

การติดเชื้อ CHLAMYDIA TRACHOMATIS ที่ปากมดลูกในสตรีตั้งครรภ์



นางสาว สุวรรณา บุญรำลึกถนอม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2529

ISBN 974-566-564-9

013514

16496553

CHLAMYDIA TRACHOMATIS INFECTION OF THE CERVIX

IN THE PREGNANT WOMEN



Miss Suwanna Boonrumlucktanom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Inter-Department of Medical Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1986

ISBN 974-566-564-9

Thesis Title Chlamydia trachomatis Infection of the Cervix in
the Pregnant Women.
By Miss Suwanna Boonrumlucktanom
Inter-Department Medical Microbiology
Thesis Advisor Associate Professor Pongpun Nunthapisud, M.Sc.
Thesis Co-Advisor Assistant Professor Sompop Limpongsanurak, M.D.



Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for Master's Degree.

S. Phio. IL
.....

(Associate Professor Sorachai Bhisalbutra, Ph.D.)

Acting Associate Dean for Academic Affairs

for

Acting Dean of the Graduate School

Thesis Committee

Kriengsag Saitanu
..... Chairman

(Dr. Kriengsag Saitanu, D.V.M., Ph.D.)

Pongpun Nunthapisud
..... Member

(Associate Professor Pongpun Nunthapisud, M.Sc.)

Sompop Limpongsanurak
..... Member

(Assistant Professor Sompop Limpongsanurak, M.D.)

Krit Kuvanont
..... Member

(Major Krit Kuvanont, M.Sc.)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การติดเชื้อ <u>Chlamydia trachomatis</u> ที่ปากมดลูกในสตรีตั้งครรภ์
ชื่อผู้ผลิต	นางสาว สุวรรณมา บุญจำลิกถนอม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. มิ่งพรรณ นันทากิจสุทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ. นพ. สมภพ อิมพองสาบุรุษย์
สหสาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางการแพทย์
ปีการศึกษา	2528



บทคัดย่อ

Chlamydia trachomatis เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ทั้งในผู้ชายและสตรี ทารกที่คลอดจากมารดาที่มีการติดเชื้อ C. trachomatis มีโอกาสที่จะรับเชื้อขณะคลอดทำให้เกิดโรคเยื่อตาอักเสบและปอดบวม สตรีที่ติดเชื้ออาจไม่แสดงอาการอะไรเลย ดังนั้นจึงทำการศึกษากการติดเชื้อ C. trachomatis ที่ปากมดลูกในสตรีตั้งครรภ์

กลุ่มศึกษา เป็นสตรีที่มาฝากครรภ์ตามปกติที่ห้องฝากครรภ์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงแรก (12-16 สัปดาห์) ของการตั้งครรภ์จำนวน 200 ราย และเก็บสิ่งตรวจอีกครั้งในช่วงที่สาม (36-40 สัปดาห์) ของการตั้งครรภ์จากสตรีในกลุ่มเดียวกันได้จำนวน 140 ราย สิ่งตรวจที่เก็บได้นี้ นำไปเพาะแยกเชื้อโดยวิธีเพาะใน McCoy cells ที่มี cycloheximide พบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อ C. trachomatis จากกลุ่มที่ศึกษาในช่วงแรกและหรือช่วงที่สามของการตั้งครรภ์จำนวน 21/140 (15.0%) การพบเชื้อ Chlamydia ในช่วงแรกและช่วงที่สามของการตั้งครรภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$, χ^2 test)

อาการต่างๆ ของโรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ เช่น ตกขาว, คันที่ช่องคลอด, มีสีขาวขุ่น และ มีสีขาวขุ่นไม่สัมพันธ์กับการพบเชื้อ C. trachomatis ($p > 0.05$, χ^2 test) ยกเว้น การมีเลือดออกที่ช่องคลอด ($p < 0.05$, χ^2 test) นอกจากนี้ยังพบว่า การติดเชื้อจะพบมากในสตรีที่มีอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 24 ปี ส่วนจำนวนครั้งของการตั้งครรภ์, ระดับการศึกษา, รวมทั้งประวัติการเคย เป็นโรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ ไม่สัมพันธ์กับการพบเชื้อ C. trachomatis

