีผนังเซลล์แบบ multilayered gram-variable cell wall เมื่อย้อมสีแกรมเชื้อซึ่งเพาะได้ใหม่จะย้อมติดสีแกรมบวก ถ้าย้อมจากเชื้อซึ่งเพาะไว้นานจนเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (large cell type) จะติดสีแกรมลบ ผลจากการศึกษาของ Spiegel et al. (1984) พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* เป็นบัคเตรีแกรมบวก เมื่อศึกษาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน พบว่าเชื้อนี้เป็นแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ ด้านการทดสอบความไวต่อยาต่าง ๆ Curtis (1913) พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* ดื้อต่อยา colistin, nalidixic acid และ Hjelm et al. (1982) พบว่าเชื้อไวต่อยา penicillin ส่วน Moore (1954) พบว่าเชื้อไวต่อยา vancomycin เหมือนกับกลุ่มเชื้อแกรมบวกซึ่งเป็นข้อสนับสนุนอีกข้อหนึ่งว่าเชื้อ *Mobiluncus* เป็นเชื้อแกรมบวก

Skarin et al. (1982) ศึกษากรดไขมันของเชื้อ curved rods ด้วยเครื่อง gas liquid chromatography ปรากฏว่าไม่พบกรดไขมันไฮดรอกซีซึ่งเป็นกรดไขมันที่พบในเชื้อแกรมลบชั้นผนังเซลล์ (cell wall)

Skarin et al. (1983) ทำ dark field microscope จากเชื้อ *Mobiluncus* ที่เลี้ยงใน chopped meat broth บ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมงพบว่าเชื้อนี้สามารถเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลา แบบเกลียวสว่าน (cork screw)

Phillips et al. (1982) รายงานการดูจำนวนแฟลกเจลลาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนพบว่าเชื้อ *Mobiluncus* มีแฟลกเจลลาเป็นแบบสับเทอร์มินัล จำนวน 2 - 8 เส้นอยู่บริเวณส่วนโค้งด้านใน (concave side) ของตัวบัคเตรี เขาพบ short curved rods แต่ละเซลล์มีจำนวนแฟลกเจลลามากกว่า 4 เส้น ส่วน long curved rods มีแฟลกเจลลามากกว่า 8 เส้น

2.2 ลักษณะการเจริญเติบโตของ *Mobiluncus*

Holst et al. (1982) ศึกษาเชื้อ *Mobiluncus* พบว่าไม่มีสปอร์ สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 35 °ซ และ 42 °ซ ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 °ซ สามารถเจริญเติบโตได้ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง ที่ระดับ pH 6.0-7.2 กลิ่นของเชื้อนี้คล้ายกับกลิ่นแอมโมเนีย(cat urine) ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Mobiluncus* บน Columbia CNA agar หลังจากบ่มนานประมาณ 72 ชั่วโมงที่ 37 °ซ ในบรรยากาศไร้ออกซิเจน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี 1 - 2 มิลลิเมตร มีลักษณะนูนใสเป็นเงา สีออกขาว ๆ เหลือง ๆ ส่วนลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น ๆ แสดงในตารางที่ 2

Spiegel et al. (1983) พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* ถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตได้ด้วยซีรัมกระต่าย เขารายงานว่าเชื้อนี้ผลิตเฉพาะกรดซัคซินิคเป็นผลิตผลจากการสันดาปหลัก (metabolic product)

Hjelm et al. (1981) และ Fontaine et al. (1982) รายงานว่าเชื้อ *Mobiluncus* ผลิตกรดซัคซินิคและกรดอะเซติค แต่ Durieux et al. (1980) รายงานว่าพบกรดไขมัน 3 ชนิด คือ กรดอะเซติค,

กรดแล็คติค และกรดซัคซินิค

2.3 ส่วนประกอบของ DNA base

Spiegel et al. (1984) พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* ประกอบด้วย guanine และ cytocine (G + C) ในดีเอ็นเอเท่ากับ 49-52 mol% โดยแยกเป็น

short variant มี G + C content 51-52 mol%

long variant มี G + C content 49-50 mol%

2.4 การจัดหมวดหมู่ของเชื้อ *Mobiluncus*

Spiegel et al. (1984) เสนอให้เชื้อ anaerobic curved rods ที่แยกได้จากช่องคลอดของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ จัดอยู่ยีนัส *Mobiluncus* อยู่ในวงศ์ (family) *Bacteroidaceae* มี 2 สปีชีส์ คือ *M.curtisii* และ *M.mulieris* โดยแยก *Mobiluncus* ออกจากสมาชิกต่าง ๆ จากวงศ์ *Actinomycetaceae*, วงศ์ *Bacteroidaceae* และวงศ์ *Propionibacteriaceae* ฯลฯ ซึ่งแสดงข้อแตกต่างที่สำคัญดังต่อไปนี้

2.4.1 สมาชิกในวงศ์ *Propionibacteriaceae* คือ เชื้อ *Propionibacterium spp.* และ *Eubacterium spp.* ให้ทรดไขมันชนิดซัคซินิค, มีโพลาร์แฟลกเจลลา เชื้อ *Propionibacterium spp.* มี G + C content เท่ากับ 59-66 mol%

