บทที่ 4

การวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาการเพาะเชื้อ *Mobiluncus* (anaerobic comma-shaped rods) ในสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis) และสตรีที่ไม่มีอาการ (healthy control)

1.1 พบอุบัติการณ์ของเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 24 สายพันธุ์จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 224 ราย (ร้อยละ 10.7) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Durieux et al. (1980) ซึ่งพบเชื้อ 36 สายพันธุ์จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 330 ราย (ร้อยละ 11.0) ในการเพาะแยกเชื้อได้ใช้อาหารเพาะเชื้อชนิดเดียวกัน คือ Columbia CNA agar ซึ่งใส่ยา nalidixic acid (Wintomylon) เพิ่มอีก 5 ไมโครกรัม/มล. และซีรัมม้าร้อยละ 2.5 และสอดคล้องกับ Phillips et al. (1972) ซึ่งพบเชื้อ 8 สายพันธุ์ในการเพาะเชื้อจากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 71 ราย (ร้อยละ 11.0) สำหรับคนปกติไม่พบเชื้อ *Mobiluncus* เลย เมื่อแสดงผลทางสถิติแล้ว เชื้อ *Mobiluncus* มีความสัมพันธ์กับผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผู้ป่วยที่ทำการศึกษาไม่เกี่ยวข้องกับกลิ่นเหม็น และผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบที่มีอายุระหว่าง 15 - >50 ปี เมื่อจัดกลุ่มที่อยู่วัยเจริญพันธุ์คืออายุ 15-35 ปีพบมากที่สุด มีจำนวน 178 ราย (ร้อยละ 79.5) และพบเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 19 สายพันธุ์และคนปกติอายุ 15-35 ปี มีจำนวน 40 ราย (ร้อยละ 78.4) ไม่พบเชื้อ *Mobiluncus* เลย เมื่อแสดงผลทางสถิติแล้ว เชื้อ *Mobiluncus* มีความสัมพันธ์กับผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผู้ป่วยที่มีอาการช่องคลอดอักเสบที่มาหาแพทย์ อายุ 36 - >50 ปี มีจำนวน 46 ราย (ร้อยละ 20.5) พบเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 5 สายพันธุ์ ไม่พบเชื้อดังกล่าวในคนปกติอายุ 36 - >50 ปี จำนวน 11 ราย (ร้อยละ 21.6) ซึ่งได้ข้อสรุปต่างไปคือไม่มีความสัมพันธ์กับอาการช่องคลอด แสดงว่าอายุของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบมีผลต่อการพบเชื้อ *Mobiluncus* และจำนวนที่มาหาแพทย์มีน้อย พบเชื้อ *Mobiluncus* ที่ระดับความเป็นกรด - ด่างที่ 5.8, 6.2 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.2 วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจจากช่องคลอด

Gastrin & Kallings. (1968) สามารถเก็บเชื้อได้นานถึง 2 - 6 ชั่วโมง ใน trasport medium จากการศึกษาพบว่าการเก็บสิ่งตรวจโดยวิธีเพาะลงมีเดียโดยตรง จะให้ผลดีกว่าการใช้ transport medium คือวิธีแรกพบ *Mobiluncus* ได้ 19 ใน 224 ราย (ร้อยละ 8.5) และพบเชื้อโดยใช้ transport medium 12 ใน 224 ราย (ร้อยละ 5.4) การใช้ modified Stuart's transport medium เป็นวิธีเก็บสิ่งส่งตรวจที่ดีและสะดวกและสามารถเคลื่อนย้ายที่ไปเพาะเชื้อที่ต่าง ๆ ได้ วิธีเพาะเชื้อลงบนมีเดียโดยตรงให้ผลดีที่สุด การที่เชื้อไม่ขึ้นใน direct plate ขณะที่การใช้ transport medium สามารถเพิ่มจำนวนเพราะการสัมผัสออกซิเจนน้อยกว่าวิธีเพาะลงมีเดียโดยตรง แยกเชื้อ *Mobiluncus* ได้จำนวน 5 ราย นั้น อาจเป็นเพราะทั้งมีเดียที่เพาะแล้วไว้ใน candle jar ที่อัดคาร์บอนไดออกไซด์นานเกินไปก่อนนำไปใส่ anaerobic jar มีผลให้เชื้อแอนแอโรบส์ซึ่งอาจมีปริมาณน้อย ๆ ตายไปเสียก่อนที่นำมาไปในสภาวะที่เหมาะสม การใช้ transport medium นั้นเราสามารถเก็บสิ่งส่งตรวจจากช่องคลอดด้วยสวอบแล้วใส่สวอบในหลอดซึ่งมีมีเดียเต็มหลอดและสามารถรักษาเชื้อ *Mobiluncus* ซึ่งอาจมีปริมาณน้อยไว้ได้นาน

