

การศึกษาทางวิทยาศาสตร์ของ เชื้อรามบิลันคัสานสครีที่เป็นโรคของคลอคอกัก เสบ

นางสาว วิภา ตรีรัตน์วีรพงษ์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2532

ISBN 974-569-757-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

015300

11746772x

BACTERIOLOGICAL STUDY ON *MOBILUNCUS* ASSOCIATED  
IN VAGINITIS

Miss Vipa Treerauthverapong

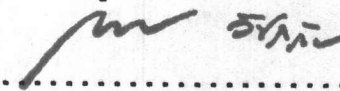
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Inter-Department of Medical Microbiology  
Graduate School  
Chulalongkorn University

1989

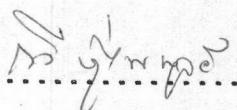
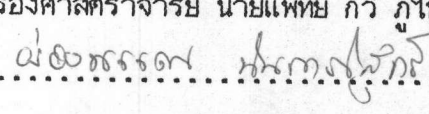
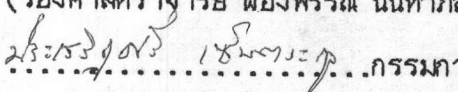
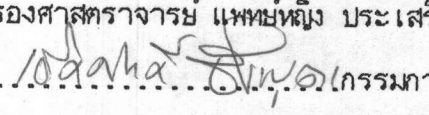
ISBN 974-569-757-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาทางวิทยาศาสตร์ของ เชื้อโสมบิลด์แคสในสตรีที่เป็น โรคช่องคลอดอักเสบ
โดย	นางสาว วิภา ตรีรัตน์วีรพงษ์
สหสาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางการแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ผ่องพรรณ นันทากิสวัสดิ์ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงประเสริญศรี เข็นตระกูล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคำหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

  
.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ ดร. กาวร วัชรไภย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ กวี กุ๋มบูลย์)  
  
.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ผ่องพรรณ นันทากิสวัสดิ์)  
  
.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ประเสริญศรี เข็นตระกูล)  
  
.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ เชิดศักดิ์ ธีระบุตร)



วิชา ตรีศน์วีรพงษ์ : การศึกษาวิทยาแบคทีเรียของเชื้อโมบิลันคัสในสตรีที่เป็นโรคช่องคลอด  
อักเสบ (BACTERIOLOGICAL STUDY ON *Mobiluncus* ASSOCIATED IN VAGINITIS)  
อ.ที่ปรึกษา : รศ.ผ่องพรรณ นันทากิสูทธิ, รศ.พญ.ประเสริฐศรี เช่นตระกูล, 155 หน้า.

*Mobiluncus* เป็นเชื้อแอนแอโรบส์ที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการช่องคลอดอักเสบจากรายงานต่าง ๆ ของต่างประเทศ แต่ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับเชื้อนี้เลย จึงได้ดำเนินการศึกษาอุบัติการณ์ของเชื้อ *Mobiluncus* และศึกษาวิทยาแบคทีเรียของเชื้อ *Mobiluncus* สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่แยกได้ และศึกษาความเข้มข้นค่าที่สุดของยาปฏิชีวนะ 3 ชนิดคือ ampicillin, tetracycline และ metronidazole ที่ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus*

กลุ่มการศึกษาเป็นสตรีที่มีอาการทางช่องคลอดอักเสบที่มารับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอก-นรีเวชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่เดือนเมษายน 2530 ถึงเดือนกันยายน 2530 จำนวน 224 ราย ตรวจเพาะแยก *Mobiluncus* ได้ 24 ราย. สตรีปกติที่ไม่มีอาการทางช่องคลอดซึ่งมารับการบริการวางแผนครอบครัว จำนวน 51 ราย ตรวจไม่พบ *Mobiluncus* พบว่าอาการช่องคลอดอักเสบมีความสัมพันธ์กับการพบ เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

การนำส่งสิ่งตรวจโดยวิธีเพาะจากสิ่งตรวจลงบนมีเดียโดยตรง ทำร่วมกับการใช้มีเดีย modified Stuart's transport medium ซึ่งพบเชื้อ *Mobiluncus* 24 ใน 224 รายในขณะที่ใช้วิธีแรกพบเชื้อ *Mobiluncus* 19 ราย (ร้อยละ 8.5) และวิธีที่สองพบเชื้อ 12 ราย (ร้อยละ 5.4) ใน 224 ราย ตามลำดับ

