บทที่ 2

การสำรวจเอกสาร

1. ประวัติ

U.urealyticum พบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1954 โดย Shepard[2] เพาะได้จากท่อปัสสาวะของผู้ป่วยชายที่เป็นโรค NGU โคโลนีบนอาหารแข็งมีขนาดเล็กมาก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15-60 um. ต้องส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เชื้อนี้ต้องการ urea ในการเจริญเติบโต สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญต้องอยู่ใน pH 5.5-6.0[41,42,43,44] ให้ชื่อเชื้อที่พบว่า T-mycoplasma (T=Tiny) ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1974 Shepard และคณะ[45] ให้ชื่อเป็น genus *Ureaplasma*

Ureaplasma เป็นแบคทีเรียที่มีขนาดเล็กที่สุดที่สามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเซลล์ที่มีชีวิต จัดอยู่ในพวกแบคทีเรียแกรมลบ ต่างจากแบคทีเรียอื่น คือ ไม่มีผนังเซลล์ ส่วนประกอบอื่นๆ ส่วนใหญ่เหมือนกับแบคทีเรียทั่วไป คือ มี plasma membrane, ribosome และ double strand DNA ตาม Taxonomy[46] จัดอยู่ใน

Class : Mollicutes

Order : Mycoplasmatales

Family : Mycoplasmataceae

Genus : *Ureaplasma*

2. ลักษณะรูปร่างและคุณสมบัติทั่วไป

U.urealyticum เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีขนาดเล็กมากมีรูปร่างหลายแบบ (pleomorphic) รูปกลมจะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.25 -1.0 um หรือรูปร่างเป็นเส้นสาย หนา 0.2-0.4 um ยาว 100 um เนื่องจากเซลล์มีขนาดเล็กจึงสามารถผ่านรูกระดาษกรองขนาด 0.45 um ได้ เพิ่มจำนวน โดยการแบ่งตัวเป็นสอง (Binary fission) การแตกหน่อ (budding) คล้ายยีสต์ หรือสร้าง elementary bodies ซึ่งเกิดโดยการแตกหัก (fragmentation) ของ filamentous cell และมี urease enzyme ใช้ในการย่อยสลาย urea เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต[47,48]

สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ต้อง enriched ด้วยซีรั่ม (ห้ามใช้ความร้อนหรือ inactivated serum เนื่องจากกรด panthothenic ซึ่งเป็นที่ต้องการจะถูกทำลาย ปกติจะใช้ normal horse serum) เนื่องจากเชื้อต้องการคลอเลสเตอรอล และไลปิดในการเจริญ ต้องการอาหารเสริมบางชนิดได้แก่ yeast extract, วิตามิน และที่สำคัญต้องการ urea[49] *U.urealyticum* ต้องการอาหารที่มี pH ต่ำ อยู่ในช่วง 6.0±0.5 เชื้อสามารถเจริญได้ทั้งภาวะ aerobic และ anaerobic แต่จะเจริญได้ดีในสภาวะที่มี 5-10% CO_2 ที่อุณหภูมิ 37°C โคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ A7B agar[50,51] มีขนาดเล็กมาก ต้องส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (x40) จึงจะเห็นโคโลนีมีสีน้ำตาลเข้ม เนื่องจากปฏิกิริยาของ urea-manganese reagent ทำให้เกิดตะกอนสีน้ำตาลเข้มของ Manganese dioxide บนโคโลนีของ *U.urealyticum* ซึ่งจะแตกต่างจากเชื้อ *Mycoplasma species* อื่นๆ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของ *Ureaplasma*