2. <u>ศึกษาการเพาะเชื้อ*Gardnerella vaginalis* ในสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis) และสตรีที่ไม่มีอาการ (healthy control)</u>

2.1 พบอุบัติการณ์ของเชื้อ *G. vaginalis* จากผู้ป่วยช่องคลอดจำนวน 68 ใน 224 ราย (ร้อยละ 30.4) ส่วนคนปกติพบเชื้อ *G. vaginalis* จำนวน 8 ใน 51 ราย (ร้อยละ 15.7) เมื่อคิดตามสถิติแล้วพบว่า *G. vaginalis* ไม่มีความสัมพันธ์กับผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, χ^2 test) แสดงว่าเชื้อ *G. vaginalis* เป็นเชื้อที่พบปกติได้ในช่องคลอด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hjelm (1981) ที่อธิบายว่า *G. vaginalis* มีอยู่ในช่องคลอดของคนปกติ และไม่เป็นเชื้อที่ก่อโรคโดยลำพัง แต่จะร่วมก่อโรค (synergism) ร่วมกับเชื้อบัคเตรีชนิดแอนแอโรบส์ โดยเขาแยกเชื้อ *G. vaginalis* ได้จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ 131 ใน 162 ราย (ร้อยละ 80.9) ส่วนคนปกติแยกเชื้อ *G. vaginalis* ได้จากคนปกติ 12 ใน 27 ราย (ร้อยละ 44.4) และสอดคล้องกับการศึกษาของกลุ่มศุภวัฒน์และคณะ (ยังไม่ได้ตีพิมพ์) เพาะเชื้อ *G. vaginalis* ได้ในกลุ่มผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 204 ใน 607 ราย (ร้อยละ 33.6) ส่วนคนปกติพบเชื้อ *G. vaginalis* ได้ 71 ใน 196 ราย (ร้อยละ 36.2)

2.2 วิธีดูสดของสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอด (wet mount preparation) หา clue cell พบว่า clue cell มีความสัมพันธ์กับการเพาะเชื้อ *G. vaginalis* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, χ^2 test) ซึ่งสอดคล้องกับการพบเชื้อ Gardner et al. (1955) รายงานการพบ clue cell แสดงถึงการพบเชื้อ *G. vaginalis* ผลที่ได้นี้ใช้ในการพิจารณาการเป็น non-specific vaginitis ซึ่งมักพบเชื้อ *G. vaginalis* ร่วมกับเชื้อแอนแอโรบส์อื่น ๆ ได้แก่ *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*, *Eubacteria* และ curved motile rods (Spiegel et al. 1983)

ปริมาณของ clue cell มีตั้งแต่ 1+ ถึง 3+ ในผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ แต่ในคนปกติไม่พบ clue cell