จากการศึกษาลักษณะรูปพรรณของเชื้อ *Mobiluncus* สามารถแบ่งเชื้อได้ 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกมีขนาดเซลล์ยาวประมาณ 2-4 ไมโครเมตร ดิกลีแกรมลบ มีแฟลกเจลลาประมาณ 2-5 เส้น จัดอยู่ในพวก long curved rods และกลุ่มที่สองมีขนาดเซลล์สั้นประมาณ 1 ไมโครเมตร ดิกลีแกรมไม่แน่นอน มีแฟลกเจลลาประมาณ 2-6 เส้น จัดอยู่ในพวก short curved rods ตำแหน่งที่พบแฟลกเจลลาของทั้ง 2 กลุ่ม จะอยู่ถัดปลายเข้ามาเล็กน้อยบริเวณส่วนโค้งด้านในของเซลล์

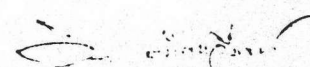
ลักษณะโคโลนิบน Columbia CNA agar ของเชื้อ 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างกัน มีลักษณะดังนี้ โคโลนิโค้งกลม ขอบเรียบ และมีสีขาวออกเทา เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนิประมาณ 0.6-1 มิลลิเมตร

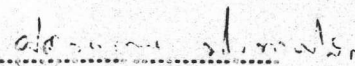
คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Mobiluncus* ทุกสายพันธุ์ไม่ ferment น้ำตาล adonitol, inulin, rhamnose, salicin และไม่ให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ไม่เจริญเติบโตใน bile ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 และการทดสอบ indole, oxidase และ catalase ได้ผลลบ แต่การทดสอบ CAMP นั้นให้ผลบวก การเคลื่อนที่ของเชื้อ *Mobiluncus* พบว่าเชื้อเคลื่อนที่แบบเกลียวส่วน

คุณสมบัติทาง Gas-Liquid Chromatographic pattern พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* ผลิตกรดอะเซติก, กรดซักซินิก และ/หรือกรดแลคติก จาก peptone-yeast extract glucose ที่เติมซีรัม กระดาษร้อยละ 2

ปริมาณความเข้มข้นค่าที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus* คือ ampicillin, tetracycline และ metronidazole มีปริมาณ MIC<sub>50</sub> เท่ากับ 0.1, 24.9 และ 48.5 ไมโครกรัม/มล. ส่วนปริมาณ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ 0.1, 50.6 และ 200.9 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ

ภาควิชา ..... สหสาขาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
สาขาวิชา ..... จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา ..... 2532

ลายมือชื่อนิติ ..... 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... 

VIPA TREERAUTHVERAPONG : BACTERIOLOGICAL STUDY ON *MOBILUNCUS* ASSOCIATED IN VAGINITIS. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PONGPUN NUNTHAPISUD AND ASSO. PROF. PRASERTSRI SENTRAKUL, 155 pp.

*Mobiluncus* is an anaerobic bacteria that has been associated in non-specific vaginitis. *Mobiluncus* was reported from other countries but it wasn't in Thailand. We studied the isolated *Mobiluncus* about incidence, bacteriological characteristics and minimal inhibitory concentration of ampicillin, tetracycline and metronidazole.

The study was performed in 224 women of non-specific vaginitis attending gynecological outpatient unit and 51 women of healthy control attending family planning research unit at Chulalongkorn Hospital from April-September 1987. *Mobiluncus* were isolated from 24 of 224 symptomatic women, but none in 51 healthy control women. The association between non-specific vaginitis and positive *Mobiluncus* culture was statistically significant ( $P < 0.05$ )

Direct plating technique and the use of modified Stuart's transport medium in the culture method were compared. *Mobiluncus* were isolated in 8.5% (19/224) by direct plating and 5.4% (12/224) by transport medium method, respectively.

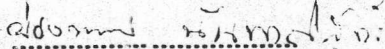
Microscopic studies of the morphology of *Mobiluncus* showed 2 groups of the organism, one consisted of gram negative long curved rods, approximately 2-4 micrometre in length and have about 2-5 flagella. The other consisted of short curved rods, gram variable, approximately 1 micrometre in length and have about 2-6 flagella. The flagella protrude from the concave side of the bacteria. The colonial characteristics on Columbia CNA agar were round with entire margins, white-grey in colour and with a diameter about 0.6-1 millimetre, they showed on difference between two groups of *Mobiluncus*.

