

การชักนำให้เกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์โดยเชื้อ *Proteus mirabilis* ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคนิ่วไต

กฤตยา แซ่ลี^{1,2}, ราตรี ทวีชากรตระกูล^{2,3*}, ปิยะวรรณ เอมอ้อมนันต์^{2,4}, อรุณลักษณ์ ดุสิตานนท์^{2,3}, พิชรี บุญศิริ⁵,
วิฑูรย์ ประสงค์วัฒนา⁵, ชัยศิริ วงศ์คำ⁵, พิพัฒน์ ศรีบุญลักษณ์^{2,3}

Received: May 6, 2016

Revised & Accepted: July 21, 2016

บทคัดย่อ

เชื้อ *Escherichia coli* และ *Proteus mirabilis* เป็นแบคทีเรียที่แยกได้บ่อยจากก้อนนิ่วและปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ่วไตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย แบคทีเรียดังกล่าวอาจมีบทบาทสำคัญต่อการชักนำให้เกิดผลึกและการเกิดนิ่วไต ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงศึกษาการชักนำให้เกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากก้อนนิ่วและปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ่วไต ได้แก่ เชื้อ *E. coli* (แบคทีเรียแกรมลบที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอส) และ *P. mirabilis* (แบคทีเรียแกรมลบที่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้) โดยนำแบคทีเรียดังกล่าวมาเลี้ยงในปัสสาวะสังเคราะห์แล้วทำการวิเคราะห์การเกิดผลึกและวัดค่า pH ด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับและเครื่องวัด pH ตามลำดับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ณ เวลา 0, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังได้ตรวจยืนยันองค์ประกอบทางเคมีของผลึกที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิค Fourier-transformed infrared (FTIR) spectroscopy ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *E. coli* ไม่สามารถชักนำให้เกิดผลึกได้ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง แต่การเลี้ยงเชื้อในระยะเวลาดังกล่าวทำให้ค่า pH สูงขึ้นจาก 5.8 ± 0.0 เป็น 7.0 ± 0.0 อย่างไรก็ตามเชื้อ *P. mirabilis* สามารถชักนำให้เกิดผลึกแบบ dendrite ได้ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ซึ่งปัสสาวะมีค่า pH สูงขึ้นเป็น 9.0 ± 0.0 และยังพบว่ามีจำนวนของผลึกเพิ่มขึ้นเป็น 21 ± 5 , 73 ± 13 , > 100 และ > 100 ผลึกต่อหลุม ณ ชั่วโมงที่ 12, 24, 48 และ 72 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบผลึกได้สองแบบ ทั้งแบบ dendrite และ dendritic branches ณ ชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ซึ่งผลึกที่เกิดขึ้นมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตเมื่อตรวจด้วยเครื่อง FTIR spectrometer การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอสของ *P. mirabilis* ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรคนิ่วไต เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดผลึกแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตในปัสสาวะสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องศึกษาต่อไปเกี่ยวกับการเกิดนิ่วโดยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุเหล่านี้ในแง่มุมมองต่างๆ ต่อไป

คำสำคัญ : ปัสสาวะสังเคราะห์, ผลึกแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต, การชักนำให้เกิดผลึก, แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอส, นิ่วไต

¹ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ กลุ่มวิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁴ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

⁵ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Induction of crystal formation in artificial urine by *Proteus mirabilis* isolated from kidney stone patients

Krittaya Saelee^{1,2}, Ratree Tavichakorntrakool^{2,3*}, Piyawan Amimanan^{2,4}, Aroonlug Lulitanond^{2,3}, Patcharee Boonsiri⁵, Vitoon Prasongwatana⁵, Chaisiri Wongkham⁵, Pipat Sribenjalux^{2,3}

