การชักนำให้เกิดการดื้อยาใน Trichomonas vaginalis

นางสาวรุจิรัตน์ ศิลารัตน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2526

ISBN 974-562-638-4

011266

I 17130074

Induction of the Drug Resistance of *Trichomonas vaginalis*

Miss Ruchiratana Silaratana

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Zoology

Graduate School

Chulalongkorn University

1983

ISBN 974-562-638-4

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การชักนำให้เกิดการดื้อยาใน Trichomonas vaginalis
โดย	นางสาวรุจิรัตน์ ศิลารัตน์
ภาควิชา	ชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์สดศรี ไทยทอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ. ธาดา สืบหลินวงศ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. ม. ร. ว. พูนพิศ วราวุฒิ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์สดศรี ไทยทอง)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ. ธาดา สืบหลินวงศ์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์นัยนา ชัยบุตร)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การชักนำให้เกิดการดื้อยาใน *Trichomonas vaginalis*
ชื่อนิสิต	นางสาวรุจิรัตน์ ศิลารัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์สดศรี ไทยทอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ.ธาดา สืบหลินวงศ์
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2525

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การทดลองชักนำเพื่อให้ *Trichomonas vaginalis* เกิดการดื้อยานั้นทำเพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ของสมมุติฐานที่ว่า ความล้มเหลวในการรักษาโรคทริโคโมนิเอซิสในผู้ป่วยอาจเกิดจากการที่ *T. vaginalis* สามารถต้านทานหรือดื้อต่อยาที่ใช้รักษาได้ การศึกษาโดยนำ *T. vaginalis* สายพันธุ์ที่ 18, 23, และ 29 จากห้องปฏิบัติการปรสิตวิทยา ภาควิชาชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แต่ละสายพันธุ์จำนวน 1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ CPLM-NA ซึ่งมียาเมโทรไนดาโซลและทินิดาโซลขนาดซับลีทัลความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นระยะเวลา 30 วันติดต่อกัน แล้วเพิ่มความเข้มข้นของยาทั้งสองขึ้นเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรอีก 30 วัน รวมเวลาสัมผัสยาทั้งสิ้น 60 วันโดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมยาทุก 2 วัน ทดสอบการเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลและทินิดาโซลเมื่อเชื้อปรสิตทั้งสามสายพันธุ์ได้สัมผัสกับยาที่ระยะเวลา 20, 30, 50 และ 60 วัน โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งถูกเพาะเลี้ยงมาพร้อมกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ CPLM-NA ที่ปราศจากยา ผลการทดลองพบว่า *T. vaginalis* ทั้งสามสายพันธุ์มีระดับความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลและทินิดาโซลลดลงภายหลังจากที่ได้สัมผัสกับยาทั้งสองในขนาดซับลีทัลต่อเนื่องกันเป็นเวลา 50 วัน และ 60 วัน สายพันธุ์ที่ 23 มีระดับความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลลดลงต่ำกว่าสายพันธุ์ที่ 18, 29 และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วงเวลาที่เท่ากัน ระดับความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลในเชื้อปรสิตทั้งสามสายพันธุ์จะถูกชักนำให้ลดต่ำลงได้มากกว่าระดับความไวต่อยาทินิดาโซล และการดื้อยาของ *T. vaginalis* ในการทดลองนี้ไม่เปลี่ยนแปลง

ระดับความไวต่อยา อยู่ได้นานถึง 2 เดือน ซึ่งเป็นไปได้ว่า T. vaginalis อาจถูกชักนำให้ดื้อยาที่ใช้รักษาได้

Thesis Title	Induction of the Drug Resistance of *Trichomonas vaginalis*
Name	Miss Ruchiratana Silaratana
Thesis Adviser	Associate Professor Sodsri Thaitong
	Dr. Tada Sueblinvong, MD
Department	Biology
Academic Year	1982

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abstract

The induction of *Trichomonas vaginalis* to become drug resisted experimentally was designed to study a hypothesis that the failure in the treatment of trichomonal patients might due possibly to the acquired drug resistant *T. vaginalis*. The study was carried out by selecting *T. vaginalis* clone No. 18, 23 and 29 from the Parasitology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, each clone with 1×10^4 cells/millilitre for in vitro culture using CPLM-NA which contained the sublethal dose of metronidazole and tinidazole. The parasites were exposed to 0.015 ug/ml. of the drugs for 30 days then the concentration of both drugs was increased to 0.02 ug/ml. for another 30 days. Subculture was done every two days. Sensitivity to both drugs was tested in three clones at 20, 30, 50 and 60 days after the drug induction. The results showed that the sensitivity of all three clones of *T. vaginalis* to metronidazole and tinidazole was diminished after the parasites exposure to both drugs for 50 and 60 days long. The decrease in sensitivity to the tested drugs was lowest with statistically significance in

the clone No. 23 as compared to No. 18, 29 and the controls. besides, for the same length of experimental induction time, the decrease in sensitivity to metronidazole in these three clones was easier achieved than to tinidazole and the resistance remained for 2 months. It was then possible to conclude that T. vaginalis was inducible to acquire the drugs resistance.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยความกรุณาของ รองศาสตราจารย์สดศรี ไทยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ.ธาดา สืบหลินวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณมหวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องตั้งแต่แรกเริ่มจนประสบผลสำเร็จ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย และขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พูนพงศ์ วราวุฒิ รองศาสตราจารย์นันยา ชัยบุตร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องจนวิทยานิพนธ์สำเร็จลงด้วยดี