2.4.2 *Actinomyces spp.* เป็นเชื้อที่ไม่เคลื่อนไหว (non motile) และมี G + C content เท่ากับ 60-63 mol%

2.4.3 *Anaerobiospirillum succiniciproducens* มีความยาว 20 ไมโครเมตร ลักษณะเป็นแบบขดเป็นวง (spiral) มี G + C content เท่ากับ 44 mol%

2.4.4 *Bacteroides spp.* เป็นเชื้อที่ไม่เคลื่อนที่ (non motile) และมีหนวดแบบเปอริไทรชัสแฟลกเจลลา

2.4.5 *Campylobacter spp.* เป็นเชื้อที่ไม่ใช้น้ำตาล (asaccharolytic bacteria) ให้ผลบวกกับ oxidase test, มีหนวดแบบโพลาร์แฟลกเจลลา 1 เส้น มี G + C content เท่ากับ 30-35 mol%

2.4.6 *Succinimonas amylolytica* ไม่มีลักษณะเป็นแท่งโค้ง และมีหนวดแบบโพลาร์แฟลกเจลลา 1 เส้น

2.4.7 *Succinivibrio dextrinosolvens* มีหนวดแบบโพลาร์แฟลกเจลลา 1 เส้น

2.4.8 *Wolinella spp.* เป็นเชื้อที่ไม่ใช้น้ำตาล (asaccharolytic bacteria) เจริญได้ดีเมื่อเติม formate-fumarate, มีหนวดแบบโพลาร์แฟลกเจลลา 1 เส้น และมี G + C content เท่ากับ 42-49 mol%

สำหรับ *Succinimonas amylolytica* และ *Succinivibrio dextrinosolvens* ยังไม่มีการศึกษาด้าน G + C content

Spiegel et al. (1984) ศึกษาด้าน DNA homology ของเชื้อ *Mobiluncus* โดยทำ probe ของเชื้อ *Mobiluncus* แล้วนำ probe นี้ไปศึกษาเชื้ออื่น ๆ ด้วยวิธี DNA-DNA hybridization เชื้อที่ศึกษาได้แก่ *Actinomyces bovis, Actinomyces odontolyticus, Anaerovibrio lipolytica, Anaerobiospirillum succiniciproducens, Campylobacter fetus subsp. venerealis, Campylobacter concicus* และ *Selenomonas sputigena* มีดีเอ็นเอโฮโมโลยีน้อยกว่าร้อยละ 1 ซึ่งแสดงว่า *Mobiluncus* มีกรรมพันธุ์ที่แตกต่างจากเชื้อดังกล่าวอย่างแน่นอน Spiegel et al. (1984) ได้เสนอจัดยีนัส *Mobiluncus* ให้อยู่ในวงศ์ *Bacteroidaceae* ที่มีลักษณะเป็นแท่งโค้ง, เป็นเชื้อแอนแอโรบส์, ติดสีแกรมลบหรือไม่แน่นอน (variable), ให้กรดไขมันชนิดซัคซินิค และมีระดับของดีเอ็นเอโฮโมโลยีมากกว่าร้อยละ 75.0

Sutter et al. (1985) ได้จัดหมวดหมู่ของเชื้อ *Mobiluncus* ให้อยู่ในกลุ่มเชื้อแอนแอโรบส์ เป็นแท่งติดสีเกรมลบ เป็นแท่งโค้ง มีแฟลกเจลลาอยู่เป็นก้อนขด (tufts) อยู่บริเวณส่วนโค้งด้านใน (concave side) ไม่ย่อยสลายน้ำตาล (non-fermentative)

การศึกษาของ Spiegel et al. (1984) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Mobiluncus* ซึ่งเป็น asaccharolytic bacteria ใน peptone yeast broth ที่เติมซีรัมกระต่ายความเข้มข้นร้อยละ 2 เชื้อสามารถลดความเป็นกรด-ด่างของ broth ได้ เชื้อจะเปลี่ยนเป็น saccharolytic bacteria โดยบางสายพันธุ์จะให้สภาวะกรดอ่อนๆ (pH 5.5-6.5) และบางสายพันธุ์ให้สภาวะกรดแก่ (pH < 5.5)

ตารางที่ 3 Differentiation of Genera of Anaerobes

Gram-negative bacilli

I. Nonmotile or peritrichous flagella

A. Produce butyric acid (without isobutyric and isovaleric acid) — *Fusobacterium*

B. Produce major lactic acid — *Leptotrichia*

C. Produce acetic acid and H_2S reduce sulfate — *Desulfomonas*

D. Not as above (A, B, C)

II. Polar flagella

A. Fermentative

1. Produce butyric acid — *Butyrivibrio*

2. Produce succinic acid

a. Spiral-shaped cells — *Succinivibrio*

b. Ovoid cells — *Succinimonas*

3. Produce propionic and acetic acid — *Anaerovibrio*

B. Nonfermentative, produce succinic acid from fumarate — *Wolinella*

III. Tufts of flagella and concave side of curved cells

A. Fermantative — *Selenomonas*

B. Nonfermentative — *Mobiluncus*

IV. Bipolar tufts of flagella — *Anaerobiospirillum*

ที่มา : Sutter et al.(1985)