property	Result or Reaction
Cells are spherical to ovoid; filamentous forms are rare	+
Cell diameter	
Range, nm	100 - 850
Average	330
Colony diameter, um	15-60
Grow best in 5-15% CO_2 in air, N_2 or H_2	+
Optimum pH[b]	6.0±0.5
Usually not more than 10^4 viable cells per ml produced in broth cultures	+
Genome size, daltons[d]	$4.1-4.8 \times 10^8$
Mol% G+ C of DNA (Bd)[d,e]	26.9-30.2
Optimum temperature, °C	37
Cholesterol required for growth[f]	+
Enzyme activity:	
Urease[g]	+
Arginine deiminase[h]	-
Aminopeptidase[i]	+
Esterase[i]	+
α-Glycerophosphate dehydrogenase[i]	+
L-Histidine ammonia-lyase[k]	+
Malate dehydrogenase[i]	+
Lactate dehydrogenase[i]	-
Adenosine triphosphatase (ATPase)	+
Ribonuclease (RNase)[t]	+
Deoxyribonuclease (DNase)[t]	+
Phosphatase[m]	+

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของ *Ureaplasma* (ต่อ)

property	Result or Reaction
Catalase[n]	-
Proteolytic activity[o]	+
Fermentation of carbohydrates	-[p]
Hemolysis of erythrocytes[q]	+
Hemadsorption of erythrocytes[r]	+[s]
Sensitive to thallous acetate[n]	+
Sensitive to lincomycin	-
Tetrazolium reduction	-

[a]Symbols: see standard definitions.

[b]Shepard and Lunceford (1965).

[c]Firmess (1975).

[d]Black et al. (1972b).

[e]Howard et al. (1974).

[f]Rottem et al. (1971).

[g]Shepard and Lunceford (1967).

[h]Woodson et al. (1965).

[i]Vinther and Black (1974).

[j]Delisle (1977).

[k]Ajelli et al. (1977).

[l]Romano and La Licata (1978).

[m]Black (1973b).

[n]Shepard et al. (1974).

[o]Watanabe et al. (1973).

[p]Hexokinase-negative.

[q]Manchee and Taylor-Robinson (1970).

[r]Manchee and Taylor-Robinson (1969).

[s]Only human serovar 3 and squirrel monkey ureaplasmas are positive.

[t]About 10% of human strains are resistant to tetracyclines (Evans and Taylor-Robinson,

3. โครงสร้างแอนติเจน

แอนติเจนที่สำคัญเป็นสารไลปิดซึ่งอยู่ในเซลล์เมมเบรน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพวกฟอสโฟไลปิด, กลัยโคไลปิด และคลอเรสเตอรอล เนื่องจากเชื้อนี้ไม่มีผนังเซลล์ ส่วนที่หุ้มเซลล์เป็น plasma membrane ซึ่งเป็นเยื่อเพียงชั้นเดียวประกอบด้วยโปรตีน 2 ใน 3 ของน้ำหนัก membrane และไลปิด 25-35% ของน้ำหนัก membrane ที่ทำให้แห้งแล้ว[52,53] สารไลปิดของ *U. urealyticum* มีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างเป็น type-specific ซึ่งปัจจุบันพบว่ามี 14 ซีโรทัยป์[20,54] สามารถตรวจหาซีโรทัยป์ได้หลายวิธี เช่น Metabolism inhibition (MI)[55,56] Growth inhibition (GI)[32], Indirect Immunofluorescence (IF)[57] และ Immunoperoxidase (IP)[58] เป็นต้น

มีรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนในเชื้อ *U.urealyticum* 14 ซีโรทัยป์ โดยวิธี DNA-DNA hybridization ด้วยการตัด DNA ด้วยเอ็นซัยม์ endonuclease และแยกโปรตีนภายในเซลล์ด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis พบว่าสามารถแบ่ง *U.urealyticum* ทั้ง 14 ซีโรทัยป์ออกได้เป็น 2 กลุ่ม ซึ่งแสดงโครโมโซมของ *U.urealyticum* กลุ่มแรกประกอบด้วยซีโรทัยป์ 1, 3, 6, 13, 14 กลุ่มที่สองประกอบด้วยซีโรทัยป์ 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, และ 12[20,59]

มีรายงานสนับสนุนการแบ่ง *U.urealyticum* ออกเป็น 2 กลุ่ม ของ Robertson โดย Mouches และคณะ[60] พบว่าจากการวิเคราะห์โปรตีนของ *U.urealyticum* ด้วยวิธี Polyacrylamide slab gel สามารถแบ่งเชื้อได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม A และกลุ่ม B ทั้ง 2 กลุ่มนี้ประกอบด้วยรูปแบบของโปรตีนที่คล้ายคลึงกัน