การหาระดับแอนติบอดีในน้ำเหลืองของสตรีในกลุ่มที่ศึกษาซึ่งมาฝากครรภ์ทั้งในช่วงแรกและช่วงที่สามจำนวน 128 ราย ทำโดยใช้วิธี micro-immunofluorescent test

โดยเริ่มเจือจางน้ำเหลืองเป็น 1:8 และ 1:16 เพื่อหาระดับแอนติบอดี ต่อ Chlamydia ชนิดที่เป็น IgM และ IgG ตามลำดับ พบว่า 30/126 (23.8%) มีแอนติบอดีต่อ C. trachomatis serotype D ถึง K ซึ่งเป็น genital serotype โดยมีผู้ที่นำเสนอสงสัยว่าติดเชื้อ คือมีระดับ IgG \geq 1:64 จำนวน 20 (15.8%) ของสตรีตั้งครรภ์ที่ศึกษา นอกจากนี้ก็พบว่า ระดับของ IgG \geq 1:16 มีความสัมพันธ์โดยตรงกับประวัติการเคยเป็นโรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์มาก่อน ($p < 0.05$, χ^2 test)

การหาระดับต่ำสุดของยา tetracycline, erythromycin และ RU 28965 ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ C. trachomatis จำนวน 30 สายพันธุ์ ทำโดยเพาะเลี้ยงใน McCoy cells ที่มี cycloheximide พบระดับต่ำสุดของยาที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ C. trachomatis ดังนี้คือ : tetracycline 0.06-0.25, erythromycin 0.06-0.25 และ RU 28965 0.06-0.12 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้น ยาดังกล่าวจึงยังคงมีความสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อ C. trachomatis

จากการพบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อ C. trachomatis สูงในสตรีตั้งครรภ์ ดังนั้น การตรวจเชื้อมีในสตรีตั้งครรภ์จึงมีความจำเป็น เพื่อรักษาสตรีนั้นก่อนคลอด อันเป็นการป้องกันทารกที่จะคลอดออกมาไม่ให้ เป็นโรคเยื่อตาอักเสบและหรือปอดบวม

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title Chlamydia trachomatis Infection of the Cervix
 in the Pregnant Women

Name Miss Suwanna Boonrumlucktanom

Thesis Advisor Associate Professor Pongpun Nunthapisud

Thesis Co-Advisor Assistant Professor Sompop Limpongsanurak

Inter-Department Medical Microbiology

Academic Year 1985

ABSTRACT



Chamydia trachomatis is a bacteria that has been established as an etiologic agent in genitourinary tract infections in both men and women. The present of C. trachomatis in the birth canal of pregnant women places newborn at risk of acquiring inclusion conjunctivitis, pneumonia or both during the birth process. Some women had no symptoms of genital tract infection. Thus, screening of C. trachomatis infection at the cervix in pregnant women were performed.

200 pregnant women in the first trimester of pregnancy attending antenatal clinic at Chulalongkorn Hospital were selected for endocervical chlamydial isolation test. The 140 of 200 pregnant women were isolated again in the third trimester of pregnancy. The technique used for isolation of C. trachomatis was done by using cycloheximide treated McCoy cells. 21 of 140 (15.0%) women harboured C. trachomatis in the first and/or third trimester of pregnancy. The difference of positive chlamydial culture found in the first and third trimester of pregnancy was not statistically significant ($p > 0.05$, χ^2 test).

The symptoms of genital tract infection such as, vaginal discharge, vaginal itching, dysurea, frequent urination, except vaginal

bleeding, were not associated with chlamydial culture positive. C. trachomatis was correlated with age 24 years or younger but not with parity, educational level, history of sexually transmitted disease.

