

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. อุบัติการณ์ของเชื้อ Mobiluncus ในสตรีช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และสตรีที่ไม่มีอาการ (healthy control)

1.1 อุบัติการณ์ของเชื้อ Mobiluncus จากการศึกษาโดยการเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนตุลาคม 2530 ได้ผลดังนี้ ผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบจำนวน 224 ราย พบเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 24 สายพันธุ์ (ร้อยละ 10.7) สำหรับคนปกติ (healthy control) จำนวน 51 ราย ไม่พบเชื้อ *Mobiluncus* เลย พบว่าผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ มีความสัมพันธ์กับการพบเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การพบเชื้อจากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดมีระดับความเป็นกรด-ด่าง pH 5.8 จำนวน 14 ราย (ร้อยละ 58.3) และที่ pH 5.4, 6.2 และ >7.0 พบเชื้อ 4, 5, 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.7, 20.8 และ 4.2 ตามลำดับ สำหรับอายุของผู้ป่วยที่พบเชื้อ *Mobiluncus* ผู้ป่วยอายุ 15-20 ปี , 21-25 ปี , 26-30 ปี , 31-35 ปี , 36-40 ปี , 41-45 ปี , 46-50 ปี และ > 50 ปี พบเชื้อ 2, 6, 5, 6, 1, 1, 1 และ 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 8.3 , 25.0 , 20.8 , 25.0 , 4.2 , 4.2 , 4.2 และ 8.3 ตามลำดับ ดังรายละเอียดในตารางที่ 9

1.2 วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจ และนำส่งเพื่อการเพาะเชื้อ Mobiluncus จากช่องคลอดโดยเพาะลงบนมีเดียทันทีและเทียบกับการใช้ modified Stuart's transport medium ผลการเพาะเชื้อ *Mobiluncus* บนอาหารเพาะเชื้อทันที แยกได้ 19 สายพันธุ์ (ร้อยละ 79.2) ใช้มีเดีย transport แยกเชื้อได้ 12 สายพันธุ์ (ร้อยละ 50.0)

สำหรับปริมาณของเชื้อ *Mobiluncus* บนอาหารเพาะเชื้อ ซึ่งเก็บส่งตรวจโดยวิธีเพาะบนมีเดีย พบ 19 ราย ได้ปริมาณเชื้อ 1+ จำนวน 6 ราย ปริมาณเชื้อ 2+ จำนวน 6 ราย, ปริมาณเชื้อ 3+ จำนวน 4 ราย และ ปริมาณเชื้อ 4+ จำนวน 3 ราย สำหรับปริมาณของเชื้อ *Mobiluncus* ที่ขึ้นบนอาหารเพาะเชื้อ ซึ่งเก็บและนำส่งโดยวิธีมีเดีย transport พบจำนวน 12 ราย ได้ปริมาณเชื้อ 1+ จำนวน 3 ราย, ปริมาณเชื้อ 2+ จำนวน 4 ราย, ปริมาณเชื้อ 3+ จำนวน 3 รายและปริมาณเชื้อ 4+ จำนวน 2 ราย ดังแสดงในตารางที่ 10

2. อุบัติการณ์ของเชื้อ *Gardnerella vaginalis* ในสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis) และสตรีที่ไม่มีอาการ (healthy control)

2.1 อุบัติการณ์ของเชื้อ *G.vaginalis* จากการศึกษาร่วมกับเชื้อ *Mobiluncus* ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ จำนวน 224 ราย พบเชื้อ *G.vaginalis* จำนวน 68 สายพันธุ์ (ร้อยละ 30.4) และคนปกติ (healthy control) จำนวน 51 ราย พบเชื้อ *G.vaginalis* จำนวน 8 สายพันธุ์ (ร้อยละ 15.7) พบว่าการตรวจพบเชื้อ *G.vaginalis* นี้มีความสัมพันธ์กับอาการช่องคลอดอักเสบ ($p > 0.05$; χ^2 test)

2.2 สถิติปริมาณ(semiquantitative)ของเชื้อ *G.vaginalis* ที่พบบนมีเดีย ที่สัมพันธ์กับ clinical diagnosis ของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ จำนวน 224 ราย พบปริมาณเชื้อ 4+,3+ จำนวน 19,30 ราย คิดเป็นร้อยละ 8.5,13.4 ตามลำดับและพบเชื้อ 2+,1+ จำนวน 6,13 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.7 และ 5.8 ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบที่ไม่นับพบเชื้อ *G.vaginalis* เลย จำนวน 156 ราย (ร้อยละ 69.6) สำหรับปริมาณของเชื้อ *G.vaginalis* บนมีเดียที่เพาะจากคนปกติไม่นับว่ามีเชื้อขึ้นมากพบปริมาณ 3+ จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 5.9), ปริมาณ 2+,1+ จำนวน 2,3 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.9 และ 5.9 และไม่นับพบเชื้อ *G.vaginalis* เลยจำนวน 43 ราย (ร้อยละ 84.3) ดังรายละเอียดในตารางที่ 11

2.3 ปริมาณการพบ clue cell จากการคูลสกี (wet mount preparation) จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 224 ราย ตรวจพบ clue cell 72 ราย พบปริมาณ clue cell 3+ จำนวน 2 ราย (ร้อยละ 0.9), พบ clue cell 2+, 1+ จำนวน 27, 43 ราย คิดเป็นร้อยละ 12.1 และ 19.2 ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบที่ไม่พบ clue cell เลขจำนวน 152 ราย (ร้อยละ 67.9) ปริมาณของ clue cell ของคนปกติพบ clue cell 1+ จำนวน 2 ราย (ร้อยละ 3.9) และไม่พบ clue cell เลข จำนวน 49 ราย (ร้อยละ 96.1) คั่งรายละเอียดในตารางที่ 10

2.4 ความสัมพันธ์ของ clue cell จาก wet mount preparation และเชื้อ *G. vaginalis* จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ ซึ่งพบ 68 สายพันธุ์ จำนวนผู้ป่วยที่พบ clue cell และเพาะเชื้อได้ จำนวน 30 ราย พบว่าปริมาณ clue cell 3+, 2+ และ 1+ จำนวน 1, 12 และ 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.5, 17.6 และ 25.0 ตามลำดับ สำหรับคนปกติไม่พบ clue cell ร่วมกับ *G. vaginalis* คั่งรายละเอียดในตารางที่ 13

การพบเชื้อ *G. vaginalis* สัมพันธ์กับการพบ clue cell จาก wet mount preparation อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, χ^2 test)

3. อุบัติการณ์ของเชื้อ *Mobiluncus* และ *G. vaginalis* ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจของสตรีที่เป็นช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และสตรีที่ในวัยอาการ (healthy control)

อุบัติการณ์ร่วมกันของเชื้อ *Mobiluncus* และ *G. vaginalis* ได้ผลดังนี้ ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ จำนวน 224 ราย พบเชื้อ *Mobiluncus* ทั้งหมด 24 ราย โดยพบเชื้อ *G. vaginalis* ร่วมด้วยจำนวน 7 ราย (ร้อยละ 29.2) พบเฉพาะเชื้อ *Mobiluncus* 17 ราย (ร้อยละ 70.8) ในคนปกติจำนวน 51 ราย ไม่พบเชื้อ *Mobiluncus* เลข แต่พบ *G. vaginalis* จำนวน