3. การพบเชื้อ *Mobiluncus* ร่วมกับเชื้อ *G. vaginalis*

จากการศึกษาพบเชื้อ *Mobiluncus* พบร่วมกับเชื้อ *G. vaginalis* มีเพียง 7 สายพันธุ์ในจำนวนเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 24 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 29.2) และพบเชื้อ *Mobiluncus* โดยไม่พบเชื้อ *G. vaginalis* 17 สายพันธุ์ในจำนวนเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 24 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 70.8) การศึกษาของ Holst et al. (1984b) พบเชื้อ *Mobiluncus* ร่วมกับ *G. vaginalis* 1 ราย จากจำนวน *Mobiluncus* ที่พบทั้งหมด 9 ราย (ร้อยละ 11.1) Phillips and Taylor(1982) ได้เสนอแนะว่าการพบเชื้อแอนแอโรบส์ต่าง ๆ ร่วมกับ *G. vaginalis* ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบบ non-specific infection เชื้อ anaerobic vibrio และเชื้อ *G. vaginalis* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบบ non-specific สำหรับการศึกษาในครั้งนี้มีเชื้อ *G. vaginalis* ร่วมด้วยอยู่เสมอ เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อทั้ง 2 ชนิด เนื่องจากการศึกษาอื่น ๆ มักมีการอ้างอิงถึงเชื้อ *G. vaginalis* เสมอ สำหรับบทบาทของเชื้อบัคเตรีชนิดแอนแอโรบส์ที่ก่อให้เกิดโรคยังมีการศึกษาน้อย เช่น Swenson et al. (1973) รายงานว่าเชื้อแอนแอโรบส์ได้แก่ *Bacteroides species* ส่วนในประเทศไทย พิณทิพย์และคณะ(1980)ศึกษาเชื้อแอนแอโรบส์ พบว่าเชื้อ*Peptococcus* และ *Bacteroides species* พบว่ามีอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มผู้ป่วย non-specific infection แต่ไม่มีการศึกษาเชื้อ *G. vaginalis* ร่วมด้วย ดังแสดงในตารางที่ 21

4. การศึกษาทางวิทยาบัคเตรีที่เกี่ยวกับลักษณะรูปพรรณ และคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Mobiluncus*

4.1 การศึกษาทางวิทยาบัคเตรีเกี่ยวกับลักษณะรูปพรรณของเชื้อ *Mobiluncus*

4.1.1 ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีโดยใช้การย้อมสีเกรม (gram stain)

จากการศึกษาพบลักษณะเป็น long curved rods ชนิดเดียวจำนวน 5 ใน 30 ราย (ร้อยละ 16.7) และ short curved

ตารางที่ 21 เปรียบเทียบเชื้อแอนแอโรบส์ ซึ่งเพาะเชื้อแยกได้จากช่องคลอดของสตรีไม่มีอาการ และสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบ (non specific infection) จำนวน 180 ราย (พิณทิพย์และคณะ, 1980)

เชื้อ	สตรีปกติ (64 ราย)		สตรีที่เป็นโรค non-specific infection (116 ราย)	
	จำนวน	%	จำนวน	%
Propionibacterium species	2	3.1	4	3.4
Unidentified gram positive rods	7	11.0	24	20.7
Peptostreptoccous species	26	40.6	39	33.6
Peptococcus species	1	1.5	16	13.8
Bacteroides fragilis	4	6.3	3	2.6
Bacteroides melaninogenicus	9	14.3	12	10.3
Bacteroides species	2	3.1	10	8.6
Veillonella species	-	-	5	4.3

rods ชนิดเดียวจำนวน 21 ใน 30 ราย (ร้อยละ 70.0) พบทั้ง short และ long curved rods จำนวน 4 ใน 30 ราย (ร้อยละ 13.3)

การตรวจเชื้อ *Mobiluncus* จากสิ่งคัดหลั่งความไว (sensitivity) ของวิธีย้อมเกรม คิดเป็นร้อยละ 62.5 ได้ผล false negative ร้อยละ 3.6 และ false positive ร้อยละ 50.0 เหตุผลที่ได้ความไวของการย้อมเกรมต่ำ ประการแรก อาจเป็นเพราะการป้ายเชื้อด้วย swab ที่ต่างกัน ใช้ swop ธรรมดาป้ายจากบริเวณ posterior fornix ของช่องคลอดแล้วป้ายลงแผ่นสไลด์ นำไปย้อมสีเกรม ส่วนอีก swab ที่ต้มใน Sorensen's buffer pH 7.4 ป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หรืออีกประการหนึ่งอาจมีปริมาณเชื้อ curved rods น้อยในสไลด์จนเราตรวจไม่พบ แต่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะ และสภาวะเหมาะสมเพิ่มจำนวนขึ้นจนเราสามารถตรวจพบได้