015300

3. การศึกษาการทำให้เกิดโรค (pathogenicity) ของเชื้อ *Mobiluncus*

Mardh and Westrom (1976) ทำการทดลองเชื้อ *Mobiluncus* ในหลอดทดลอง (in vitro) เพื่อดูสภาวะในช่องคลอดว่าระดับ pH ใดที่เชื้อจะไปเกาะติดกันกับ vaginal epithelial cells (VEC) ซึ่งเป็นพยาธิสภาพในช่องคลอด เขาพบว่าเชื้อ long curved rod strain 368 และ short curved rod strain 411 เกาะติดกับ vaginal epithelial cells (VEC) ได้มากที่สุดในระดับ pH ที่เป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.5) เชื้อดังกล่าวจะเกาะติดกับ vaginal epithelial cells (VEC) มากรองลงมาในสภาวะระดับ pH ที่เป็นกรดอ่อน (pH 5.5) และเชื้อทั้งสองจะเกาะติดน้อยที่สุดในระดับ pH ที่เป็นกรดมาก(pH 4.0) นำผลการทดลองนี้มา เปรียบเทียบระดับความเป็นกรดด่างของช่องคลอดของสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) มีระดับ pH ที่มากกว่าหรือเท่ากับ pH 4.5 ซึ่งเป็นภาวะที่ก่อพยาธิสภาพได้ดี หรืออาจอธิบายได้ว่าการเกิดการอักเสบในช่องคลอด เนื่องจากสภาวะในช่องคลอดผิดปกติ ทำให้มีการลดจำนวนของเชื้อ *Lactobacilli* ทำให้ระดับ pH เพิ่มขึ้นกว่าปกติ (สภาวะระดับ pH ของช่องคลอดคนปกติน้อยกว่า pH 4.5) เป็นสภาวะที่เชื้อแอนแอโรบส์เพิ่มจำนวนมากขึ้น

Mardh, Holst and Moller (1984) ได้ทดลองในลิงกริวิช (grivet monkey) โดยใส่เชื้อ anaerobic long curved rods และ *G. vaginalis* ในช่องคลอดของสัตว์ทดลอง (in vivo) พบว่าทำให้เกิดอาการช่องคลอดอักเสบในลิงได้อย่างชัดเจน โดยมีสิ่งคัดหลั่งมากในช่องคลอด มีลักษณะของสิ่งคัดหลั่งเป็นสีเทาโปร่งแสง (invariably thin, grey translucent) และพบเชื้อ long curved rods และ *G.vaginalis* ได้โดยการย้อมสีแกรมและการเพาะเชื้อจากสิ่งคัดหลั่ง แต่ไม่มี inflammation ในช่องคลอดของลิงกริวิชดังกล่าว

เชื้อ long curved rods หรือ short curved rods เพียงเชื้อเดียวในช่องคลอดลิงกริวิช ก็สามารถทำให้เกิดลักษณะอาการของช่องคลอดอักเสบได้เช่นเดียวกัน

4. สารเคมี และซีรัม สำหรับกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus*

Spiegel et al. (1983) ใช้ซีรัมกระต่ายเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus* ใน peptone yeast extract (PY)broth เขาพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ anaerobic curved rods ซึ่งเป็นบัคเตรีชนิดที่ไม่ใช้น้ำตาล (asaccharolytic bacteria) เชื้อสามารถลดระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ จากการศึกษาของเขา ปี คศ.1984 ยังพบว่าเชื้อ curved rods สามารถเจริญเติบโตใน PY broth ที่เติมกลัยโคเจนหรือ มอลโตส ซึ่งน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้พบได้ในช่องคลอดของผู้หญิงปกติ เชื้อที่เลี้ยงใน PY broth ที่เสริม (supplement) ด้วยซีรัมกระต่ายและกลัยโคเจนจะให้กรดอะเซติค และกรดซัคซินิคได้มากกว่าเชื้อที่เลี้ยงใน PY broth ที่เสริม (supplement) ด้วยซีรัมกระต่าย และกลูโคส และการเลี้ยงเชื้อ anaerobic curved rods ใน PY broth ที่เสริม (supplement) ด้วยซีรัมกระต่ายและกลูโคส จะให้กรดทั้งสองมากกว่าเชื้อที่เลี้ยงใน PY broth supplement ด้วยซีรัมกระต่ายเพียงอย่างเดียว เขาพบว่าไม่มีเชื้อ *Mobiluncus* สายพันธุ์ใดที่ถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตได้ด้วย formate-fumarate เลย แต่ Holst et al. (1983) ได้เติม formate-fumarate ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว สำหรับเป็นแหล่งพลังงานโดย formate ทำหน้าที่เป็น electron donor และ fumarate เป็น electron acceptor (Friberg 1978) Holst สังเกตุเห็นความขุ่นจากการเจริญเติบโตของเชื้อ anaerobic curved rod ในอาหารเลี้ยงเชื้อข้างต้นหลังจากบ่มเชื้อนาน 24-48 ชั่วโมง จนถึงเวลานาน 72 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาที่มีภาวะการเจริญเติบโตที่เหมาะสม

มีคณะนักวิทยาศาสตร์ที่ทดลองพบว่าสาร formate-fumarate ไม่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus* นอกจากการทดลองของ Spiegel et al. (1984) ยังมี Sprott et al.(1983) โดยคณะหลังเสนอเพิ่มเติมว่าสารเฮมิน และวิตะมินเค ไม่ได้ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อนี้เช่นกัน

5. ผลของยาปฏิชีวนะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus*

5.1 ผลของการใส่ยาปฏิชีวนะในอาหารเพาะแยกเชื้อ *Mobiluncus*

Durieux et al. (1980) พบว่าเชื้อ curved rods ดื้อ (resistance) ต่อยา nitroimidazole, colistin และ nalidixic acid เขาพบว่า Columbia CNA agar เป็นอาหารเพาะเชื้อที่จำเพาะ (selective media) ที่ดีในการเพาะแยกเชื้อ curved rod จากสิ่งส่งตรวจ เพราะเติมยา colistin 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรและ nalidixic acid 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อเพิ่มเติม nalidixic acid (Wintomylon) 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ ซีรัมม้าความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ทำให้การเพาะเชื้อ *Mobiluncus* เหมาะสมยิ่งขึ้น

Holst et al. (1984a) เสนอ Columbia agar ที่เติมยาปฏิชีวนะ 3 ชนิดได้แก่ tinidazole 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, colistin 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ nalidixic acid 15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเชื้อ curved rods ได้ผลดี โดยยาปฏิชีวนะเหล่านี้ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของ *G. vaginalis*, anaerobic cocci และ *Bacteroides species*

5.2 ความไวของ *Mobiluncus* ต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ

Sprott et al.(1984) รายงานค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ curved rods ค่า MIC ของยา Metronidazole ต่อ short curved rods และ long curved rods มีค่าระหว่าง 16->1000 มิลลิกรัม/ลิตร และ 0.5-4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วน MIC ของยา tetracycline ต่อshort curved rods และ long มีค่าระหว่าง 0.125-8.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ 0.062-0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

Durieux et al. (1980) ทำการทดสอบความไวของเชื้อ comma-shaped rods จำนวน 18 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา chloramphenicol, clindamycin, erythromycin, gentamicin, minocycline, penicillin G, rifampicin (ยกเว้นเชื้อ 1 สายพันธุ์ ที่ดื้อต่อยา rifampicin) spiramycin และ vancomycin และทุก ๆ สายพันธุ์ดื้อต่อยา nitroimidazole, colistin และ nalidixic acid

Vetere et al. (1987) ได้แยกชนิดของยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ที่เชื้อ *Mobiluncus* มีความไว (susceptible) และความดื้อ (resistant) ด้วย โดยแสดงปริมาณของยาต่อแผ่นยา แสดงในตารางที่ 4

แพทย์ใช้ยา Metronidazole รักษาผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) มีผู้ทำการทดสอบหาค่า MIC วิธี plate dilution (Fox and Phillips, 1982) โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมใน DST agar ปริมาตร 18 มิลลิลิตร ที่มี lysed horse blood ความเข้มข้นร้อยละ 5 ลงเชื้อในแต่ละ plate บ่มเชื้อในตู้อบ 37 °ซ ในสภาวะไร้ออกซิเจนนาน 48 ชั่วโมง พบว่า MIC ของ short curved rods และlong curved rods ต่อยา Metronidazole มีค่าเท่ากับ 128 มิลลิกรัม/ลิตร และ 8 มิลลิกรัม/ลิตร ตาม

ลำดับ

Glupczynski et al. (1984) ได้ทำการตรวจสอบความไวของยาปฏิชีวนะหลาย ๆ ชนิดต่อเชื้อ *Mobiluncus* โดยวิธี disc-diffusion โดยเชื้อดังกล่าวแยกได้จากตำแหน่งการติดเชื้ออวัยวะอื่นซึ่งไม่ใช่ระบบอวัยวะสืบพันธุ์ (extragenital infection) พบว่าเชื้อจะไว (sensitive) ต่อยา penicillin, erythromycin, clindamycin, tetracycline, chloramphenicol, gentamicin และ vancomycin แต่จะดื้อ (resistance) ต่อยา colistin, nalidixic acid, cotrimoxazole และ metronidazole

ตารางที่ 4 Antimicrobial susceptibility ของเชื้อ*Mobiluncus spp.* การแยกชนิดของยาปฏิชีวนะที่เชื้อ *Mobiluncus* มีความไว (sensitive) และมีความดื้อ (resistant) โดยแสดงปริมาณยาต่อแผ่นยา

ชนิดของยาปฏิชีวนะที่เชื้อ *Mobiluncus* มีความไว (sensitive) ต่อ ได้แก่

Bacitracin	10 I.U.		Streptomycin	5	ไมโครกรัม
Cefoxitin	30 ไมโครกรัม		Teicoplanin	30	ไมโครกรัม
Clindamycin	2 ไมโครกรัม		Tetracycline	30	ไมโครกรัม
Ciprofloxacin	5 ไมโครกรัม		Vancomycin	5	ไมโครกรัม
Erythromycin	5 ไมโครกรัม		Nitrofurantoin	100	ไมโครกรัม
Gentamicin	10 ไมโครกรัม		Thallous acetate	500	ไมโครกรัม
Kanamycin	30 ไมโครกรัม		Sodium taurocholate	2.5	ไมโครกรัม
Minocycline	10 ไมโครกรัม		Sodium deoxycholate	0.5	ไมโครกรัม
Penicillin	1.5 ไมโครกรัม		Irgasan	100	ไมโครกรัม/มล.*