ขอขอบคุณอาจารย์มาลินี ฉัตรมงคลกุล ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือในด้านต่างๆด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณ คุณเสรี ศุภรโยธิน ที่ได้ให้ความกรุณาจัดหาซีรัมตลอดการทดลองนี้

ขอขอบคุณ คุณนคร จงวิทูกิจ คุณชนิดา ตั้งมหันธนะกุล คุณจิรายุ คุณคัทลียา และคุณปริญดา ศิลารัตน์ ที่ได้กรุณาช่วยพิมพ์และจัดเตรียมวิทยานิพนธ์นี้จนสำเร็จด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณสายใจ เพชรพิเชษฐกุล และคุณอรอนงค์ ทองปั้น ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัยที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณทุนการศึกษาพระมหิตลาธเบศร อดุลยเดชวิกรม พระบรมราชชนก ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

รายการตารางประกอบ ..... ญ

รายการรูปประกอบ ..... ฏ

รายการกราฟประกอบ ..... ฐ

บทที่

1. บทนำ 1
2. สอบส่วนเอกสาร 6
3. อุปกรณ์ในการทดลอง 14
4. การดำเนินการทดลอง 17
5. ผลการทดลอง 31
6. วิจารณ์ 62
7. สรุปผลการทดลอง 67

เอกสารอ้างอิง 68

ประวัติ 77

รายการตารางประกอบ

		หน้า
ตารางที่ 1	การเตรียมสารละลายตามลำดับขั้นของยาเมโทรไนดาโซล และยาทินิดาโซล	24
ตารางที่ 2	แสดงอัตราการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 เริ่มต้นการทดลองที่ 1 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรที่เวลา 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง	32
ตารางที่ 3	แสดงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซลที่สามารถยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ที่ 48 ชั่วโมง	32
ตารางที่ 4	แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังการชักนำให้เกิดการดื้อยาเมโทรไนดาโซล เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ...	35
ตารางที่ 5	แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาทินิดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังจากการชักนำให้เกิดการดื้อต่อยาทินิดาโซล เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม...	42
ตารางที่ 6	แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ทุก ๆ 2 วัน ในระหว่างการชักนำให้เกิดการดื้อยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซลที่ความเข้มข้น 0.015 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับกลุ่มควบคุม	47
ตารางที่ 7	แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ทุก ๆ 2 วัน ในระหว่างการชักนำให้เกิดการดื้อยาเมโทรไนดาโซล และยาทินิดาโซลที่ความเข้มข้นของยาเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับควบคุม	48

หน้า

ตารางที่ 8 แสดงค่า T ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า T จากตาราง ในการทดสอบผลของยาเมโทรไนดาโซลต่อการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในระหว่างการชักนำ 56

ตารางที่ 9 แสดงค่า T ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า T จากตาราง ในการทดสอบผลของยาทินิดาโซลต่อการเพิ่มจำนวน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ในระหว่างการชักนำ 56

ตารางที่ 10 แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาเมโทรไนดาโซลที่ 24 ชั่วโมง ของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ภายหลังการชักนำที่ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของเมโทรไนดาโซล แล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 57

ตารางที่ 11 แสดงค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า x^2 จากตาราง ในการเปรียบเทียบความไวต่อยาของการทดลอง M_3 & M_3^* และ M_4 & M_4^* ใน T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 .. 58

ตารางที่ 12 แสดงผลการทดสอบความไวต่อยาทินิดาโซลที่ 24 ชั่วโมงของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18,23 และ 29 ภายหลังการชักนำด้วยยาทินิดาโซล 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเพาะเลี้ยงต่อมาอีก 2 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 60

ตารางที่ 13 แสดงค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับค่า x^2 จากตาราง ในการเปรียบเทียบความไวต่อยาของการทดลอง T_3&T_3^* และ T_4&T_4^* ในสายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 60

รายการรูปประกอบ

		หน้า
รูปที่ 1	แสดงไดอะแกรมของ Trichomonas vaginalis	5
รูปที่ 2	แสดงสูตรโครงสร้างของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล	13
รูปที่ 3	แสดงแซมเบอร์ของฮีโมซัยโตมิเตอร์	21

รายการกราฟประกอบ

		หน้า
กราฟที่ 1	แสดงอัตราการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18, 23 และ 29 ทุกๆ 12 ชั่วโมงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	33
กราฟที่ 2	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเมโทรไยดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	36
กราฟที่ 3	แสดงการเปลี่ยแปลงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	37
กราฟที่ 4	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาเมโทรไนดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	38
กราฟที่ 5	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาทินิดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	43
กราฟที่ 6	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาทินิดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	44
กราฟที่ 7	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาทินิดาโซลในการยับยั้งการเจริญของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ที่ผ่านการชักนำแล้วเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	45
กราฟที่ 8	แสดงการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 18 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.015 และ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล	49

หน้า

กราฟที่ 9 แสดงการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 23 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.015 และ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของยาเมโทรไนดาโซลและยาทินิดาโซล 51

กราฟที่ 10 แสดงการเพิ่มจำนวนของ T. vaginalis สายพันธุ์ที่ 29 ในระหว่างการชักนำที่ความเข้มข้น 0.015 และ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของยาเมโทรไนดาโซลและทินิดาโซล 53