การตรวจเชื้อ curved rods จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ โดยวิธีย้อมสีเกรมเป็นวิธีที่สามารถช่วยในการวินิจฉัยอาการได้ และเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ราคาถูก และได้ผลรวดเร็วภายใน 1 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Robert et al. (1985) ได้ศึกษาเชื้อ *Mobiluncus* โดยวิธีการย้อมเกรมดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาเปรียบเทียบวิธีการเพาะเชื้อ และวิธี DNA probe ตรวจเชื้อ *Mobiluncus* จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ ได้ผลร้อยละ 90.0 ,ร้อยละ 83.0 และ ร้อยละ 83.0 ตามลำดับ ซึ่งวิธีการย้อมเกรมเป็นวิธีที่ใช้เวลาเพียง 1 ชั่วโมง ส่วนวิธีการเพาะเชื้อ (รวมวิธีการแยกเชื้อและการวิเคราะห์เชื้อ) ใช้เวลาทั้งสิ้น 37 วัน Robert สรุปว่า วิธีย้อมเกรมไม่จำเพาะต่อตัวเชื้อ *Mobiluncus* แต่วิธีการเพาะเชื้อและวิธี DNA probe มีความจำเพาะต่อตัวเชื้อ *Mobiluncus* ศุภวัฒน์และคณะ (ยังไม่ได้ตีพิมพ์) พบเชื้อ comma-shaped rods ในสไลด์ที่ย้อมสีเกรมได้ 40 ราย จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ 607 ราย (ร้อยละ 6.7) แต่การศึกษาย้อมเกรมได้ curved rods 30 ราย จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ 224 ราย(ร้อยละ13.4)

4.1.2 ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีโดยการดูสดหาเชื้อที่มีลักษณะ motile curved rods

พบเชื้อ motile curved rodsจากวิธีการดูสดจากสิ่งส่งตรวจที่ป้ายในน้ำเกลือนอร์มัล ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 พบเชื้อจากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ จำนวน 25 ใน 76 ราย (ร้อยละ 32.9) และเพาะแยกเชื้อ *Mobiluncus* ได้เพียง 2 ราย ส่วนคนปกติไม่พบเชื้อเลยใน 51 ราย Hjelm (1981) ใช้วิธีดูสด (wet smear) และการเพาะเชื้อพบเชื้อจำนวน 48 ราย จากผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบจำนวน 162 ราย (ร้อยละ 30.0) ส่วนคนปกติจำนวน 27 ราย ไม่พบเชื้อ การศึกษานี้มีความไวต่ำเมื่อเทียบกับวิธีเพาะเชื้อคือเท่ากับร้อยละ 22.2 อาจเป็นเพราะมีเชื้ออื่นที่ไม่ใช่ *Mobiluncus* ที่มีอยู่ในสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดที่สามารถเคลื่อนที่ได้ ทำให้การวินิจฉัยไม่ถูกต้องและจำนวนผู้ป่วยที่ศึกษามีน้อยทำให้ได้ผลความไวต่ำไป

4.1.3 ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีโดยวัดขนาดของเชื้อ *Mobiluncus*

ย้อมเชื้อที่ได้จากการเพาะเชื้อ ได้พบลักษณะของเชื้อ 2 ลักษณะ ดังนี้

long curved rods มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 2-4 ไมโครเมตร ติดสีเกรมลบ และshort curved rods มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 1 ไมโครเมตร เป็นแท่งสั้นโค้งเล็กน้อย ติดสีเกรมไม่แน่นอน (gram variable) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Holst et al. (1982)

4.1.4 ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีโดยวิธีการย้อมสีเฟลาเจลลาของเชื้อ *Mobiluncus*

การย้อมเฟลาเจลลาของHolst et al. (1982) ด้วยวิธีการย้อมเฟลาเจลลาของ Ryus พบว่าเชื้อ anaerobic comma shaped