8 ราย (ร้อยละ 15.7) และไม่พบเชื้อ *Mobiluncus* และ *G.vaginalis* จำนวน 43 ราย (ร้อยละ 84.3) ดังรายละเอียดในตารางที่ 14 ก

4. การศึกษาทางวิทยาแบคทีเรียเกี่ยวกับลักษณะรูปพรรณ และคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Mobiluncus*

4.1 วิทยาแบคทีเรียเกี่ยวกับรูปร่างพื้นฐานวิทยาของเชื้อ

Mobiluncus

4.1.1 ศึกษาทางวิทยาแบคทีเรียโดยการย้อมสีแกรมจากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีช่องคลอดอักเสบ ลักษณะเป็น curved rods จำนวน 30 ราย (ร้อยละ 13.4) และสตรีที่ไม่มีอาการ ไม่พบเชื้อลักษณะ curved rods ผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบมีความสัมพันธ์กับการพบเชื้อลักษณะ curved rods จากการย้อมสีแกรม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, χ^2 test)

เปรียบเทียบวิธีการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ *Mobiluncus* จากผู้มีอาการทางช่องคลอดที่พบเชื้อ 24 ราย จาก 224 รายจากการย้อมสีแกรม พบเชื้อลักษณะ curved rods 30 ราย ค่าความไว (sensitivity) ของวิธีการย้อมสีแกรม ร้อยละ 62.5, ค่าความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 92.5, เปอร์เซนต์ของการเป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อคุณแกรมได้ผลบวก (predictive value of positive) เท่ากับร้อยละ 50.0 และ เปอร์เซนต์ของการไม่เป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อคุณแกรมได้ผลลบ (predictive value of negative) เท่ากับร้อยละ 95.4 ดังแสดงในตารางที่ 15

การย้อมสีแกรมสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยพบเชื้อ ลักษณะ long curved rods ติดสีแกรมลบมีจำนวน 5 ราย short curved rods ติดสีเข้มแน่นอน (variable) จำนวน 21 ราย และเชื้อ long curved rods ร่วมกับ short curved rods มีจำนวน 4 ราย ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2

การย้อมสีแกรมพบ curved rods เกาะ
ติดกับ epithelial cell จำนวน 6 ราย เป็นเชื้อ long curved rods 1 ราย
และ short curved rods 5 ราย ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3

ผลการย้อมสีแกรมได้เชื้อ curved rods ตรง
กับผลของการเพาะเชื้อได้เชื้อ *Mobiluncus* มี 15 ราย โดยวิธีย้อมแกรมพบเชื้อ
ลักษณะ เซลล์ยาวโค้งแกรมลบ และวิธีการเพาะเชื้อแยกได้เชื้อ long curved
rods จำนวน 4 ใน 15 ราย และย้อมเชื้อได้ลักษณะ เซลล์สั้นโค้งแกรมไม่แน่นอน
และเพาะเชื้อได้ short curved rods จำนวน 11 ใน 15 ราย

4.1.2 ศึกษาทางวิทยาศาสตร์โดยการดูสด (wet
mount preparation) เชื้อ motile curved rods ในสิ่งคัดหลั่งจากช่อง
คลอดของสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ และสตรีที่ไม่มีอาการ

สิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยที่มีอาการช่อง
คลอดอักเสบจำนวน 76 ราย เมื่อนำมาป้ายดูสดในน้ำเกลือออร์มัลความเข้มข้น
ร้อยละ 0.9 พบเชื้อ curved rods ที่เคลื่อนที่แบบเกลียวสว่าน (cork screw)
จำนวน 25 ราย (ร้อยละ 32.9) ในคนปกติไม่พบเชื้อ motile curved rods
เลย ผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบมีความสัมพันธ์กับการพบเชื้อ curved rods
โดยการตรวจชนิดดูสด ($p > 0.05$, χ^2 test)

การเพาะเชื้อ และการดูสดจากสิ่งคัดหลั่งของ
ช่องคลอดของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ และพบเชื้อ *Mobiluncus* นำมา
วิเคราะห์ทางสถิติแสดงความสัมพันธ์ พบว่าการดูสดพบเชื้อ motile curved
rods และเพาะเชื้อได้เชื้อ *Mobiluncus* มีจำนวน 2 ราย ค่าความไวของวิธี
การดูสด (sensitivity) เท่ากับร้อยละ 22.2, ค่าความจำเพาะของวิธีการ
ดูสดเท่ากับร้อยละ 65.7, แปรชี้ชัดของการเป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อดูสด
ได้ผลบวก (predictive value of positive) เท่ากับร้อยละ 8.0 และ
แปรชี้ชัดของการไม่เป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อดูสดได้ผลลบ (predictive

value of negative) เท่ากับร้อยละ 86.3 ดังแสดงในตารางที่ 16

4.1.3 ศึกษาทางวิทยาคัดเครี โดยวัดขนาดของเชื้อ *Mobiluncus* นำเชื้อ *Mobiluncus* ที่ย้อมสีแกรมและวัดขนาดโดยคูค้าย กล้องจุลทรรศน์ที่มี eyepiece ซึ่งมีสเกลที่ได้เทียบมาตรฐานแล้วกับ calibrated slide ซึ่งมีสเกลมาตรฐาน (ขนาด 0.1 มม.) พบว่าแบ่งเชื้อได้ 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มีขนาดปริมาณ 2 - 4 ไมครอนเมตร
เซลล์ยาวโค้ง เรียกว่า long curved rods (รูปที่ 2.1)

กลุ่มที่ 2 มีขนาดประมาณ 1 ไมครอนเมตร
เซลล์สั้น เรียกว่า short curved rods (รูปที่ 2.2)

4.1.4 ศึกษาทางวิทยาคัดเครี โดยย้อมสีเฟลกเจลลา
เชื้อ *Mobiluncus* ด้วยวิธี Ryus' flagella stain และ negative
stain

การย้อมสีเฟลกเจลลาคด้วยวิธีของ Ryus แล้ว
คูค้ายกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และย้อมสี negative stain แล้วคูค้ายกล้องจุ
ลทรรศน์อิเล็กตรอน ได้ผลดังนี้ long curved rods มีจำนวนเฟลกเจลลาประมาณ
2-5 เส้น และ short curved rods มีจำนวนเฟลกเจลลาประมาณ 2-6
เส้น เฟลกเจลลาจะอยู่ถัดจากปลายเข้ามาเล็กน้อย (subterminal side)
ดังแสดงในรูปที่ 4,5

4.1.5 ศึกษาทางวิทยาคัดเครีด้วยลักษณะ, สีและขนาดของ
โคโรนินของเชื้อ *Mobiluncus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Columbia CNA agar

ลักษณะโคโรนินกลม, มีขนาดเล็ก และสีขาวเมื่อคู
ค้ายตาเปล่า ซึ่งถ้าคูค้ายลักษณะโคโรนินด้วยกล้อง Stereoscopic microscope
จะพบว่าโคโรนินมีลักษณะโค้งกลม, ขอบเรียบ, เป็นมันวาว และมีสีขาวออกเทา วัด
ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโรนินอยู่ระหว่าง 0.6-1 มม. เมื่อไม่นานถึง 72
ชั่วโมง