The biochemical reaction and growth patterns of all strains were as follows: unable to ferment adonitol, inulin, rhamnose, salicin and produced no hydrogen sulfide; there was no growth in 20% bile medium, they were negative for indole, oxidase and catalase test, but positive for CAMP test. They also showed a rapid cork-screw motility. The Gas-Liquid Chromatographic pattern of *Mobiluncus* were acetic acid, succinic acid, and/or lactic acid produced in peptone-yeast extract glucose supplemented with 2% rabbit serum.

The minimal inhibitory concentration of ampicillin, tetracycline and metronidazole was determined for the twenty-four of *Mobiluncus*. The MIC<sub>50</sub> were 0.1, 24.9 and 48.5 µg/ml and MIC<sub>90</sub> were 0.1 50.6 and 200.9 µg/ml respectively.

ภาควิชา ..... สาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์  
สาขาวิชา ..... จุลชีววิทยาทางการแพทย์  
ปีการศึกษา ..... ๒๕๓๒.....

ลายมือชื่อนิติ ..... 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... 

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ผ่องพรรณ นันทากิสุทธิ์ อาจารย์ที่  
ปรึกษาและความมุ่งมั่นวิจัย ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงประเสริฐศรี  
เซ็นตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษา และดำเนินการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร. วินิตา บัณฑิต และ  
ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาติ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา  
แนะนำและอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือ

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์นายสัตวแพทย์เกรียงศักดิ์ พูลสุข และ  
รองศาสตราจารย์ ดร. นิคม ชัยศิริ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและยืมอุปกรณ์

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ นายแพทย์อรุณ อมาตยกุล และอาจารย์  
นายแพทย์เขียน คันนรินทร์ ที่ได้กรุณาช่วยเหลือดำเนินการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์นายแพทย์กวี ภูโพบูลย์ หัวหน้าภาควิชา  
จุลชีววิทยา และขอขอบคุณรองศาสตราจารย์นายแพทย์ศุภวัฒน์ ชุติวังศ์ อดีต  
หัวหน้าภาควิชาสูติ-นรีเวชกรรม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้อนุญาต  
ให้ใช้สถานที่และเก็บสิ่งตรวจได้

ขอขอบคุณ คุณเกล็ดแก้ว พานิช, คุณศิริพร คันบุตร, คุณจินตนา  
จิรถาวร, คุณคงศรี วิชวานิเวศน์ และคุณธีระศักดิ์ พิศรวิภาส ที่ได้ให้ความ  
ช่วยเหลือ และให้ความสนับสนุนเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ Dr.V.R.Dowell, Chief, Anaerobic Bacteria  
Branch Center for Infectious Disease และรองศาสตราจารย์ จุรรักษ์  
นิสกุล ที่ได้อนุเคราะห์เชื้อ *Mobiluncus* และ *Gardnerella vaginalis*

ขอขอบคุณ บริษัทสยามฟาร์มมาซูติคอล และบริษัทคูเม็กซ์ที่ได้อนุเคราะห์  
ยาปฏิชีวนะมาตรฐาน

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในสังกัดหน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา  
และภาควิชาสูติ-นรีเวชกรรม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้  
ความช่วยเหลือเกี่ยวกับค่านปฏิบัติการในระหว่างการวิจัย

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้อุดหนุนในการทำ

วิทยานิพนธ์ ท้ายที่สุด ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ มารดา ซึ่งสนับสนุนให้ทำสิ่ง  
แก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
รายการตารางประกอบ.....	ง
รายการรูปประกอบ.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. อุปกรณ์และวิธีการ.....	33
3. ผลการทดลอง.....	50
4. การวิจารณ์ผลการทดลอง.....	85
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	100
บรรณานุกรม.....	102
ภาคผนวก ก.....	113
ข.....	114
ค.....	116
ง.....	120
จ.....	142
ฉ.....	151
ประวัติผู้เขียน.....	155



รายการตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
1. แสดงข้อสรุปการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์ซึ่งได้รายงานเชื้อ comma-shaped rods จากช่องคลอดของสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบและสตรีที่ปกติ.....	8
2. ขนาด, สี และลักษณะต่าง ๆ ของโคโรลินของเชื้อ comma-shaped rods ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อวันแข็ง (solid media) ชนิดต่าง ๆ นานาน 72 ชั่วโมง ในบรรยากาศไร้ออกซิเจน.....	9
3. Differentiation of Genera of Anaerobes, Gram-negative bacilli.....	15
4. Antimicrobial susceptibility ของเชื้อ <i>Mobiluncus species</i> .....	21
5. ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุด (Minimal inhibitory concentration) ของยา metronidazole และกลุ่มเมทาบอลิท์ ค่อเชื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> หลังจากบ่มเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจนนาน 48 ชั่วโมง....	24
6. เปรียบเทียบปริมาณของเชื้อ anaerobic curved rods, short (SCR) และ long (LCR) variants ใน vaginal และ cervical sample ของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบจำนวน 90 ราย ตรวจโดยวิธี direct smear และ เชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาย้อมด้วย methylene blue	26
7. คุณสมบัติของเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	31
8. อุบัติการณ์ของเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	32