rods มีแฟลกเจลลาจากบริเวณส่วนเว้าของแท่งโค้ง (concave side) และอยู่บริเวณใกล้จากปลายเข้ามา (subterminal end) และจำนวนแฟลกเจลลาของเชื้อ long variant มีมากกว่า 8 เส้น และ short variant มีเพียง 4 เส้น แต่ผลการศึกษาที่ย้อมเชื้อ *Mobiluncus* ด้วยวิธีย้อมแฟลกเจลลาของ Ryus ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาพบว่า long variant มีจำนวนแฟลกเจลลาระหว่าง 2 - 5 เส้น ส่วน short variant มีจำนวนแฟลกเจลลาระหว่าง 2 - 6 เส้น เมื่อเทียบกับการดูแฟลกเจลลาด้วยการย้อมวิธี negative stain ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน พบว่าวิธีการย้อมแฟลกเจลลาของ Ryus เป็นวิธีที่เหมาะสมกว่า เพราะวิธีการย้อมทำได้ง่ายราคาถูก และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ทำได้ภายในเวลา 1 ชั่วโมง เทคนิคการทำเป็นสิ่งสำคัญมาก เพราะอาจเป็นผลให้แฟลกเจลลาหลุดได้ ห้ามสเมียร์เชื้อบนหยดน้ำที่อยู่บนแผ่นสไลด์ ให้ใช้ needle เขี่ยเชื้อมาแตะบนหยดน้ำเบา ๆ ทิ้งให้แห้งเอง หลังจากแห้งแล้วห้ามลนไฟ และสีที่ย้อมต้องผสมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง

4.1.5 ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีด้านลักษณะ, สี และขนาดของโคโลนีของเชื้อ *Mobiluncus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Columbia CNA agar ที่บ่มเชื้อนาน 72 ชั่วโมง

Holst et al. (1982) พบว่าขนาดของเชื้อ comma-shaped rods บนColumbia CNA agar ที่บ่มเชื้อนาน 72 ชั่วโมง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 1-2 มม. โคโลนีกลม, ขอบเรียบและมีสีขาวเหลือง แต่ผลการทดลองที่ได้วัดขนาดของโคโลนีของเชื้อ *Mobiluncus* ที่เพาะบน Columbia CNA agar ที่บ่มเชื้อ 72 ชั่วโมง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 0.6-1 มม. โดยมีลักษณะเชื้อบน Columbia CNA agar เป็นโคโลนีกลม (convex), ขอบเรียบ และสีขาวออกเทาเป็นมันวาว พบว่าลักษณะโคโลนีของ short curved rods และ long curved rods ไม่แตกต่างกัน ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Holst et al. (1984a) ซึ่งศึกษาลักษณะโคโลนีบนมีเดียชนิดต่าง ๆ เช่น Columbia CNA agar, Gonococcal medium (GAB) และ

Blood agar ปรากฏว่าโคโลนีของทั้ง 2 form ไม่มีความแตกต่างกัน

4.2 ศึกษาทางวิทยาบัคเตรีเกี่ยวกับคุณสมบัติทางชีวเคมี และ Gas-Liquid Chromatographic pattern ของเชื้อ *Mobiluncus* ที่แยกได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีช่องคลอดอักเสบ

4.2.1 การศึกษาทางชีวเคมีที่ใช้แยกเชื้อ *Mobiluncus* ออกจากเชื้ออื่น

มีนักวิทยาศาสตร์ได้ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* นี้สามารถถูกกระตุ้นให้เจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth) ที่เติมซีรัมกระต่ายร้อยละ 2 (Spiegel et al. 1984) หรือ broth ที่เติม formate-fumarate ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 (Holst et al. 1982) ผู้วิจัยใช้ซีรัมกระต่ายร้อยละ 2 ตลอดการศึกษาเพราะได้ทดลองแล้วได้ผลดีกว่าเติม formate-fumarate ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 ผลการทดลองแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้

พบว่าเชื้อ *Mobiluncus* ไม่หมักย่อยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ดังนี้ adonitol (ร้อยละ 100.0),arabinose (ร้อยละ 95.8), glucose (ร้อยละ 91.7),inulin (100.0), lactose (ร้อยละ 91.7), mannitol (ร้อยละ 91.7), mannose (ร้อยละ 91.7), rhamnose (ร้อยละ 100.0), salicin (ร้อยละ 100.0), sucrose (ร้อยละ 91.7),fructose (ร้อยละ 83.3), inositol (ร้อยละ 87.5), maltose (ร้อยละ 66.7), raffinose (ร้อยละ 87.5), trehalose (ร้อยละ 75.0) และ xylose (ร้อยละ 37.5) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Spiegel et al. (1984) ซึ่งพบว่าเชื้อ *Mobiluncus* 22 สายพันธุ์ ไม่หมักย่อยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ดังนี้ arabinose (ร้อยละ100.0), glucose (ร้อยละ 77.3), lactose (ร้อยละ 100.0), mannitol (ร้อยละ 100.0), mannose (ร้อยละ 100.0), rhamnose (ร้อยละ 100.0), salicin (ร้อยละ 100.0), sucrose