ชนิดของยาปฏิชีวนะที่เชื้อ *Mobiluncus* มีความดื้อ (resistance) ต่อ ได้แก่

Aztreonam	50 ไมโครกรัม		Fusidic acid	10	ไมโครกรัม
Colistin sulphate	10 ไมโครกรัม		Neomicin	10	ไมโครกรัม
Nalidixic acid	10 ไมโครกรัม		Brilliant green	0.001	ไมโครกรัม
Polymixin B	300 ไมโครกรัม		Methyl violet	0.001	ไมโครกรัม
Sulphafurazole	100 ไมโครกรัม		Victoria blue	0.001	ไมโครกรัม
Sulphamethoxazole	2.5 ไมโครกรัม				
Trimethoprim	1100 ไมโครกรัม				

*ค่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง

ที่มา : Vetere et al. (1987)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.3 ผลของยาปฏิชีวนะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *G. vaginalis*

Ralph and Amatnieks (1980) ได้แยกทำ MIC ของเมตาบอไลท์ของยา metronidazole 2 ชนิดได้แก่ ไฮดรอกซี่ เมตาบอไลท์ (hydroxy metabolite) และแอซิด เมตาบอไลท์ (acid metabolite) ต่อเชื้อ *G. vaginalis* ดังนี้

ก. ไฮดรอกซี่ เมตาบอไลท์ของยา metronidazole เป็นยาที่มีผลดีมากต่อเชื้อ *G. vaginalis* ให้ค่า MIC เท่ากับ 2 ไมโครกรัม/มล. (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.5-4 ไมโครกรัม/มล.)

ข. แอซิด เมตาบอไลท์ของยา metronidazole ให้ค่า MIC ของ *G. vaginalis* เท่ากับ 64 ไมโครกรัม/มล.

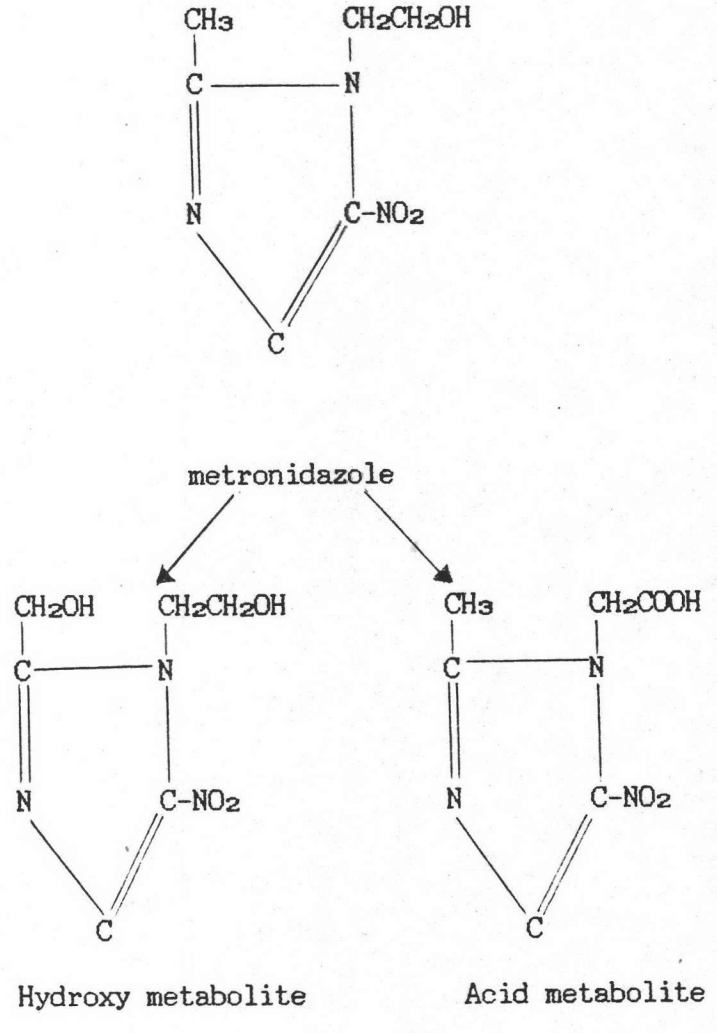
รูปแสดงโครงสร้างของยา metronidazole และ metabolite ทั้งสอง ดังรูปที่ 1

วิธีการหาค่า MIC ของยาปฏิชีวนะต่อ *G. vaginalis* นอกจากใช้วิธี agar dilution ยังสามารถตรวจโดยวิธี broth dilution โดย Ralph et al. (1979) ใช้ peptone-starch-dextrose broth (PSD) ใช้ inoculum เท่ากับ 10^6 cfu/มล. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน แสดงผลในตารางที่ 5 จะพบว่าไฮดรอกซี่เมตาบอไลท์ (hydroxy metabolite) ของยา metronidazole จะให้ผลมีความไว (active) มากที่สุด (MIC เท่ากับ 2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ถัดมาคือยา metronidazole (MIC เท่ากับ 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ส่วนแอซิด เมตาบอไลท์ (acid metabolite) ของยา metronidazole จะมีความไวน้อยที่สุด (MIC เท่ากับ 64 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