การคุณลักษณะโคโรลินีของเชื้อ *Mobiluncus*

ด้วยกล้อง Stereoscopic microscope เนื่องจากขนาดโคโรลินีของเชื้อมีขนาดเล็กมากและมีเชื้อแอนแอโรบส์ชนิดอื่น ทำให้การดูด้วยตาเปล่าอาจเกิดการผิดพลาดได้ การบ่มเชื้อนาน 24 ชั่วโมง เชื้อยังไม่เจริญเติบโต, เมื่อบ่มเชื้อนาน 48 ชั่วโมง เริ่มมีโคโรลินีขึ้นยิบ ๆ ต้องดูด้วยกล้อง Stereoscopic microscope และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.6-1 มม. เมื่อบ่มเชื้อนาน 72 ชั่วโมง วิธีการวัดขนาดโคโรลินี ทำเช่นเดียวกับวิธีการวัดขนาดเชื้อ แต่ใช้กล้อง Stereoscopic microscope แทนกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะโคโรลินีของเชื้อ *Mobiluncus* บน Columbia CNA agar แสดงในรูปที่ 6

4.2 ศึกษาทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับคุณสมบัติทางชีวเคมี และ Gas-Liquid Chromatographic pattern ของเชื้อ *Mobiluncus*

4.2.1 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ใช้แยกเชื้อ

Mobiluncus ออกจากเชื้ออื่นได้ผล ดังนี้ เชื้อ *Mobiluncus* ทั้ง 24 สายพันธุ์ ไม่ย่อยหมักน้ำตาล adonitol, inulin, rhamnose, salicin ไม่ให้ผลผลิต H₂S ใน SIM medium ไม่เจริญเติบโตใน bile ความเข้มข้นร้อยละ 20, การทดสอบ indole, oxidase, catalase ให้ผลลบ ส่วน CAMP test และ motility ให้ผลบวก เชื้อ *Mobiluncus* สามารถ hydrolysis starch ได้ ทั้ง 24 สายพันธุ์ ได้ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 17

4.2.2 การศึกษา Gas-Liquid Chromatographic pattern ที่ใช้แยกเชื้อ *Mobiluncus* ออกจากเชื้ออื่นที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันได้ผลดังนี้ เชื้อ *Mobiluncus* ให้ผลผลิตทางเมตาบอไลต์ 2 แบบ ดังแสดงในตารางที่ 17 ดังนี้

4.2.2.1 กรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acid) เชื้อ *Mobiluncus* จะผลิตกรดอะซิติกใน PYG broth ที่เติมซีรัมกระต่ายร้อยละ 2 จำนวน 24 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 100)

4.2.2.2 กรดไขมันที่โมบิละเทส

(Non-volatile fatty acid) เชื้อ *Mobiluncus* จะผลิตกรดไขมันชนิด และ/หรือ กรดแลคติก 24 สายพันธุ์

4.2.3 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ใช้แยกเชื้อ

Mobiluncus ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ long curved rods (7 สายพันธุ์) และ short curved rods (17 สายพันธุ์) ได้ผลดังนี้ short curved rods hydrolysis sodium hippurate, สร้างเอนไซม์ β -galactosidase (ONPG) และการทดสอบ CAMP ให้ผลการสลายเมือกเลือดแดงเกาะไม่ชัดเจน ส่วน long curved rods ไม่ hydrolysis sodium hippurate, ไม่ให้เอนไซม์ β -galactosidase (ONPG) และการทดสอบ CAMP ให้ผลการสลายเมือกเลือดแดงเกาะชัดเจน ดังรูปที่ 7

4.2.4 การศึกษา Gas-Liquid Chromatographic

pattern ของเชื้อ *Mobiluncus* 2 กลุ่ม คือ เชื้อ long curved rods จำนวน 7 สายพันธุ์ ผลิตกรดไขมันชนิดและกรดอะซิติก แต่ไม่ผลิตกรดแลคติกทั้งหมด, และเชื้อ short curved rods จำนวน 17 สายพันธุ์ ผลิตกรดอะซิติก 10 ใน 17 สายพันธุ์ที่ให้กรดไขมันชนิด และอีก 7 ใน 17 สายพันธุ์ให้กรดไขมันชนิดและกรดแลคติก ดังแสดงในตารางที่ 18

4.2.5 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีอื่น ๆ ของเชื้อ

Mobiluncus (24 สายพันธุ์) ดังนี้ เชื้อไม่หมักยีสน้ำตาล arabinose 23 สายพันธุ์ (ร้อยละ 95.8), fructose 20 สายพันธุ์ (ร้อยละ 83.3), glucose 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7), inositol 21 สายพันธุ์ (ร้อยละ 87.5), lactose 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7), maltose 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 66.7) mannitol 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7), mannose 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7) raffinose 21 สายพันธุ์ (ร้อยละ 87.5), sucrose 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7), trehalose 18 สายพันธุ์ (ร้อยละ 75.0) และ xylose 9 สายพันธุ์ (ร้อยละ 37.5) ดังแสดงในตารางที่ 17

เชื้อ *Mobiluncus* ให้ผลลบกับ nitrate reduction 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7), hippurate hydrolysis 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 70.8), esculin hydrolysis 22 สายพันธุ์ (ร้อยละ 91.7), gelatin 21 สายพันธุ์ (ร้อยละ 87.5) และ β -galactosidase (ONPG) 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 70.8) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 17

4.2.6 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Mobiluncus*

ลักษณะต่าง ๆ

4.2.6.1 Long curved rods (7 สายพันธุ์) ไม่หมักยีส่น้ำตาล arabinose 6 สายพันธุ์ (ร้อยละ 85.7), fructose 4 สายพันธุ์ (ร้อยละ 57.1), glucose 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 71.4), inositol 4 สายพันธุ์ (ร้อยละ 57.1), lactose 6 สายพันธุ์ (ร้อยละ 85.7), maltose 2 สายพันธุ์ (ร้อยละ 28.6), mannitol 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 71.4), sucrose 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 71.4), mannose 6 สายพันธุ์ (ร้อยละ 85.7), trehalose 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 71.4) และ xylose 3 สายพันธุ์ (ร้อยละ 42.9) เชื้อ long curved rods (LCR) ให้ผลลบกับ nitrate reduction 6 สายพันธุ์ (ร้อยละ 85.7), esculin hydrolysis 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 71.4) และ gelatin 5 สายพันธุ์ (ร้อยละ 71.4) นอกนั้นให้ผลลบ 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100) ได้แก่ adonitol, inulin, raffinose, rhamnose, salicin, hippurate hydrolysis, H₂S, bile, indole, oxidase, catalase, ONPG ส่วนที่ ให้ผลบวกร้อยละ 100 ได้แก่ motility, starch hydrolysis, CAMP test

4.2.6.2 Short curved rods (17 สายพันธุ์) ไม่หมักน้ำตาล adonitol 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), arabinose 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), fructose 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.1), glucose 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), inositol 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), inulin 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), lactose 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.1), maltose 14 สายพันธุ์ (ร้อยละ 82.4), mannitol 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ

100), raffinose 14 สายพันธุ์ (ร้อยละ 82.4), rhamnose 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), salicin 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), sucrose 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), mannose 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.1), trehalose 13 สายพันธุ์ (ร้อยละ 76.5) และ xylose 6 สายพันธุ์ (ร้อยละ 35.3) ให้ผลลบกับ nitrate reduction 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.1), esculin hydrolysis 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100), gelatin 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.1) และ starch hydrolysis 16 สายพันธุ์ (ร้อยละ 94.1) การทดสอบได้ผลลบของเชื้อจำนวน 17 สายพันธุ์ (ร้อยละ 100) ได้แก่ H₂S, bile, indole, oxidase, catalase

ส่วนการทดสอบได้ผลบวกของเชื้อจำนวน 24 สายพันธุ์ ได้แก่ hippurate hydrolysis, motility, ONPG, CAMP test ได้ผลดังกล่าวข้างแสดงในตารางที่ 18

5. คุณสมบัติทางลักษณะรูปพรรณ และคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *G. vaginalis* เชื้อที่นำมาศึกษาจำนวน 76 สายพันธุ์

5.1 ลักษณะรูปร่างสัณฐานของเชื้อ *G. vaginalis*

5.1.1 การติดสีแกรม (gram stain) เชื้อติดสีแกรมไม่แน่นอน (gram variable) รูปร่างคอคคิโคแบซิลไล

5.1.2 การคูกูส (wet mount preparation) จะพบเชื้อเกาะบน epithelial cell เรียกว่า clue cell พบ 30 ใน 76 ราย

5.1.3 ลักษณะ, สี และขนาดของโคโรลินีของเชื้อ *G. vaginalis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Human Blood Bilayer Tween medium (HBT) ที่หมักเชื้อในสภาวะ facultative anaerobe นาน 48 ชั่วโมง

คุณลักษณะของโครลินของเชื้อ *G. vaginalis* ที่ขึ้นบน HBT medium จะสลายเม็ดเลือดแดงของคนอย่างสมบูรณ์ คล้ายกับเชื้อแบคทีเรียที่สลายเม็ดเลือดแดงของโคโรลินจะขนาดโตกว่าเล็กน้อย สีขาวขุ่นแต่ขนาดเล็ก ขอบของโครลินจะเรียบ

5.2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *G. vaginalis* ที่แยกได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ และสตรีที่ไม่มีอาการ

5.2.1 ให้ผลลบกับ catalase

5.2.2 ให้ผลลบกับ oxidase

5.2.3 เชื้อ *G. vaginalis* สามารถ hydrolysis sodium hippurate solution ความเข้มข้นร้อยละ 1

5.2.4 เชื้อ *G. vaginalis* สามารถหมักย่อน้ำตาลให้กรดจากน้ำตาล 3 ตัวคือ glucose, maltose และ starch แต่ไม่ใช้น้ำตาล mannitol

5.2.5 เชื้อ *Gardnerella vaginalis* ไวต่อแผ่นยา metronidazole (50 ไมโครกรัม/แผ่นยา) และไวต่อแผ่นยา trimethoprim (5 ไมโครกรัม/แผ่นยา)

5.2.6 เชื้อ *G. vaginalis* จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตบน PSD medium ด้วย ไฮโครเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10

6. ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยานิวทริชเนที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Mobiluncus* ที่แยกได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ

ปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 24 สายพันธุ์ ใต้ร้อยละ 50 และ 90 ผลของการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะ พบว่ายา ampicillin ไวต่อเชื้อ *Mobiluncus* ที่สุก ร่องลงมาคือยา tetracycline สุกท้ายคือยา metronidazole ค่า MIC₅₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole ต่อเชื้อ *Mobiluncus* (24 สายพันธุ์) เท่ากับ 24.9, 0.1 และ 48.5 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ค่า MIC₉₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole ต่อเชื้อ *Mobiluncus* (24 สายพันธุ์) เท่ากับ 50.6, 0.1 และ 200.9 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 19

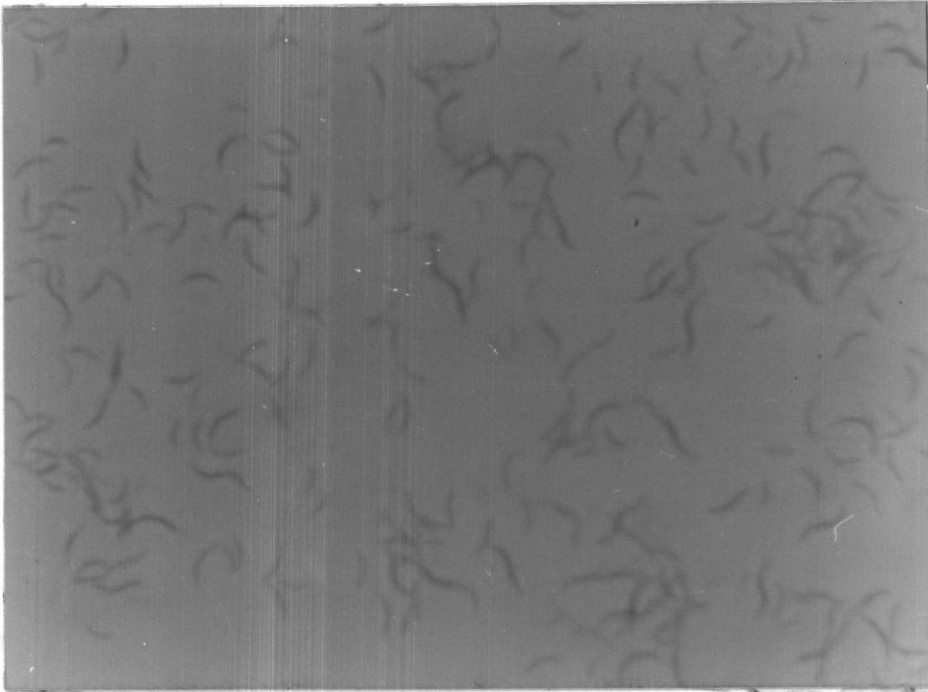
6.1 ค่า MIC₅₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole ต่อเชื้อ long curved rods (7 สายพันธุ์) เท่ากับ 22.6, 0.1 และ 53.8 ไมโครกรัม/มล. ค่า MIC₉₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole เท่ากับ 50.2, 0.1 และ 315.2 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 19

6.2 ค่า MIC₅₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole ต่อเชื้อ short curved rods (17 สายพันธุ์) เท่ากับ 25.6, 0.1 และ 45.3 ไมโครกรัม/มล. ค่า MIC₉₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole เท่ากับ 50.6, 0.1 และ 172.5 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 19