(ร้อยละ 77.3), frutose (ร้อยละ 86.4), inositol (ร้อยละ 68.2), maltose (ร้อยละ 50.0), raffinose (ร้อยละ 100.0), trehalose (ร้อยละ 81.8) และ xylose (ร้อยละ 59.1)

คุณสมบัติชีวเคมีอื่น ๆ ที่นำมาใช้แยกเชื้อ *Mobiluncus* จากเชื้อ comma-shaped rods อื่น ๆและสอดคล้องกับการศึกษาของ Spiegel et al. (1984) และ Holst et al. (1982) เช่นไม่มีผลิตผลของ H_2S ใน SIM medium (ร้อยละ 100.0), ไม่เจริญเติบโตใน bile ความเข้มข้นร้อยละ 20 (ร้อยละ 100.0) เชื้อ *Mobiluncus* สามารถเคลื่อนที่ได้ (motile) ได้ (ร้อยละ 100.0) และการทดสอบ indole, oxidase, catalase ของเชื้อ *Mobiluncus* ให้ผลลบ (ร้อยละ 100.0)

4.2.2 การศึกษา Gas - Liquid Chromatographic pattern เพิ่มเติมเป็นการแยกเชื้อ comma - shaped rods อื่น ๆ ด้วยเช่นกัน Hjelm (1981) และ Fontaine et al. (1983) รายงานว่าเชื้อ comma shaped rods ผลิตกรดซัคซินิคและกรดอะเซติคเท่านั้น ส่วน Durieux and Dublanchet (1980) รายงานว่าพบกรดทั้ง 2-3 ตัวคือกรดอะเซติค กรดแล็คติค และกรดซัคซินิค ซึ่งตรงกับ Spiegel et al. (1984) พบกรด 3 ตัว คือ กรดอะเซติค, กรดซัคซินิคและ/หรือกรดแล็คติค เป็นผลิตผลพลอยได้จากการเกิดเมตาบอลิสมจากกลูโคสที่เติมซีรัมกระต่ายร้อยละ 2 ผู้วิจัยพบกรดอะเซติค (ร้อยละ 100) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acid) พร้อมทั้งพบกรดซัคซินิคและ/หรือกรดแล็คติค ซึ่งเป็นกรดไขมันที่ระเหยไม่ได้ (non volatile fatty acid) โดยพบกรดซัคซินิคจากเชื้อ *Mobiluncus* จำนวน 17 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 70.8 และพบกรดซัคซินิคร่วมกับกรดแล็คติค 7 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 29.2

4.2.3 คุณสมบัติทางชีวเคมีที่แยก *Mobiluncus* เป็น long curved rods และ short curved rods

Holst et al. (1982) และ Holst et al. (1983) ศึกษา anaerabic comma - shaped rods ซึ่งแยกได้จากช่องคลอดของสตรีที่มีอาการช่องคลอดอักเสบพบว่ามี 2 variant คือ long variant และshort variant คุณสมบัติทางชีวเคมีที่แตกต่างกันคือ long variant ให้เอนไซม์ lencine arylamidase ส่วน short variant ให้เอนไซม์ β-galactosidase การทดสอบทางชีวเคมีอีกชนิดหนึ่งคือดูการ hydrolysis sodium hippurate นั้น long variant ไม่ hydrolyse sodium hippurate แต่ short variant จะ hydrolyse ซึ่งผลการทดสอบที่ได้สอดคล้องคือ short variant สามารถ hydrolyse sodium hippurate และให้เอนไซม์ β-galactosidase (ONPG) ส่วน long variant ไม่ hydrolyse sodium hippurate และไม่ให้เอนไซม์ β - galactosidase (ONPG) นอกจากนี้ ทั้ง 2 variants ให้ผลบวกกับ CAMP test แต่ให้โซนการสลายเม็ดเลือดแดง (hemolysis) แตกต่างกันดังนี้ long variant สลายเม็ดเลือดแดงได้ชัดเจน (strong hemolysis) ส่วน short variant สลายเม็ดเลือดแดงได้แต่ไม่ชัดเจน (mild hemolysis) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Spiegel et al. (1984) ซึ่งทำการทดลอง CAMP test ได้ผลเช่นเดียวกัน