Serological test was also performed from 126 pregnant women in the third trimester by using modified micro-immunofluorescent test. Sera were examined at a starting dilution of 1:16 for antichlamydial IgG and of 1:8 for antichlamydial IgM. Type specific antibodies were found against C. trachomatis serotypes D to K (genital serotypes) in 30/126 (23.8%) of the group study. Type specific IgG at a titer of $\geq 1:64$, suggesting a significant titer, was present in 20 (15.8%) of the pregnant women. Antichlamydial IgG of titer $\geq 1:16$ was associated with history of sexually transmitted disease ($p < 0.05$, χ^2 test).

The minimum inhibitory concentrations of tetracycline, erythromycin and RU 28965 against 30 strains of C. trachomatis were determined by growth of chlamydiae in cycloheximide treated McCoy cells. The concentrations for inhibition of C. trachomatis inclusion formation were: tetracycline 0.06-0.25 ; erythromycin 0.06-0.25; and RU 28965 0.06-0.12 $\mu\text{g/ml}$. The results showed that these antibiotics were remained the drugs of choice for chlamydial treatment.

Since the high prevalence of C. trachomatis infection in pregnant women, routine culture of C. trachomatis was necessary. Antibiotic treatment should be given for chlamydial infected women before delivery to prevent infants from both inclusion conjunctivitis and pneumonia.



ACKNOWLEDGEMENTS

The present investigator wishes to express her deep gratitude to the following individuals who helped in making this thesis possible.

Mrs. Pongpun Nunthapisud, Assoc. Prof. of the Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for her indispensable help in supervising this thesis.

Dr. Sompop Limpongsanurak, Assist. Prof. of the Department of Obstetrics & Gynecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for his invaluable suggestion and collecting specimens.

Miss Somrat Chanrit, Department of Preventive & Social Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for her kindly suggestion and criticism in statistically part in this work.

Maj. Krit Kuvanont, Research Division, Armed Forces Research Institute of Medical Sciences (AFRIMS), for his helping in cell culture technique and supporting McCoy cells.

Dr. Suwimol Sampavat, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for infants observation of chlamydial infection.

World Health Organization (WHO) for chlamydial antigen used in this work.

Dumex Ltd., Abbott Laboratories Ltd., and Hoechst Roussel Lab. Ltd. for supporting standard powder of antibiotic used in this thesis.

Dr. Kawee Pupaibul, Assoc. Prof., head of the Department of Microbiology; and Dr. Supawat Chutivongse, Assoc. Prof., head of the Department of Obstetrics & Gynecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for the opportunities to study this thesis.

Miss Wimon Chanchaem and Miss Karnjana Hrimpeng for their helping in the laboratory.

Sincere thanks are due to all persons in the Department of Microbiology and Obstetrics & Gynecology for providing facilities needed.

Finally, I am deeply indebted to my family for their help, encouragement and understanding.

This thesis was supported by the Graduate School, and Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	ii
ENGLISH ABSTRACT	iv
ACKNOWLEDGEMENT	vi
CONTENTS.....	viii
LIST OF TABLES.....	x
LIST OF FIGURES.....	xii
ABBREVIATIONS.....	xiii
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II REVIEW OF LITERATURES	
History.....	4
Biology and Taxonomy.....	5
Chlamydia trachomatis Infection in Man.....	18
Prevention.....	20
Antimicrobial Susceptibility.....	21
Laboratory diagnosis... ..	25
III MATERIALS AND METHODS	
Study Population.....	36
Collection of Specimen	36
Isolation and Culture Studies.....	37
Propagation of <u>C. trachomatis</u>	39
Antibiotic Susceptibility Test of	
<u>C. trachomatis</u>	40
Serological Study.....	45