4. แหล่งพบเชื้อตามธรรมชาติ

U.urealyticum พบได้ทั้งในคนและสัตว์ แต่ species ที่พบในคนจะมี G+C content แตกต่างจากสัตว์ ถึงแม้ว่าจะมีคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์ที่คล้ายคลึงกันก็ตาม G+C content ของ *Ureaplasma* ที่พบในคนเท่ากับ 26.9-28.0 moles% ส่วนที่พบในสัตว์ เช่น วัว เท่ากับ 28.7-30.2 moles%[47]

ในคนสามารถตรวจพบเชื้อ *U.urealyticum* ได้จากท่อปัสสาวะ, น้ำอสุจิ, ช่องคลอด, คอมดลูก, ท่อทางเดินรังไข่, ทวารหนัก, เลือด, คอ และปาก เป็นต้น

5. ระบาดวิทยาของเชื้อ

U.urealyticum พบได้ตั้งแต่ทารกแรกคลอดจนถึงผู้ใหญ่ การตรวจพบเชื้อได้ในทารกแรกคลอดนั้น ทารกที่คลอดจากช่องคลอดของมารดาจะพบเชื้อได้มากกว่าทารกที่คลอดโดยการผ่าตัด[81] บริเวณที่พบเชื้อในเด็กคือ คอ พบ *U.urealyticum* ประมาณ 10% และจากช่องคลอดของทารกเพศหญิงพบประมาณ 23% ส่วนในท่อปัสสาวะของชายจะพบประมาณ 7%[82] ตรวจพบเชื้อมากขึ้นในกลุ่มที่มีเพศสัมพันธ์โดยเฉพาะในกลุ่มอายุ 30-40 ปี

Coufalik และคณะ[13] (1979) รายงานว่า *U.urealyticum* จากท่อปัสสาวะของผู้ชายสามารถหายไปเองได้โดยธรรมชาติ แต่เชื้อนี้ยังคงพบอยู่ได้ในชายที่ไม่มีเพศสัมพันธ์เป็นเวลาอย่างน้อยที่สุดหนึ่งปี[83] Viarengo และคณะ[84] (1980) ศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ *U.urealyticum* ในชายปกติที่ยังไม่มีคู่จำนวน 19 คน โดยตรวจหาเชื้อทุกสัปดาห์ติดต่อกันเป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่า 1 ใน 3 ของชายที่ทำการศึกษามีเชื้อ *U.urealyticum* อยู่ประจำในท่อปัสสาวะ นอกจากนี้การสำรวจดูในระหว่างคู่สมรส พบว่ามีการ

ติดเชื้อถ่ายทอดสู่กันได้

6. การก่อให้เกิดโรค

U.urealyticum จะดูดซับติดกับผิวหน้าของเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และเพิ่มจำนวนขึ้นที่บริเวณนั้น[65] Stalheim และคณะ[66] (1976) ศึกษาผลการเจริญของ *U.urealyticum* ภายในท่อรังไข่ของวัว พบว่าเอ็นซัยม์ Urease เป็นตัวการทำให้เกิดแอมโมเนียมอิออน ซึ่งเป็นผลให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดการตายของเซลล์ (Cytonecrosis) และยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Cilia (ciliostasis) จากลักษณะที่ศึกษาพบทำให้สามารถอธิบายการก่อให้เกิดโรคท่อปัสสาวะอักเสบของเชื้อ *U. urealyticum* ได้

มีรายงานการศึกษาสนับสนุนบทบาทในการก่อให้เกิดโรค NGU ของเชื้อ *U.urealyticum* มากมายภายหลังจาก Shepard[2] (1954) พบเชื้อนี้จากท่อปัสสาวะชายที่เป็นโรค NGU