5. <u>คุณสมบัติการลักษณะรูปพรรณและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *G. vaginalis* ที่แยกได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีช่องคลอดอักเสบ (non - specific vaginitis) และสตรีที่ปกติ (healthy control)</u>

5.1 ลักษณะรูปพรรณของเชื้อ *G. vaginalis*

5.1.1 การติดสีแกรม (gram stain)

เชื้อ *G. vaginalis* ที่แยกได้จากคนไข้ช่องคลอดอักเสบและคนปกติ จำนวน 76 สายพันธุ์ มีคุณสมบัติตรงกับหลักการวิเคราะห์เชื้อของ Piot et al. (1983) คือมีรูปพรรณสัณฐานเป็นคอคไคแบซิลไล ติดสีแกรมไม่แน่นอน (gram variable)

5.1.2 การดูสด (wet mount preparation)

Gardner & Dukes (1955) พบว่า clue cell จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอด มักพบเชื้อ *G. vaginalis* จากการเพาะเชื้อเสมอ เมื่อเทียบกับผลการทดลองพบว่า clue cell มีความสัมพันธ์กับการพบเชื้อ *G. vaginalis* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, χ^2 test)

5.1.3 ลักษณะ, สี และขนาดของโคโลนีของเชื้อ *G. vaginalis*

Piot et al. (1983) พบเชื้อ *G. vaginalis* มีคุณสมบัติสลายเม็ดเลือดแดงบน Human Blood Bilayer Tween medium (HBT medium) ได้อย่างสมบูรณ์ สีขุ่นขาวขนาดเล็ก ~ 0.25 - 4 mm การทดลองนี้ใช้ HBT medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะสำหรับ *G. vaginalis* ตลอดการศึกษา พบว่าโคโลนีเล็กสีขาวขุ่น, ขอบเรียบ มีการขนแบบ beta hemolysis ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของเชื้อนี้

5.2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *G. vaginalis*

Piot et al. (1983) พบว่าการทดสอบ catalase, oxidase test ได้ผลลบ, เชื้อสามารถ hydrolysis sodium hippurate, สามารถหมักย่อยน้ำตาล glucose, maltose, starch ได้ แต่ไม่หมักย่อย mannitol และมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด คือ metronidazole (50 ไมโครกรัม/แผ่นยา) และ trimethoprim (5 ไมโครกรัม/แผ่นยา) และถูกยับยั้งการเจริญเติบโต (inhibit) ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 บน PSD medium การทดลองนี้ใช้หลักการของ Piot et al. (1983) ในการวิเคราะห์เชื้อ *G. vaginalis*

6. <u>ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Mobiluncus* ที่แยกได้จากสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของสตรีช่องคลอดอักเสบ</u>

(non-specific vaginitis)

Sprott et al. (1983) ศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ anaerobic curved rods ได้แก่ ยา metronidazole และยา tetracycline พบว่า short curved rods (SCR) มี MIC ของยา metronidazole อยู่ช่วงระหว่าง 16 - > 1000 มิลลิกรัม/ลิตร และ MIC ของยา tetracycline อยู่ช่วงระหว่าง 0.125 - 8.0 มิลลิกรัม/ลิตร สำหรับ long curved rods (LCR) มี MIC ของยา metronidazole อยู่ช่วงระหว่าง 0.5 - 4 มิลลิกรัม/ลิตร และ MIC ของยา tetracycline อยู่ช่วงระหว่าง 0.062 - 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วน Pahlson et al. (1984) ศึกษา MIC ของยา metronidazole ต่อเชื้อ SCR เท่ากับ > 256 ไมโครกรัม/มล. สำหรับเชื้อ LCR เท่ากับ < 16 ไมโครกรัม/มล.จากการศึกษาพบว่า MIC_{50} ของยา metronidazole, tetracycline และ ampicillin ต่อเชื้อ SCR เท่ากับ 45.25, 25.63 และ 0.09 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ MIC_{50} ของยา metronidazole, tetracycline และ ampicillin ต่อเชื้อ LCR เท่ากับ 53.82, 22.63 และ 0.08 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ MIC_{90} ของยา metronidazole, tetracycline และ ampicillin ต่อเชื้อ SCR เท่ากับ 172.45, 50.56 และ 0.12 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ MIC_{90} ของยา metronidazole, tetracycline และ ampicillin ต่อเชื้อ LCR เท่ากับ 315.17, 50.21 และ 0.12 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่า MIC ของยา metronidazole, tetracycline และ ampicillin ต่อ SCR, LCR มีค่าใกล้เคียงกัน และพบว่ายา ampicillin ยา tetracycline และยา metronidazole มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Mobiluncus* จากปริมาณน้อยไปมากตามลำดับ