Abstract

Escherichia coli and *Proteus mirabilis* are the common bacteria found in kidney stone and urine of the stone formers in northeast Thailand. They may play role in crystallization and stone formation. We therefore evaluated the induction of crystal formation in artificial urine by bacteria isolated from kidney stone and urine of the kidney stone patients, including *E. coli* (non urease-producing Gram negative bacteria) and *P. mirabilis* (urease-producing Gram negative bacteria). Induction of crystal formation and pH in artificial urine were investigated under inverted microscopy and pH meter, respectively after cultured at 25 °C for 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours. The chemical compositions of crystals were also identified by Fourier-transformed infrared (FTIR) spectroscopy. The results showed that *E. coli* was unable to induce crystal within 72 hours but the urinary pH was increased from 5.8 ± 0.0 to 7.0 ± 0.0 . However, *P. mirabilis* was able to induce dendritic crystals at 12 hours ($\text{pH} = 9.0 \pm 0.0$) and the number of crystals was increased to 21 ± 5 , 73 ± 13 , > 100 and >100 crystals/well at 12, 24, 48 and 72 hours, respectively. The shapes of these crystals were observed in both forms of dendrite and dendritic branches at 24, 48 and 72 hours. FTIR technique revealed that the chemical compositions of crystals were magnesium ammonium phosphate. In conclusion, our results indicated that urease produced by *P. mirabilis* isolated from kidney stone patients was an important factor which could induce the formation of magnesium ammonium phosphate crystals in artificial urine. Further investigation for the other possible mechanisms of stone genesis by these causative bacteria is required.

Keyword : Artificial urine, Magnesium ammonium phosphate crystals, Induction of crystals, Urease-producing bacteria, Kidney stone

¹ Graduate School, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

² Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

³ Division of Clinical Microbiology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

⁴ Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, University of Phayao

⁵ Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

* Corresponding author: (e-mail: ratree.t@gmail.com or ratree.t@kku.ac.th)

บทนำ

โรคนิ่วไตเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขที่พบได้ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย^(1,2) มีรายงานว่าโรคนิ่วไตและการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะมีความสัมพันธ์กัน ซึ่งจำแนกได้เป็น 2 แบบ คือ การเกิดนิ่วแล้วส่งเสริมให้เกิดการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะตามมา (stone with subsequent infections) และนิ่วที่เกิดจากการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ (infection-induced stones) ซึ่งนิ่วชนิดหลังนี้มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอส เช่น *Proteus* spp.⁽³⁾ โดยการติดเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ส่งผลให้เกิดนิ่วสตรูไวท์ (struvite) ที่มักพบองค์ประกอบทางเคมีในก้อนนิ่วเป็นแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต โดยแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ยูรีเอสย่อยสลายยูเรียได้เป็นแอมโมเนีย และคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นแอมโมเนียจะรวมตัวกับน้ำกลายเป็นแอมโมเนียมไอออนและไฮดรอกไซด์ไอออน ส่งผลให้ปัสสาวะมีความเป็นด่างมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้เกิดฟอสเฟตไอออนเพิ่มขึ้น เมื่อแอมโมเนียมไอออนและฟอสเฟตไอออนรวมตัวกับแมกนีเซียมไอออนที่มีอยู่ในปัสสาวะส่งผลให้เกิดผลึกแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตหรือสตรูไวท์⁽⁴⁻⁷⁾

จากการศึกษาของคณะผู้วิจัยในปี ค.ศ. 2012⁽⁸⁾ พบความชุกของการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะร่วมกับโรคนิ่วไตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยสูงถึงร้อยละ 36 นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังสามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *P. mirabilis* ได้จากก้อนนิ่วหลายชนิด ได้แก่ ก้อนนิ่วที่มีองค์ประกอบทางเคมีเป็นแคลเซียมออกซาเลต แคลเซียมฟอสเฟต รวมทั้งก้อนนิ่วที่มีองค์ประกอบของแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต คณะผู้วิจัยจึงตั้งสมมุติฐานว่าแบคทีเรียเหล่านี้อาจมีบทบาทต่อการเกิดโรคนิ่วไตในภูมิภาคนี้ เนื่องจากขั้นตอนการเกิดผลึกเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญต่อการเกิดนิ่ว ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทดสอบการชักนำให้เกิดผลึกของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากก้อนนิ่วและปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ่วไต ได้แก่ เชื้อ *E. coli* (แบคทีเรียแกรมลบที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอส) และ *P. mirabilis* (แบคทีเรียแกรมลบที่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับกลไกการเกิดนิ่วที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ่วไต

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย

ตัวอย่างแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษานี้มี 2 ชนิด ได้แก่ *E. coli* และ *P. mirabilis* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากก้อนนิ่วและปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น จำนวนกลุ่มตัวอย่างละ 3 ไอโซเลต โครงการวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่โครงการ HE 521177 และ HE 581501