<u>รูปที่ 1</u> <u>โครงสร้างของยา metronidazole</u> (1-[2-hydroxyethyl]-2-methyl-5-nitroimidazole) และ major metabolites 2 ชนิด ได้แก่

hydroxy metabolite:(1-[2-hydroxy-ethyl]-2-hydroxymethyl-5-nitroimidazole)

acid metabolite:1-acetic acid-2-methyl-5-nitroimidazole



ที่มา : Ralph and Amatnieks(1980)

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุด (Minimal inhibitory concentration) ของยา metronidazole และกลุ่มเมตาบอไลท์ ได้แก่ ยาไฮดรอกซี่ และแอซิดเมตาบอไลท์ต่อเชื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อ *Gardnerella vaginalis* หลังจากบ่มเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจนนาน 48 ชั่วโมง ใช้ปริมาณเชื้อที่ทำ MIC = 10^6 cfu/มล. (Ralph et al. 1979)

เชื้อ	MIC(ไมโครกรัม/มล.)		
	Metronidazole	Hydroxy Metabolite	Acid Metabolite
1	16	2	64
2	8	2	64
3	4	0.5	64
4	4	1	128
5	4	2	64
6	32	4	128
7	8	1	128
8	16	2	64
9	16	2.	64
10*	4	2	32

*Reference strain ATCC 14018 จาก American Type Culture Collection, Rockville, Md.

6. ตำแหน่งการพบเชื้อ *Mobiluncus*

Holst et al. (1984a) เปรียบเทียบตำแหน่งการพบเชื้อ short curved rods และ long curved rods ที่เพาะเชื้อได้จากตำแหน่ง posterior fornix และ cervix ของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบจำนวน 90 ราย ตรวจโดยป้ายจากสิ่งคัดหลั่งของช่องคลอดโดยตรง ย้อมและป้ายจากโคโลนีของเชื้อ *Mobiluncus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วย้อมด้วยสี methylene blue พบเชื้อลักษณะ curved rods จำนวน 24 ราย โดยพบเชื้อจากทั้งตำแหน่ง posterior fornix และ cervix จำนวน 19 ราย ส่วนอีก 5 ราย ได้เฉพาะจากตำแหน่ง posterior fornix ของช่องคลอด ปริมาณของเชื้อใน posterior fornix พบมากกว่าปริมาณเชื้อใน cervix และไม่พบเชื้อ curved rod จากตำแหน่ง cervix เพียงตำแหน่งเดียวเลย ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6

Fontaine et al. (1982) พบเชื้อ anaerobic curved rods ในurethra ของผู้ป่วยชายจำนวน 65 ราย ที่เป็นโรค non-gonococcal urethritis พบว่าเชื้อมีลักษณะโค้งเล็กน้อยและสามารถเคลื่อนที่ได้ มีโพลาร์แฟลกเจลลา (polar flagella) จำนวน 1 เส้น เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน เชื้อเจริญเติบโตใน pre - reduced enriched trypton soya agar จะให้โคโลนีสีน้ำตาล สามารถเปลี่ยน nitrate เป็น nitrite ได้ แต่ให้ผลลบในการทดสอบ urease, catalase, gelatin liquefaction, milk และ meat digestion และ chromatographic pattern ให้กรดไขมันชนิดซัคซินิคเป็นส่วนใหญ่ และกรดอะเซติคเพียงเล็กน้อย

นอกจากตำแหน่งต่าง ๆ เช่นvagina,cervixและurethra ดังที่กล่าวมาซึ่งสามารถแยกเชื้อ *Mobiluncus* ได้แล้ว Glupczynski et al. (1984) ได้รายงานพบเชื้อ *Mobiluncus* ในบริเวณอื่น ๆ อีก เช่น พบเชื้อที่ก้อนเนื้อบริเวณหน้าอกของผู้ป่วย benign cystadenoma อายุ 29 ปีและเพาะเชื้อพบจากสิ่งคัดหลั่งจากสะดือและก้อน carcinoma บริเวณหน้าอกของผู้ป่วยหญิงอายุ 41 ปี เป็นต้น

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณของ anaerobic curved rods,short(SCR) และlong (LCR) variants ใน vaginal และ cervical sample ของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบจำนวน 90 ราย ตรวจโดยวิธี direct smear และจากเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยย้อมด้วย methylene blue

ตำแหน่งที่พบเชื้อและวิธีการตรวจ	SCR(n = 2)				LCR(n = 23)			
	1+[a]	2+	3+	4+	1+	2+	3+	4+
Vagina								
microscopy			1		3	8	6	6
culture		1	1		5	4	10	4
Cervix								
microscopy	1				8	11		
culture	1				10	9		

[a] 1+ = 1-10 cells/2 high-power fields(x1000)

2+ = 11-40 cells/2 high-power fields(x1000)

3+ = 41-70 cells/2 high-power fields(x1000)

4+ = >70 cells/2 high-power fields(x1000)

ที่มา : Holst et al.(1984a)

7. *Gardnerella vaginalis* (เดิมชื่อ *Haemophilus vaginalis* หรือ *Corynebacterium vaginale*)