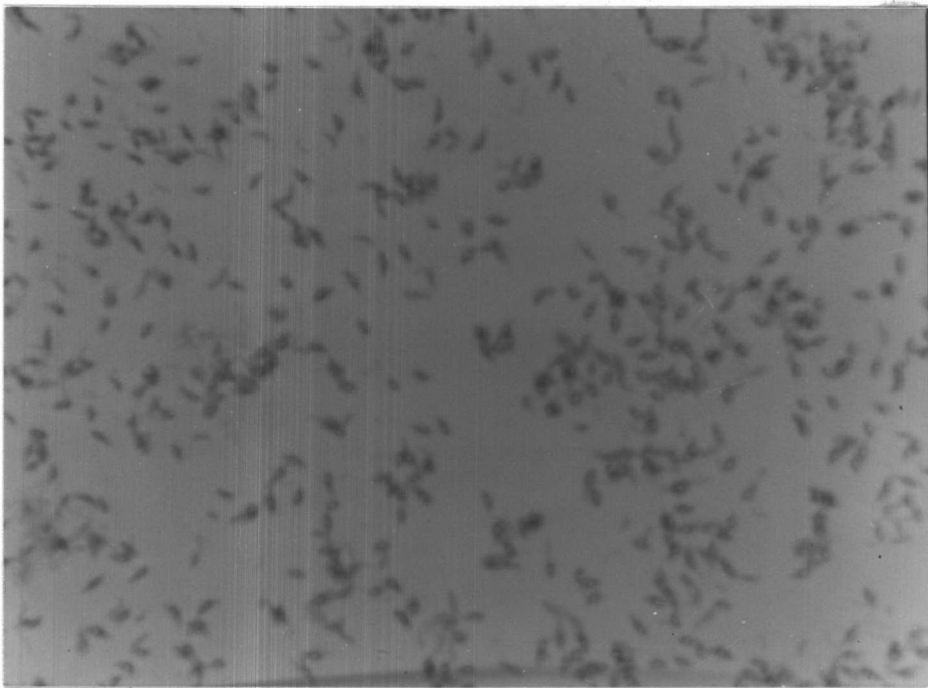
7. ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *G. vaginalis* ที่แยกได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และสตรีที่ปกติ (healthy control)

ปริมาณความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญ
ของเชื้อ *G.vaginalis* จำนวน 76 สายพันธุ์ ได้ร้อยละ 50 และ 90
ผลของการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะ พบว่ายา ampicillin ไวต่อเชื้อ
G. vaginalis ที่สุก รองลงมาคือยา tetracycline สุกท้ายคือ ยา
metronidazole, ค่า MIC₅₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin
และยา metronidazole เท่ากับ 0.4, 0.1 และ 0.4 ไมโครกรัม/มล. ตาม
ลำดับ ค่า MIC₉₀ ของยา tetracycline, ยา ampicillin และยา metronidazole
เท่ากับ 49.5, 0.4 และ 151.2 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับดังแสดง
ในตารางที่ 20

รูปที่ 2 การศึกษีสัณฐานของ long curved rods (LCR) และ short curved rods (SCR) (กำลังขยาย 2500 เท่า)

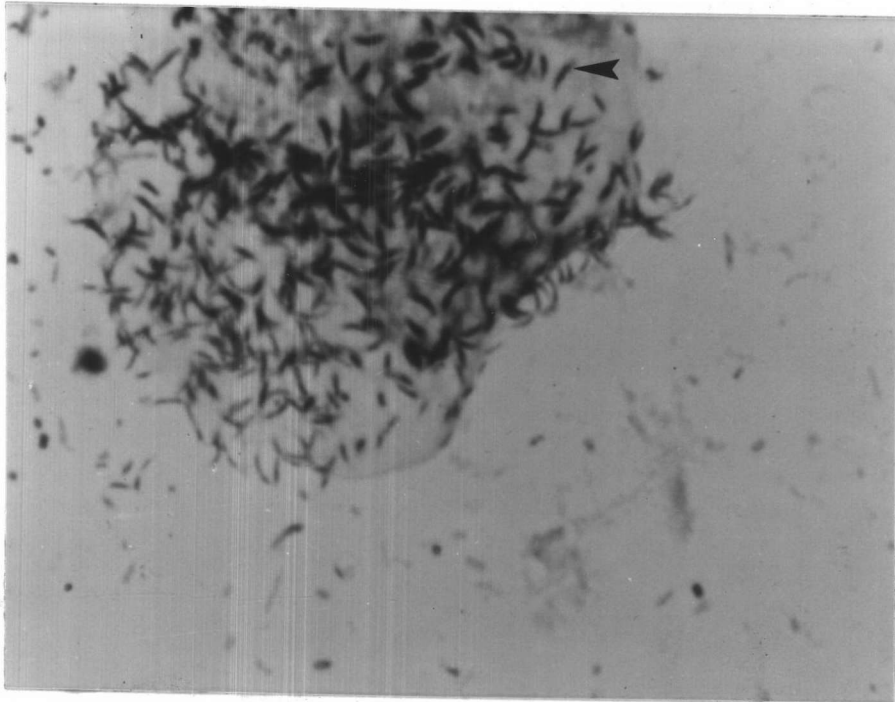


2.1 long curved rods

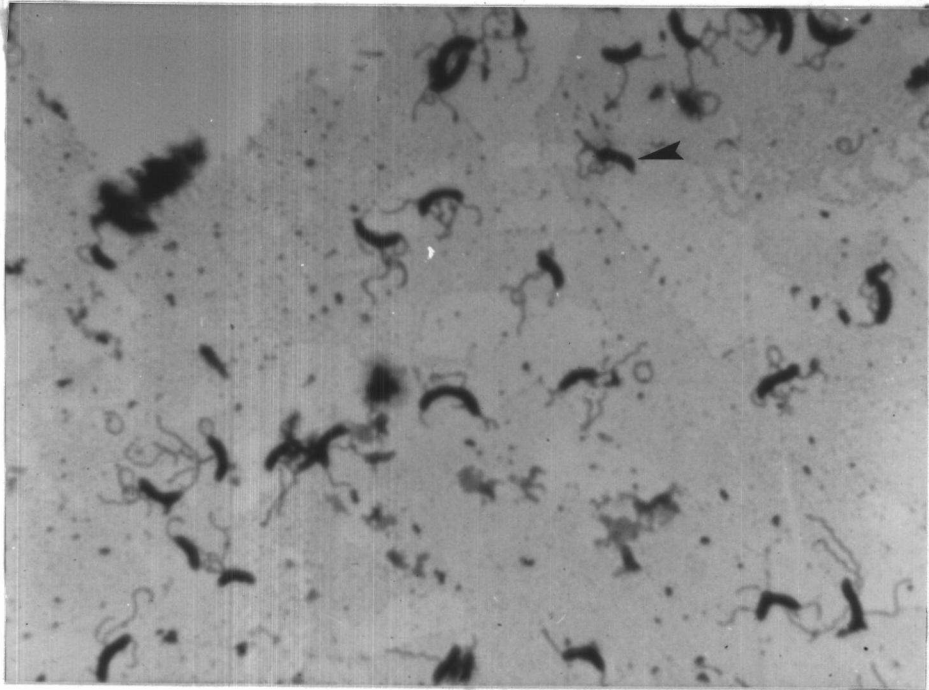


2.2 short curved rods

รูปที่ 3 การยึดเกาะของแบคทีเรียรูปแท่งงอ (curved rods) ที่ได้จากช่องคลอด พบเกาะติด (adhere) กับ epithelial cells (กำลังขยาย 2500 เท่า)