การเตรียมปัสสาวะสังเคราะห์

ปัสสาวะสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นสูตรที่มีส่วนประกอบต่างๆ คล้ายปัสสาวะ 24 ชั่วโมงของผู้ที่มีสุขภาพดี^(9,10) โดยเตรียมปัสสาวะสังเคราะห์ที่มีสารประกอบต่างๆ ดังนี้ แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต 0.651 กรัม แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต 0.651 กรัม ไตรโซเดียมซิเตรทไดไฮเดรต 0.901 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 4.6 กรัม โซเดียมซัลเฟต 2.3 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.8 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ 1.6 กรัม แอมโมเนียมคลอไรด์ 1 กรัม ยูเรีย 25 กรัม ครีเอทีน 1.1 กรัม และ tryptic soy broth 10 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 1 ลิตร ที่มีค่า pH เป็น 5.8 ± 0.2 ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและใช้งานภายใน 24 ชั่วโมง

การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส

ทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอสของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียูเรียและฟีนอลเรดเป็นตัวบ่งชี้ pH อบพลอดเฉพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลบวก คืออาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีชมพูแดง แสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้ และผลลบ คืออาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีเหลืองอ่อนดังเดิม

การชักนำให้เกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์

การชักนำให้เกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์โดยแบคทีเรีย ทำโดยเพาะเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดใน tryptic soy broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard นำเชื้อแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นแล้ว ปริมาตร 15 ไมโครลิตร (ตัวอย่างควบคุมผลลบใช้น้ำปราศจากไอออนแทนเชื้อ) ใส่ใน 24-well plate ที่มีปัสสาวะสังเคราะห์

ปริมาตร 1,485 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จะมีเชื้อประมาณ 10^5 CFU/mL แล้วอบที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สังเกตการเกิดผลึกในแต่ละหลุมภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ และวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัด pH ณ ชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 24, 48 และ 72

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลึก

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลึกที่เกิดจากแบคทีเรีย โดยเฉพาะเลี้ยงแบคทีเรียในปัสสาวะสังเคราะห์ แล้วนำผลึกที่เกิดขึ้นมาปั่นล้างและตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเลตนาน 15 นาที นำผลึกที่ได้มาบดผสมกับโพแทสเซียมโบรไมด์ให้เป็นผงละเอียด แล้วอัดเป็นแผ่นด้วยแรงอัดไฮดรอลิก แล้วนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลึกด้วยเครื่อง Fourier-transformed infrared (FTIR) spectrometer (Perkin Elmer spectrum one, Connecticut, USA)

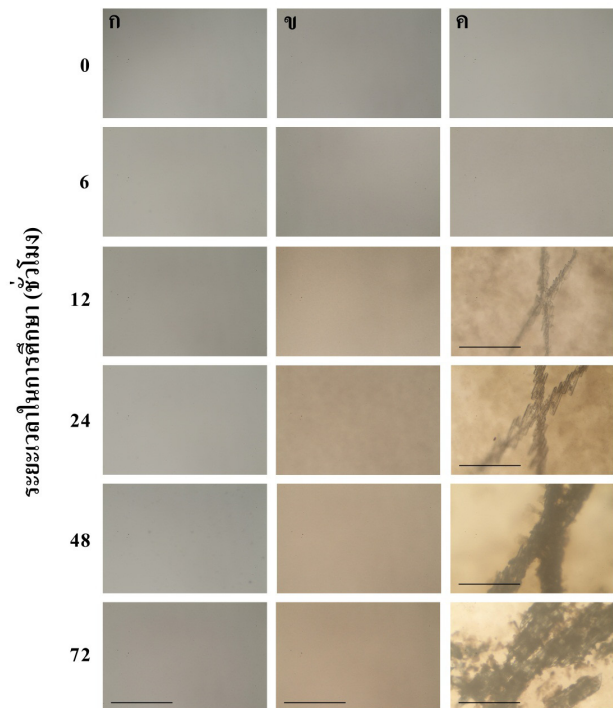
การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดในการศึกษานี้ได้จากการทดสอบของเชื้อแต่ละกลุ่มจำนวน 3 ไอโซเลต และนำเสนอออกมาในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนจากค่าเฉลี่ย