	Page
IV RESULTS	
Characteristic of <u>C. trachomatis</u> in McCoy Cells by Iodine Staining.....	48
Characteristic of Chlamydial Seropositive by MIF Test.....	48
Prevalence of Infection.....	54
Serology.....	56
Symptoms of Lower Genital Tract Infection...	60
History of Sexually Transmitted Disease.....	62
Age Distribution.....	63
Parity.....	64
Schooling.....	65
Antimicrobial Susceptibility.....	66
V DISCUSSION.....	69
Further Study.....	75
REFERENCES.....	76
APPENDIX I.....	94
APPENDIX II.....	96
APPENDIX III.....	98
APPENDIX IV.....	102
APPENDIX V.....	103
ADDITION.....	105
BIOGRAPHY.....	106

LIST OF TABLES

Table		Page
1	Characteristic of chlamydiae in relation to those of mycoplasmas, bacteria and viruses.....	7
2	Characteristic differentiating the species of chlamydiae..	9
3	Differentiation between TRIC and LGV agents.....	12
4	Characteristics of Elementary Body (EB) and Reticulate body (RB).....	14
5	Serotypes and clinical spectrum of <u>Chlamydia trachomatis</u> infections.....	17
6	Prospective studies of mothers and infants for chlamydial infection.....	19
7	Minimal inhibitory concentration (MIC) of various antimicrobial agents against <u>Chlamydia trachomatis</u>	22
8	System for preparing dilutions of antibiotic.....	43
9	Frequency of <u>C. trachomatis</u> isolation during the first and third trimester of pregnancy.....	55
10	IgG antibodies titer of 48 normal women sera	56
11	Relationship of antichlamydial IgG with the presence of <u>C. trachomatis</u> in cell culture.....	57
12	Distribution of antibodies to chlamydial serotypes in the pregnant women..	58
13	Prevalence of antibodies to <u>C. trachomatis</u> serotypes D to K in 126 pregnant women.....	59
14	Relationship of symptoms of lower genital tract infection with isolation of <u>C. trachomatis</u>	61

Table

Page

15	The association of history of STD with culture or serology of <u>C. trachomatis</u>	62
16	Relationship of age group with isolation or serology of <u>C. trachomatis</u>	63
17	The association of parity with isolation or serology of <u>C. trachomatis</u>	64
18	The association of schooling with isolation or serology of <u>C. trachomatis</u>	65
19	Percentage of 30 strains of C. trachomatis inhibited by any antimicrobial agents.....	66
20	The MIC ₅₀ and MIC ₉₀ of antimicrobial agents against 30 strains of <u>C. trachomatis</u>	68

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Chlamydial growth cycle.....	15
2	The method of propagation of <u>C. trachomatis</u>	41
3	Test antigen slide.....	46
4	<u>C. trachomatis</u> inclusions in McCoy cells with iodine staining (10x).....	49
5	<u>C. trachomatis</u> inclusions in McCoy cells with iodine staining (40x).....	50
6	Negative control of MIF test for <u>C. trachomatis</u> (40x)	51
7	Positive control of MIF test for <u>C. trachomatis</u> (40x)	52
8	Positive high titer of MIF test for <u>C. trachomatis</u> (40x).....	53
9	Cumulative percentage of inhibition of isolates by tetracycline (T), erythromycin (E) and RU 28965 (R).	67

ABBREVIATIONS

Ab	antibody
cm	centimeter
°C	degree celsius
DDW	double distilled water
EB	elementary body
ed.	editor, edited by
et al	et alii
etc	et cetera
g	gram
hr	hour
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
LGV	Lymphogranuloma venereum
ml	millilitre
MoPn	Mouse Pneumonitis
µg/ml	microgram per millilitre
µm	micrometer
min	minute
MIF	micro-immunofluorescence test
mol/l	mole per litre
nm	nanometer
NGU	Non-gonococcal Urethritis
PBS	phosphate buffer saline
RB	reticulate body
2SP	0.2 mol/l sucrose phosphate buffer
4SP	0.4 mol/l sucrose phosphate buffer
STD	Sexually Transmitted Disease
TRIC	Trachoma Inclusion Conjunctivitis