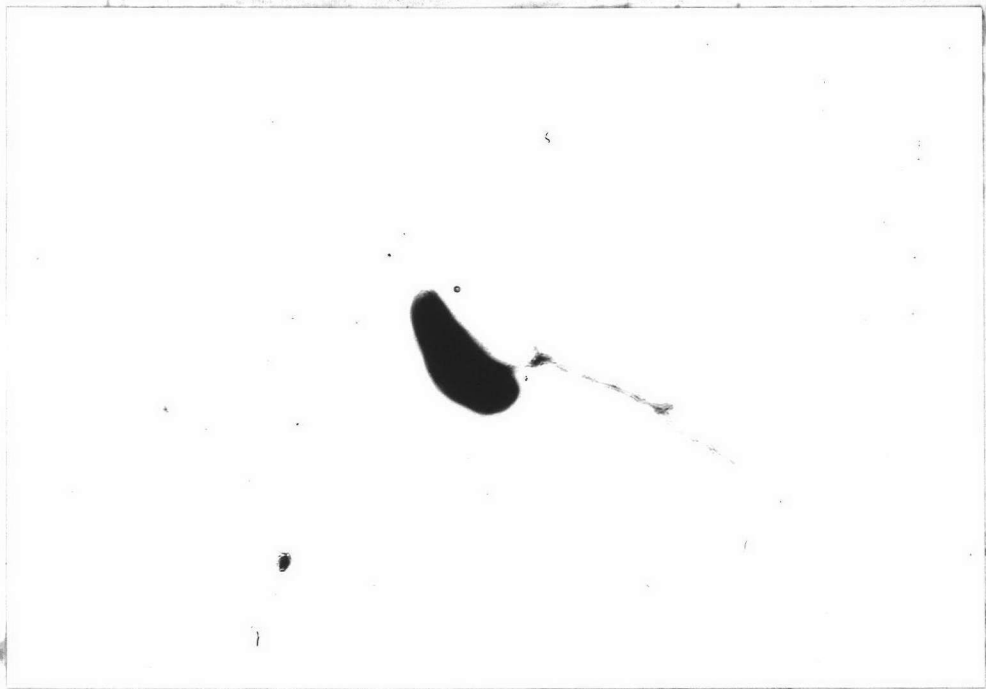


รูปที่ 4 การย้อมสีเฟลคเจลาของเชื้อ *Mobiluncus* ด้วยวิธีของ Ryus ภาย
กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 2500 เท่า)

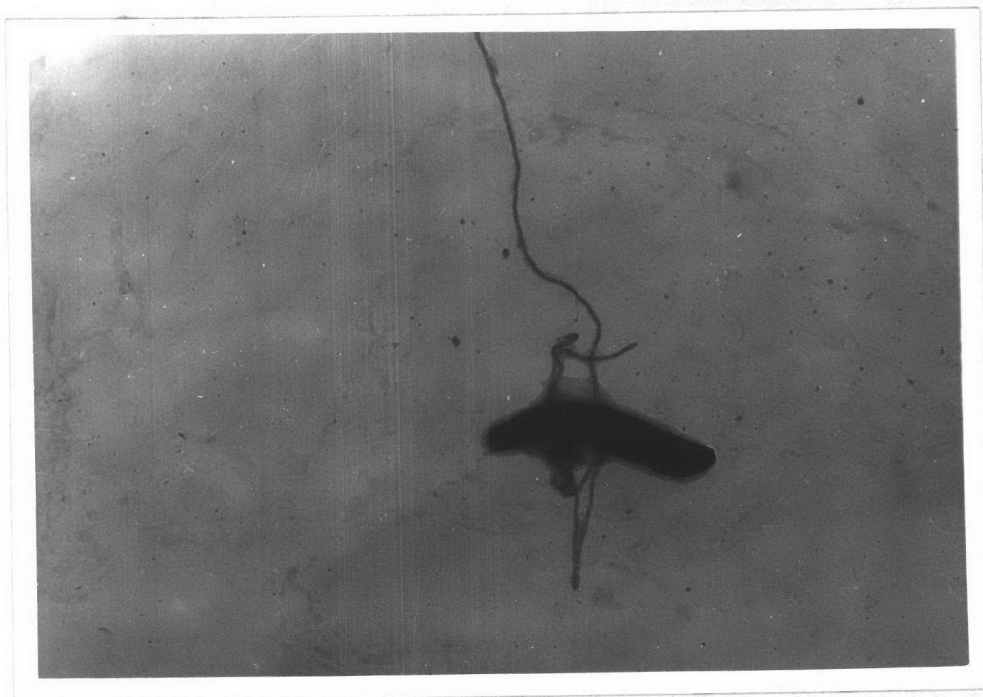


รูปที่ 5 การย้อม negative stain ของเชื้อ *Mobiluncus* และกู่ก้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (a) short curved rods กำลังขยาย 26000 เท่า (b) long curved rods กำลังขยาย 22300 เท่า

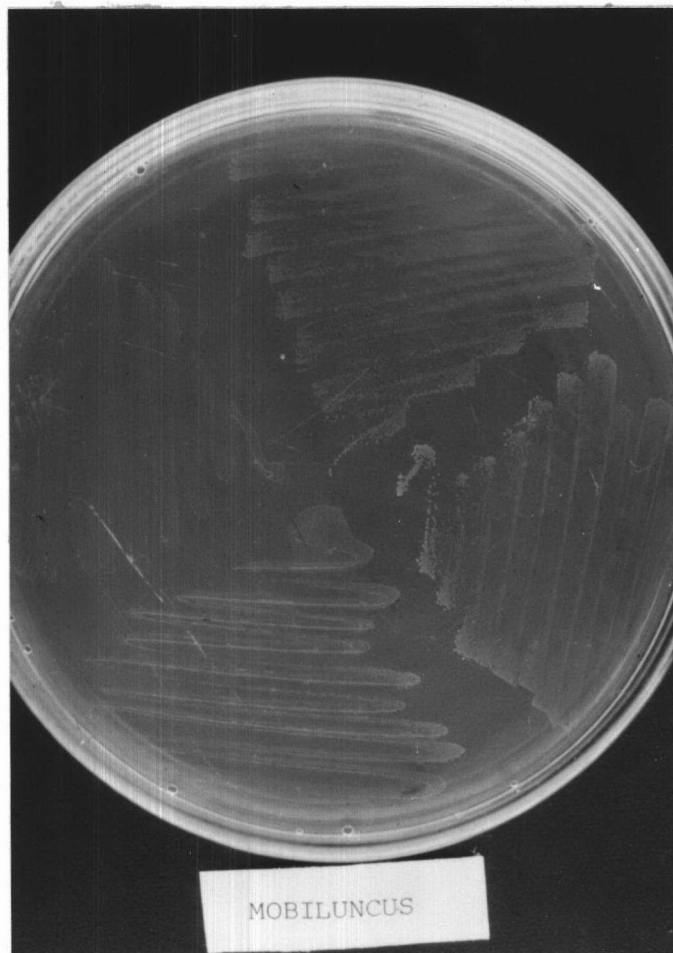
(a) short curve rods กำลังขยาย 26000 เท่า



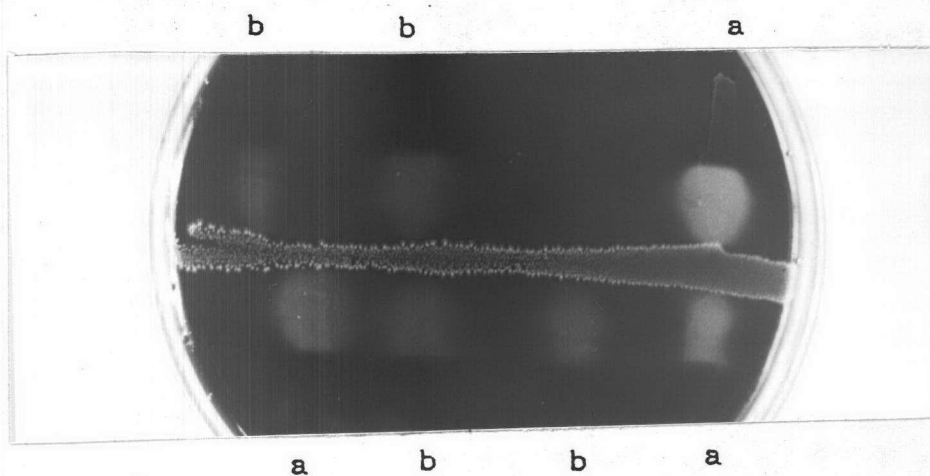
(b) long curved rods กำลังขยาย 22300 เท่า