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

control)

Jones et al. (1985) ศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของยา metronidazole ต่อเชื้อ *G. vaginalis* อยู่ระหว่าง 2 -> 128 มก./ลิตร (MIC_{50} เท่ากับ 32 มก./ลิตร), MIC ของ hydroxy metabolite ของ metronidazole ต่อ *G. vaginalis* มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 4 มก./ลิตร Ralph et al. (1980) hydroxy metabolite ของ metronidazole จะเป็นสารประกอบที่ active มากที่สุดโดย MIC เท่ากับ 2 ไมโครกรัม/มล. (ค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.5 - 4 ไมโครกรัม/มล.) ถัดมาคือยา metronidazole active รองลงมามี MIC เท่ากับ 8 ไมโครกรัม/มล. ยาตัวสุดท้ายคือ acid metabolite ของยา metronidazole active น้อยที่สุด เท่ากับ 64 ไมโครกรัม/มล. นำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลอง MIC ของยา metronidazole ต่อเชื้อ *G. vaginalis* ที่แยกเชื้อได้ 76 สายพันธุ์ พบว่ามีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.00195 - > 128 ไมโครกรัม/มล. (ค่า MIC_{50} เท่ากับ 0.41 ไมโครกรัม/มล. และค่า MIC_{90} เท่ากับ 151.7 ไมโครกรัม/มล.) ส่น MIC_{50} ของยา tetracycline, ยา ampicillin ต่อเชื้อ *G. vaginalis* เท่ากับ 0.42 และ 0.09 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ และ MIC_{90} ของยา tetracycline และยา ampicillin ต่อเชื้อเท่ากับ 49.45 และ 0.40 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ผลของ MIC ของยา metronidazole สูงกว่า MIC ของยา tetracycline และ MIC ของยา tetracycline สูงกว่า MIC ของยา ampicillin แต่การศึกษาของ Piot (1984) พบว่าการให้ยา metronidazole แก่ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ โดยวิธีการกินและฉีดจะให้ผลดี แต่การให้ยา ampicillin และ tetracycline ยังได้ผลไม่แน่นอนซึ่ง Jones et al. (1985) ได้สนับสนุนว่าผลการทดสอบยา metronidazole โดยการหา MIC (in vitro) มีค่าความเข้มข้นของยาต่อ *G. vaginalis* สูงโดยมีช่วงระหว่าง 2 - > 128 มก./ลิตร (MIC_{50} เท่ากับ 32 มก./ลิตร) ความเข้มข้นของยา metronidazole ต่อเชื้อ *Mobiluncus* สูงอยู่ช่วง 0.5 - > 128 มก./ลิตร (MIC_{50} เท่ากับ 16 มก./ลิตร), *Bacteroides spp.* มี MIC_{50}

ของยา metronidazole เท่ากับ 1 มก./ลิตร แต่เมื่อให้ยาแก่ผู้ป่วยช่องคลอดอักเสบ (in vivo) ที่มีการติดเชื้อ *G. vaginalis*, *Bacteroides* species และ *Mobiluncus* species พบว่าได้ผลการรักษาดีขึ้น Jones ให้เหตุผลว่ายา metronidazole ไปทำลายเชื้ออื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *Mobiluncus* แล้วทำให้สภาวะแวดล้อมช่องคลอดผิดไปจากเดิม ทำให้ *Mobiluncus* ถูกทำลายในที่สุด