Shepard และคณะ[67,68] รวบรวมลักษณะและคุณสมบัติของเชื้อที่พบว่าเป็นเชื้อที่มีขนาดเล็กมากขึ้นได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 6.0 $\pm$ 0.5 และมีเอ็นซัยม์ urease ย่อย urea ได้ และสรุปว่าเชื้อที่พบนี้เป็นสาเหตุในการก่อให้เกิดโรคทางเพศสัมพันธ์

Csonka และคณะ[69] (1969) ศึกษาในผู้ป่วย NGU 51 ราย พบ *U.urealyticum 41* ราย (80%) ในผู้ป่วย NGU ที่เคยเป็น GU 24 ราย พบเชื้อ 17 ราย (71%) ในผู้ป่วย GU 100 ราย พบเชื้อ 30 ราย (30%) ในกลุ่มคนปรกติ 21 ราย พบเชื้อ 5 ราย (24%)

Shepard[5] (1970) ศึกษาในผู้ป่วย NGU 38 ราย พบเชื้อ 20 ราย (53%) และในกลุ่มผู้ป่วย NGU ซึ่งไม่ได้รับยามาก่อนทำการเพาะเชื้อ 60 วัน จำนวน 15 ราย พบเชื้อ 14 ราย (93%)

จากอัตราของเชื้อ *U.urealyticum* ที่พบค่อนข้างสูงในผู้ป่วย NGU แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *U.urealyticum* น่าจะมีความสัมพันธ์ในการก่อให้เกิดโรค NGU

Taylor-Robinson และคณะ[70] (1981) ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการพบเชื้อจากชายที่เป็นโรค NGU และไม่ได้เป็นโรคพบว่าตรวจพบเชื้อได้บ่อยครั้งในชายที่เป็นโรค NGU มากกว่าชายที่ไม่เป็นโรค แต่ในทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษานี้ให้ผลเช่นเดียวกับรายงานอื่นๆ[8,34,71] ที่ศึกษาอัตราการพบ *U.urealyticum* ในกลุ่มของผู้ชาย โดยมีการจัดกลุ่มอายุของตัวอย่างที่จะทำการศึกษา และประสบการณ์ในการมีเพศสัมพันธ์ พบว่าในกลุ่มอายุก่อนวัยเจริญพันธุ์ และผู้ที่ไม่เคยมีเพศสัมพันธ์มาก่อนจะพบเชื้อในอัตราที่น้อยกว่ากลุ่มที่มีช่วงอายุระหว่าง 30-40 ปี และมีเพศสัมพันธ์มาแล้ว อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้ไม่ให้ผลเป็นที่แน่ชัดเกี่ยวกับบทบาทในการก่อให้เกิดโรค NGU ของ *U.urealyticum*

นอกจากก่อให้เกิดโรค NGU ได้ *U.urealyticum* ยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของการตั้งครรภ์และของทารก Grenabo และคณะ[72] (1988) ศึกษาบทบาทของ *U.urealyticum* ในการก่อให้เกิดโรคนิ่ว ด้วยการบ่มปัสสาวะที่สังเคราะห์ขึ้นมากับ *U.urealyticum* พบว่าทำให้ปัสสาวะมีสภาวะเป็นด่างและสร้างเลกขึ้นในปัสสาวะได้ เมื่อทดลองฉีดเชื้อนี้เข้าไปในกระเพาะปัสสาวะของหนู สามารถทำให้เกิดก้อนนิ่วได้ประมาณ 84% ของหนูที่ใช้ทดลอง จึงเป็นที่น่าสังเกตว่า *U.urealyticum* ก่อให้เกิดโรคนิ่วในคนได้

7. ความสัมพันธ์ระหว่างซีโรทัยป์ของเชื้อกับโรค NGU

บทบาทในการก่อให้เกิดโรคของ *U.urealyticum* จากรายงานการศึกษาต่างๆยังไม่เป็นที่แน่ชัด มีข้อขัดแย้งและโต้เถียงกันมาก นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับซีโรทัยป์ของ *U.urealyticum* ซึ่งปัจจุบันพบว่ามีถึง 14 ซีโรทัยป์ เพื่อดูว่าซีโรทัยป์ใดมีความสัมพันธ์ในการก่อให้เกิดโรคได้บ้าง