รูปที่ 6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Mobiluncus* บน Columbia CNA agar ภาย
นาน 72 ชั่วโมง



รูปที่ 7 CAMP test โดยใช้ Columbia blood base ที่ใส่เลือดแกะ
ให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 4



a = long curved rods (LCR)

b = short curved rods (SCR)

ตารางที่ 9 แสดงช่วงอายุ (ปี), ระดับความเป็นกรดต่างของสิ่งคัดหลั่งหลังจากทดลองคลอตันผู้ป่วยทดลองคลอตันอีกเส้าที่พบเกิด *Mobiluncus* (จำนวน 24 สายพันธุ์)

ช่วง อายุ(ปี) / พ.18ข	≤3.8	4.1	4.2	4.4	4.6	4.8	5.1	5.4	5.8	6.1	6.2	6.4	6.7	≥7.0
15-20									1		1			
21-25								3	2		1			
26-30									5					
31-35									2		3			1
36-40									1					
41-50							1							
46-50									1					
>50									2					

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณของเชื้อ *Mobiluncus* ในอาหารเพาะเชื้อ Columbia CNA agar ซึ่งเก็บโดยวิธี direct plating และ modified Stuart's transport medium

วิธีการ	ปริมาณที่พบเชื้อ <i>Mobiluncus</i> ใน Columbia CNA agar				รวม
	1+	2+	3+	4+	
direct plating	6	4	1	1	12
modified Stuart's transport medium	3	2	0	0	5
2 วิธี	0	2	3	2	7
รวม	9	8	4	3	24

ตารางที่ 11 ปริมาณ (semiquantitative) ของเชื้อ *Gardnerella vaginalis* ใน HBT medium ที่สัมพันธ์กับการวินิจฉัยอาการช่องคลอดอักเสบแบบ non-specific vaginitis (NSV) จำนวน 275 ราย (เพาะเชื้อระหว่างเดือนเมษายน - ตุลาคม 2530)

การวินิจฉัย	จำนวน (%) ของหญิงที่เพาะเชื้อพบ <i>G. vaginalis</i>				
	0	1+	2+	3+	4+
NSV (n = 224)	156 (69.6)	13 (5.8)	6 (2.7)	30 (13.4)	19 (8.5)
No NSV (n = 51)	43 (84.3)	3 (5.9)	2 (3.9)	3 (5.9)	0 (0)

หมายเหตุ วิธีคำนวณผลลบได้ร่วมกับเชื้อ *Mobiluncus*

ตารางที่ 12 ปริมาณ (semiquantitative) ของ clue cell จากการดูสด (wet mount preparation) ที่สัมพันธ์กับการวินิจฉัยอาการช่องคลอดอักเสบแบบ non-specific vaginitis (NSV) จำนวน 275 ราย

การวินิจฉัย	จำนวน (%) ของหญิงที่พบ clue cell				
	0	1+	2+	3+	4+
NSV (n = 224)	152 (67.9)	43 (19.2)	27 (12.1)	2 (0.9)	0 (0)
No. NSV (n = 51)	49 (96.1)	2 (3.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ของ clue cell จากการดูสด (wet mount preparation) และการเพาะเชื้อ *G. vaginalis* จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และคนปกติ (จำนวน 76 สายพันธุ์)

เชื้อ (จำนวนสายพันธุ์)	จำนวน (%) ของหญิงที่พบ clue cell				
	0	1+	2+	3+	4+
<i>G. vaginalis</i> ของผู้ป่วย (68)	38 (55.9)	17 (25.0)	12 (17.7)	1 (1.5)	0 (0)
<i>G. vaginalis</i> ของคนปกติ (8)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

ตารางที่ 14 (ก) อุบัติการณ์ของเชื้อ *Mobiluncus* และ *G. vaginalis* ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non-specific vaginitis) และคนปกติโดยวิธีเพาะเชื้อ (culture)

พบเชื้อ	จำนวนผู้พบเชื้อ	
	คนปกติ (%) N = 51	ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (%) N = 224
<i>Mobiluncus</i>	0 (0)	17 (7.6)
<i>Mobiluncus</i> & <i>G. vaginalis</i>	0 (0)	7 (3.1)
<i>G. vaginalis</i>	8 (15.7)	61 (27.2)
ไม่พบเชื้อทั้ง 2 ชนิด	43 (84.3)	139 (62.1)
รวม	51 (100)	224 (100)

ตารางที่ 14 (ก) ความสัมพันธ์ของการพบเชื้อ *G. vaginalis* จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ และไม่พบเชื้อ *Mobiluncus*

ปริมาณของเชื้อ <i>G. vaginalis</i> ที่เพาะเชื้อได้	CR*				Difference (p)
	Isolated (N = 24)		Not Isolated (N = 200)		
	จำนวน	%	จำนวน	%	
0	17	70.8	139	69.5	p>0.05
1+	0	0	13	6.5	p>0.05
2+	1	4.2	5	2.5	p>0.05
3+	5	20.8	25	12.5	p>0.05
4+	1	4.2	18	9.0	p>0.05

CR* = curved rods.

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบการตรวจเชื้อ *Mobiluncus* ด้วยวิธีการย้อมแกรม (Gram stain) จากสิ่งคัดหลั่งกับการเพาะเชื้อ โคคัสศึกษาในตู้ปวย 224 ราย

		การเพาะเชื้อ <i>Mobiluncus</i> บน Columbia CNA agar		รวม
		+	-	
วิธีการย้อมแกรม	+	15	15	30
	-	9	185	194
รวม		24	200	224

ความไวของวิธีการย้อมแกรม (Sensitivity) = 62.50 %

ความเฉพาะของวิธีการย้อมแกรม (Specificity) = 92.50 %

เปอร์เซ็นต์ของการเป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อตรวจแกรมได้ผลบวก (predictive value of positive) = 50.00 %

เปอร์เซ็นต์ของการไม่เป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อตรวจแกรมได้ผลลบ (predictive value of negative) = 95.36 %

ตารางที่ 16 ผลเปรียบเทียบการดูสด (wet mount preparation) จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดกับการเพาะเชื้อ โดย
ศึกษาในผู้ป่วย 76 ราย

		การเพาะเชื้อ <i>Mobiluncus</i> บน Columbia CNA agar		รวม
		+	-	
วิธีการ ดูสด	+	2	23	25
	-	7	44	51
รวม		9	67	76

ความไวของวิธีการดูสด (Sensitivity) = 22.22 %

ความเฉพาะของวิธีการดูสด (Specificity) = 65.67 %

เปอร์เซ็นต์ของการเป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อดูสดได้ผลบวก (predictive value of positive) = 8.0 %