รายการตารางประกอบ (ต่อ)

ตาราง	หน้า
9. แสดงช่วงอายุ (ปี) และระดับความเป็นกรดต่างของ สิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบที่พบเชื้อ <i>Mobiluncus</i> (จำนวน 24 สายพันธุ์).....	70
10. แสดงปริมาณของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> บนอาหารเพาะเชื้อ Columbia CNA agar ซึ่งเก็บรักษาใช้ direct plating และ modified Stuart's transport medium....	71
11. ปริมาณ (semiquantitative) ของเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> บน HBT medium ที่สัมพันธ์ กับการวินิจฉัยอาการช่องคลอดอักเสบแบบ non-specific vaginitis (NSV) จำนวน 275 ราย (เพาะเชื้อระหว่าง เดือนเมษายน - ตุลาคม 2530).....	72
12. ปริมาณ (semiquantitative) ของ clue cell จากการคูลสด (wet mount preparation) ที่สัมพันธ์กับ การวินิจฉัยอาการช่องคลอดอักเสบแบบ non-specific vaginitis (NSV) จำนวน 275 ราย.....	73
13. ความสัมพันธ์ของ clue cell จากการคูลสด (wet mount preparation) และการเพาะเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และคนปกติ (จำนวน 76 สายพันธุ์).....	74
14. (ก) อุบัติการณ์ของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> และ <i>Gardnerella vaginalis</i> ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และคนปกติ วิทยวิธีการ เพาะเชื้อ (culture).....	75

## รายการตารางประกอบ (ต่อ)

ตาราง	หน้า
14. (ข) ความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ ที่พบและนำพบเชื้อ <i>Mobiluncus</i> .....	76
15. เปรียบเทียบการตรวจเชื้อ <i>Mobiluncus</i> ด้วยวิธีการหม้อมแกรม (Gram stain) จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดกับการเพาะเชื้อ โดยศึกษาในผู้ป่วย 224 ราย.....	77
16. ผลเปรียบเทียบการคูลสด (wet mount preparation) จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอด กับการเพาะเชื้อโดยศึกษาในผู้ป่วย 76 ราย.....	78
17. คุณสมบัติทางชีวเคมีและ Gas-Liquid Chromatographic pattern (GLC pattern) ของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> (long และ short curved rods)จำนวน 24 สายพันธุ์.....	79
18. คุณสมบัติทางชีวเคมีและ Gas-Liquid Chromatographic pattern (GLC pattern) ของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> ใดๆแยกเป็น long curved rods (LCR) และ short curved rods (SCR) ของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบและเชื้อมาตรฐาน.....	81
19. ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> ด้ร้อยละ 50 และร้อยละ 90 (MIC <sub>50</sub> , MIC <sub>90</sub> ).....	83
20. ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Gardnerella vaginalis</i> ด้ร้อยละ 50 และร้อยละ 90 (MIC <sub>50</sub> , MIC <sub>90</sub> ).....	84

## รายการตารางประกอบ (ต่อ)

ตาราง		หน้า
21.	เปรียบเทียบเชื้อแอนเออร์บส์ ซึ่งเพาะเชื้อแยกได้จากช่องคลอดของคนปกติ และผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ....	89
22.	การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อใช้ base ต่าง ๆ กัน.....	127

รายการรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
1. โครงสร้างของยา metronidazole และ major metabolites.....	23
2. การติดสีแกรมของ long curved rods (LCR) และ short curved rods (SCR).....	63
3. การย้อมแกรมจากสิ่งค้ค้หลังจากช่องคลอด พบเชื้อ curved rods เกาะติด (adhere) กับ epithelial cells...	64
4. การย้อมสีเฟลกาเจลาของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> ด้วยวิธีของ Ryus คู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์.....	65
5. การย้อม negative stain ของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> และ คู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน.....	66
6. ลักษณะโคโรนินของเชื้อ <i>Mobiluncus</i> บน Columbia CNA agar เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....	68
7. CAMP TEST ุคษาใช้ Columbia blood base ที่ใส่เลือด และความเข้มข้นร้อยละ 4 .....	69