7.1 รูปร่างสัณฐานและการจัดกลุ่มของเชื้อ *G. vaginalis*

Leopold et al. (1953) เป็นผู้รายงานว่าพบเชื้อที่มีขนาดเล็ก, ไม่มีแคปซูล, รูปร่างแบบ pleomorphic, ติดสีแกรมลบ โดยแยกได้จากบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ของมนุษย์ทั้งหญิงและชาย Gardner and Dukes (1955) แยกเชื้อดังกล่าวได้จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (vaginitis) และสามีของผู้ป่วย Gardner ตั้งชื่อเชื้อนี้ว่า *Haemophilus vaginalis* และมีนักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่านศึกษาคุณสมบัติของเชื้อนี้โดยอาศัย คุณสมบัติการติดสีแกรมและคุณสมบัติทางชีวเคมีซึ่งได้รวบรวมไว้แสดงในตารางที่ 7 ดังนี้

Brewer et al. (1957) พบว่าเชื้อ *H. vaginalis* มีขนาดเล็ก รูปร่างไม่แน่นอน ติดสีแกรมลบ บางครั้งก็ติดสีแกรมไม่แน่นอน (gram variable) บางครั้งก็ติดสีแกรมบวก ซึ่งคล้ายกับเชื้อdiphtheroids มาก ต่อมา Zinnemann and Turner (1963) ศึกษาพบว่า *H. vaginalis* บางสายพันธุ์เป็นบัคเตรีที่ไม่ต้องการเลือดในการเจริญ, เชื้อติดสีแกรมบวก, มีโพลาร์แกรนูล รูปร่างแบบกระบอง (club) สรุปได้ว่าเชื้อนี้เป็น *Corynebacterium* และตั้งชื่อใหม่ว่า *Corynebacterium vaginale* (*C. vaginale*) และในปี ค.ศ. 1969 Dunkelberg and Mc Veigh ได้พบว่าเชื้อนี้ไม่ต้องการฮีมิน (X แฟ็คเตอร์) และ nicothinamide adenine dinucleotide (V แฟ็คเตอร์) หรือ definable coenzyme-like substance อื่น ๆ สำหรับการเจริญเติบโต

Greenwood and Pickett (1980) ได้เสนอไม่เห็นด้วยกับชื่อ *Corynebacterium vaginale* โดยตั้งเป็น *Gardnerella vaginalis* แทนเพื่อเป็นเกียรติแก่ Gardner และชื่อนี้ถูกใช้ตลอดในวิทยานิพนธ์นี้

7.2 การติดเชื้อ *G. vaginalis* มีอาการดังนี้

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบบ non - specific genital infection มีอาการคันและแสบร้อนบริเวณช่องคลอด สิ่งคัดหลั่งมีสีเทาขาว อาจมีฟองหรือเหลวคล้ายกับน้ำ, กลิ่นเหม็น, สิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยมีสภาวะความเป็นกรด-ด่าง ช่วงระหว่าง pH 5.0-5.5 (Gardner and Duke, 1957) Gardner (1955) พบเม็ดเลือดขาวในสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) แต่ไม่เด่นชัด ซึ่ง Burmeister (1970) ยืนยันว่าพบ polymorphonuclear cells จำนวนมากในผู้ป่วยกลุ่มนี้ และยังพบว่าเมื่อตรวจดูสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบที่มีสาเหตุจาก *G. vaginale* ด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้นมีลักษณะที่ชัดเจน โดยพบว่ามี pus cells, epithelial cells ที่มีเชื้อมาเกาะ เรียกว่า "clue cell" และไม่พบเชื้อ *Lactobacilli* เลย

7.3 วิธีการเพาะเชื้อ *G. vaginalis*

Leopold (1953) ใช้ Casman's blood agar แยกเชื้อ *G. vaginalis* ได้เป็นครั้งแรก ส่วนผสมประกอบด้วย proteose peptone, tryptose beef extract agar, เม็ดเลือดแดงของคนร้อยละ 5, แป้งข้าวโพด, นิโคตินามาย, พาราอะมิโนเบนโซอิค แอซิด และกลูโคส บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ ในภาวะ คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 10 ลักษณะโคโลนีจะมีขนาดเล็กซึ่งล้อมรอบด้วยโซนซึ่งเกิดจากการสลายตัวของเม็ดเลือดแดงของคน และพบว่าเชื้อนี้ไม่สลายเม็ดเลือดแดงของแกะ (Bret and Cohen-Debrary 1959, Ritzerfeld and Kammel 1960) หลายปีต่อมา Dunkelberg and McVeigh (1969) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาซึ่งประกอบด้วยเคซีนไฮโดรไลเซท, คาร์โบไฮเดรต, วิตะมิน, นิวคลีอิค แอซิด, เกลือ และโลหะเพียงเล็กน้อย เชื้อ *G. vaginalis* ก็สามารถเจริญเติบโตได้ดีซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐานของ WHO

Totten et al. (1982) ได้เสนอ Human Blood Bilayer Tween Medium (HBT medium) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะ (selective medium) สำหรับ *G.vaginalis*

7.4 อุบัติการณ์ของเชื้อ *G. vaginalis*

อุบัติการณ์ของเชื้อ *G. vaginalis* ในผู้ป่วยติดเชื้อแบบ non - specific genital infection (NSGI) ดังแสดงในตารางที่ 8