เปอร์เซ็นต์ของการไม่เป็นเชื้อ *Mobiluncus* เมื่อดูสดได้ผลลบ (predictive value of negative) = 86.27 %

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์และ Gas-Liquid Chromatographic pattern
(GLC pattern) ของ *Mobiluncus* (Long และ Short curved
rods) จำนวน 24 สายพันธุ์

น้ำตาล	Sign	ค่าเฉลี่ย %
Fermentation of :		
Adonitol	-	100 (24)
Arabinose	-	95.8 (23)
Fructose	-/+	83.3 (20)
Glucose	-	91.7 (22)
Inositol	-/+	87.5 (21)
Inulin	-	100 (24)
Lactose	-	91.7 (22)
Maltose	-/+	66.7 (16)
Mannitol	-	91.7 (22)
Mannose	-	91.7 (22)
Raffinose	-/+	87.5 (21)
Rhamnose	-	100 (24)
Salicin	-	100 (24)
Sucrose	-	91.7 (22)
Trehalose	-/+	75.0 (18)
Xylose	+/-	37.5 (9)
Nitrate reduction	-	91.7 (22)

+ = positive (> 90%); - = negative (> 90%); +/-, -/+ = variable

ตารางที่ 17 คุณสมบัติทางชีวเคมี และ Gas-Liquid Chromatographic pattern (GLC pattern) ของ *Mobiluncus* (Long และ Short curved rods) จำนวน 24 สายพันธุ์ (ต่อ)

การทดสอบ	Sign	ผลพบ %
Hippurate hydrolysis	-/+	70.8 (17)
Esculin hydrolysis	-	91.7 (22)
H ₂ S	-	100 (24)
Bile, 20%	-	100 (24)
Indole	-	100 (24)
Oxidase	-	100 (24)
Catalase	-	100 (24)
Motility	+	0 (0)
ONPG	-/+	70.8 (17)
Gelatin	-/+	87.5 (21)
Starch hydrolysis	+	0 (0)
CAMP TEST	+	0 (0)
GLC pattern		
Succinic â	17	+ 0 (0)
Succinic â, Lactic â	7	
Acetic â		+ 0 (0)

ตารางที่ 18 คุณสมบัติทางชีวเคมีและ Gas-Liquid Chromatographic (GLC) pattern ของ *Mobiluncus* โดยแยกเป็น Long curved rods (LCR) และ Short curved rods (SCR) ของผู้ป่าวงห้องทดลองคึกเสวน (LCR = 7 สายพันธุ์, SCR = 17 สายพันธุ์) และเก็บมาตรฐาน (LCR 8004 และ SCR ATCC 5242)

การทดสอบ	LCR (N=7)		LCR	SCR (N=17)		SCR
	Sign	ผลลบ %	8004	Sign	ผลลบ %	ATCC 5242
Fermentation of:						
Adonitol	-	100 (7)	+	-	100 (17)	-
Arabinose	-/+	85.7 (6)	-	-	100 (17)	-
Fructose	-/+	57.1 (4)	+	-	94.1 (16)	-
Glucose	-/+	71.4 (5)	-	-	100 (17)	-
Inositol	-/+	57.1 (4)	+	-	100 (17)	-
Inulin	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Lactose	-/+	85.7 (6)	+	-	94.1 (16)	-
Maltose	+/-	28.6 (2)	+	-/+	82.4 (14)	-
Mannitol	-/+	71.4 (5)	-	-	100 (17)	-
Mannose	-/+	85.7 (6)	-/+	-	94.1 (16)	-
Raffinose	-	100 (7)	+	-/+	82.4 (14)	-
Rhamnose	-	100 (7)	-/+	-	100 (17)	-
Salicin	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Sucrose	-/+	71.4 (5)	+	-	100 (17)	-
Trehalose	-/+	71.4 (5)	-	-/+	76.5 (13)	-
Xylose	+/-	42.9 (3)	+	+/-	35.3 (6)	-
Nitrate reduction	-/+	85.7 (6)	-	-	94.1 (16)	-

ตารางที่ 18 คุณสมบัติทางชีวเคมีและ Gas-Liquid Chromatographic (GLC) pattern ของ *Mobiluncus* โดยแยกเป็น Long curved rods (LCR) และ Short curved rods (SCR) ของผู้ป่วยท้องคลอติดักเส้า (LCR = 7 สายพันธุ์, SCR = 17 สายพันธุ์) และเก็บมาตรฐาน (LCR 8004 และ SCR ATCC 5242) (ต่อ)

การทดสอบ	LCR (N=7)		LCR 8004	SCR (N=17)		SCR ATCC 5242
	Sign	ผลลบ %		Sign	ผลลบ %	
Hippurate hydrolysis	-	100 (7)	-	+	0 (0)	+
Esculin hydrolysis	-/+	71.4 (5)	-	-	100 (17)	-
H ₂ S	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Bile, 20%	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Indole	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Oxidase	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Catalase	-	100 (7)	-	-	100 (17)	-
Motility	+	0 (0)	+	+	0 (0)	+
ONPG	-	100 (7)	-	+	0 (0)	+
Gelatin	-/+	71.4 (5)	-	-	94.1 (16)	-
Starch hydrolysis	+	0 (0)	+	+	0 (0)	+
CAMP TEST	+(st)	0 (0)	+(st)	+(m)	0 (0)	+(m)
GLC pattern						
Succinic â	+	0 (0)	+	10	} + 7	+
Succinic â & Lactic â				7		
Acetic â	+	0 (0)	+		0 (0)	+

หมายเหตุ st = strong hemolysis zone
m = mild hemolysis zone
NG = No growth

ตารางที่ 19 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Mobiluncus* ได้ร้อยละ 50 และร้อยละ 90 (MIC_{50} , MIC_{90})

ชนิดยาปฏิชีวนะ	เชื้อ	ความเข้มข้นยับยั้งระหว่าง ($\mu\text{g/ml}$)	ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะ	
			MIC_{50}	MIC_{90}
Tetracycline	CR ¹ (24 สายพันธุ์)	16-64	24.93	50.56
	LCR ² (7 สายพันธุ์)	16-64	22.63	50.21
	SCR ³ (17 สายพันธุ์)	16-64	25.63	50.56
Ampicillin	CR (24 สายพันธุ์)	0.0156-0.25	0.09	0.12
	LCR (7 สายพันธุ์)	0.0156-0.25	0.08	0.12
	SCR (17 สายพันธุ์)	0.0625-0.25	0.09	0.12
Metronidazole	CR (24 สายพันธุ์)	2 - >256	48.50	200.85
	LCR (7 สายพันธุ์)	2 - >256	53.82	315.17
	SCR (17 สายพันธุ์)	32 - 256	45.25	172.45

CR¹ = curved rods
 LCR² = long curved rods
 SCR³ = short curved rods

ตารางที่ 20 ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *G. vaginalis* ได้ร้อยละ 50 และร้อยละ 90 (MIC₅₀, MIC₉₀)

ชนิดยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นยับยั้งระหว่าง ($\mu\text{g/ml}$)	ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะ	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀
Tetracycline	< 0.00097 - 128	0.42	49.45
Ampicillin	< 0.00097 - 1	0.09	0.40
Metronidazole	0.00195 - > 128	0.41	151.17