Black[73] (1970) ใช้วิธี IF และ GI ศึกษาซีโรทัยป์ของ *U.urealyticum* ที่แยกได้ จากผู้ป่วยโรค NGU พบว่ามีอย่างน้อย 7 ซีโรทัยป์ มี 2 รายที่ไม่สามารถหาซีโรทัยป์ได้จากการศึกษาของ Black ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าซีโรทัยป์ใดมีความสัมพันธ์ในการก่อโรค NGU เช่นเดียวกับ Piot[34] (1976) ศึกษาการการะจายของ *U.urealyticum* ทั้ง 8 ซีโรทัยป์ในผู้ป่วยโรค NGU, GU และคนปกติ ไม่พบว่าซีโรทัยป์มีความสัมพันธ์เด่นชัดในการก่อให้เกิดโรคแต่จากการศึกษาของ Shepard และคณะ[33] (1978) พบว่าในผู้ป่วยชายที่ป่วยด้วยโรค NGU ซึ่งตรวจพบ *U.urealyticum* จำนวน 122 สายพันธุ์ เป็นซีโรทัยป์ 4 มากที่สุดประมาณ 52% ซีโรทัยป์ 2 17% นอกจากนี้พบซีโรทัยป์ 1, 3, 6 และ 8 อีกอย่างละ 6-9% ไม่พบซีโรทัยป์ 5 และ 7 สำหรับในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ใช่ NGU พบเชื้อ 91 สายพันธุ์ เป็นซีโรทัยป์ 4 37% นอกนั้นพบซีโรทัยป์ 1, 2, 3, 6, 7 และ 8 อย่างละ 9-15% ไม่พบซีโรทัยป์ 5 ส่วนในกลุ่มคนปกติพบเชื้อ 125 สายพันธุ์ เป็นซีโรทัยป์ 1, 2, 3, 5 และ 6 อย่างละประมาณ 24% นอกจากนั้นพบซีโรทัยป์ 7 จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า ซีโรทัยป์ 4 มีความสัมพันธ์กับโรค NGU มากกว่าซีโรทัยป์อื่น

Cracea และคณะ[34] (1985) ศึกษาหาซีโรทัยป์ของ *U.urealyticum* ในผู้ป่วยโรค NGU, GU และกลุ่มผู้ชายที่ไม่มีอาการ พบว่าซีโรทัยป์ 4 มีความสัมพันธ์กับโรค NGU เช่นเดียวกัน โดยพบมากถึง 57.7% จากผู้ป่วยที่พบเชื้อจำนวน 122 สายพันธุ์

จากการศึกษาของ Quinn และคณะ[74,75] (1983) พบว่าจากการตรวจหาระดับแอนติบอดีในมารดาที่แท้งบุตร และในทารกที่เป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ ตรวจพบซีโรทัยป์ 4, 6, 7 และ 8 ดังนั้นซีโรทัยป์ทั้ง 4 ที่พบน่าจะมีความสัมพันธ์ในการก่อให้เกิดโรคได้

8. การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

ทำได้โดยการเก็บสิ่งส่งตรวจจากตำแหน่งที่เกิดโรค เช่น ป้ายหนองจากท่อปัสสาวะ, ปัสสาวะส่วนกลาง เพาะเชื้อทันทีลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ A7B agar[51] และ U9 broth[10] อบไว้ใน Candle jar ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชม. วิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อจะได้กล่าวในบทต่อไป

ในกรณีที่ไม่สามารถเพาะเชื้อได้ทันที ควรเก็บสิ่งส่งตรวจใส่ใน Transport media[76,77] เก็บไว้ที่ -20°C จนกว่าจะนำส่งแต่ไม่ควรเกิน 14 วัน

หลังจากพบ *U.urealyticum* ซึ่งเพาะได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยโคโลนีมีขนาดเล็กมากจนได้ชื่อว่า T-mycoplasma ต่อมามีการศึกษาปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Ureaplasma*[78,79,80] ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อ *U.urealyticum* ได้ดีขึ้น