Gardner et al. (1957) พบเชื้อ *G.vaginalis* ร้อยละ 46.5 ในผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 1,211 ราย, Dunkelberg et al. (1962) แยกเชื้อได้ร้อยละ 34 จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 249 ราย ส่วน Arkerlund and Mardh (1974) แยกเชื้อได้ร้อยละ 31.4 จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ 70 ราย Hjelm et al. (1982) พบ *G. vaginalis* ร้อยละ 81 จากผู้ป่วย non-specific vaginitis 162 ราย และพบร้อยละ 12 ในคนปกติ 162 ราย

ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์ และคณะ (ยังไม่ได้ตีพิมพ์) เพาะเชื้อ *G. vaginalis* ในกลุ่มผู้ป่วย symptomatic ได้ร้อยละ 33.6 จากจำนวนผู้ป่วย 607 ราย ส่วนกลุ่มผู้ป่วย asymptomatic ได้ร้อยละ 36.2 จากจำนวนผู้ป่วย 196 ราย

อุบัติการณ์ของเชื้อ *G. vaginalis* ที่แยกได้จากตำแหน่งอวัยวะสืบพันธุ์ โดยวิธีการต่าง ๆ ของนักวิทยาศาสตร์แต่ละกลุ่มในตารางที่ 7 จะพบอยู่ในเกณฑ์เฉลี่ย 10-20%

7.5 บทบาทของ *G. vaginalis*

สมมุติฐานที่ว่าเชื้อ *G. vaginalis* เป็นตัวก่อโรค (pathogen) และเป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของท่อปัสสาวะอักเสบ (non-specific urethritis) ในผู้ชายและเป็นสาเหตุของช่องคลอดอักเสบ (non-specific

vaginitis) ในผู้หญิง จากการศึกษาของ Lewis et al. (1972) พบว่าเชื้อ *G. vaginalis* ในผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบและคนปกติ ไม่มีความแตกต่างกัน Lewis ได้เสนอว่า เชื้อ *G. vaginalis* เป็นเชื้อประจำถิ่น (flora) และ Dunkelberg (1962) พบเชื้อ *G. vaginalis* ได้ในช่องคลอดของคนปกติ และ Gardner and Dukes (1957) ยังไม่สามารถหาความสัมพันธ์ของเชื้อ *G. vaginalis* และการเกิดช่องคลอดอักเสบได้เลย

ส่วนการศึกษาของ Zinneman and Turner (1963) และ Gardner and Dukes (1955) ได้รายงานสนับสนุนเพิ่มเติมว่าไม่มี phagocytes หรือ pus cells ในสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ ซึ่งค้านกับรายงานของ Burmeiter (1970) ที่พบ pus cell มากในคนไข้กลุ่มนี้

เชื้อ *G. vaginalis* เป็นเชื้อที่พบในสตรีที่มีอาการตกขาว และพบเชื้อนี้ได้ในผู้ป่วย trichomonas vaginitis ด้วย และเชื้อ *G. vaginalis* มีความสัมพันธ์กับเชื้อบัคเตรีแอนแอโรบส์ในการติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ของผู้หญิง (Spiegel et al. 1980, Piot Van Dijck, Godts $ Vanderheijden 1982)

Ison et al. (1982) ได้ทำการทดลองโดยนำเชื้อ anaerobic curved rod และ *G. vaginalis* ไปเกาะติดกับ human red blood cell ในหลอดทดลอง (in vitro) พบว่า *G. vaginalis* จะให้ผลซึ่งไม่สนับสนุนการก่อให้เกิดช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis) เลย

ตารางที่ 7 คุณสมบัติของเชื้อ *G. vaginalis* รวบรวมโดย Lapage (1961)

Character-ristic	Leopold (1953)	Gardner&Dukes (1957)	Wurch&Lutz (1955)	Amies&Jones (1957)
Gram stain	-ve	-ve	-ve or variable	-ve
Pleomorphism	some	some	some	marked
Colony size	small	small	small	larger
Lysis	beta	vary	beta	-
Oxidase	-ve	-ve	NS	-
Nitrate	-ve	NS	-ve	+ve
O_2 need	Microaero-philic	Microaero-philic	NS	Aerobic
Glucose	acid	acid	acid	acid
Lactose	-ve	-ve	-ve	-ve
Penicillin	NS	R	S	S or R
Streptomycin	NS	R	S or R	S
Chloramphenicol	NS	R(s)	S	S
Tetracyclines	NS	S	S	S
Bacitracin	NS	S	S	NS

NS = not stated in report

ตารางที่ 8 อุบัติการณ์ของเชื้อ *Gardnerella vaginalis*

ชื่อ	Percentage *G. vaginalis* isolation	
	Asymptomatic individuals (%)	Vaginitis individuals (%)
Gardner, Dampeer, Dukes (1957)	NS*	29.1
Gardner et al. (1957)	12.2	46.5
Dunkeberg et al. (1962)	10.7	34.0
Lewis et al. (1972)	9.5	47.0
Josey et al. (1967)	13.0	57.0
Pheifer et al. (1978)	5.6	94.4

NS* = not stated in the report