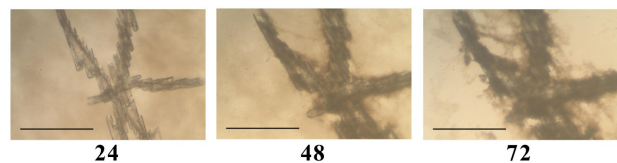
ผลการศึกษา

ผลการศึกษาความสามารถในการชักนำให้เกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม (รูปที่ 1) ได้แก่ *E. coli* และ *P. mirabilis* ณ ชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 24, 48 และ 72 พบว่าเชื้อ *E. coli* ไม่สามารถชักนำให้เกิดผลึกได้ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามค่า pH ของปัสสาวะสังเคราะห์สูงขึ้นจาก $\text{pH } 5.8 \pm 0.0$ เป็น 7.0 ± 0.0 (ตารางที่ 1) ส่วนเชื้อ *P. mirabilis* สามารถชักนำให้เกิดผลึกแบบ dendrite ได้ ณ ชั่วโมงที่ 12 ค่า pH สูงขึ้นถึง 9.0 ± 0.0 และเมื่อสังเกต ณ ชั่วโมงที่ 12 และ 24 มีจำนวนของผลึกเพิ่มขึ้นเป็น 21 ± 5 และ 73 ± 13 ผลึกต่อหลุม ตามลำดับ เมื่อสังเกตต่อไป ณ ชั่วโมงที่ 48 และ 72 มีจำนวนของผลึกเพิ่มขึ้นมากกว่า 100 ผลึกต่อหลุม นอกจากนี้ยังพบผลึก ณ ชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 มีขนาดใหญ่มากขึ้นตามลำดับ (รูปที่ 2) และยังพบการเกาะกลุ่มของผลึกมากขึ้นด้วย ซึ่งพบผลึกได้ทั้งแบบ dendrite

และ dendritic branches เมื่อนำผลึกที่เกิดจากการชักนำโดย *P. mirabilis* ไปทดสอบยืนยันองค์ประกอบทางเคมีของผลึกด้วยเครื่อง FTIR spectrometer พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีเป็นแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต



รูปที่ 1 การชักนำให้เกิดผลึกโดยแบคทีเรียในปัสสาวะสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ก) ปัสสาวะสังเคราะห์ที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย (ข) ปัสสาวะสังเคราะห์ที่เติมเชื้อ *E. coli* (ค) ปัสสาวะสังเคราะห์ที่เติมเชื้อ *P. mirabilis* (กำลังขยาย 100 เท่า) สเกลบาร์ขนาด 40 ไมโครเมตร



ระยะเวลาในการศึกษา (ชั่วโมง)

รูปที่ 2 การชักนำให้เกิดผลึกโดย *P. mirabilis* ในปัสสาวะสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ณ เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง (กำลังขยาย 100 เท่า) สเกลบาร์ขนาด 40 ไมโครเมตร

ตารางที่ 1 ค่า pH ของปัสสาวะสังเคราะห์ในการศึกษาการชักนำให้เกิดผลึกโดยแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ชั่วโมงที่	ปัสสาวะที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย	ปัสสาวะสังเคราะห์ที่เติมเชื้อ	
		<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>
0	5.8 ± 0.0	5.8 ± 0.0	5.8 ± 0.0
6	5.8 ± 0.0	5.8 ± 0.0	7.6 ± 0.1
12	5.8 ± 0.0	5.7 ± 0.0	9.0 ± 0.0
24	5.8 ± 0.0	6.5 ± 0.1	9.2 ± 0.1
48	5.8 ± 0.0	6.9 ± 0.1	9.2 ± 0.0
72	5.8 ± 0.0	7.0 ± 0.0	9.2 ± 0.0

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาการชักนำให้เกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 2 ชนิด ณ ช่วงเวลาต่างๆ พบว่าเชื้อ *E. coli* ไม่สามารถชักนำให้เกิดผลึกได้ภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง อาจเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้ จึงไม่เกิดภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดผลึกได้ แต่อาจผลิตสารบางอย่างที่ส่งผลให้ค่า pH ในปัสสาวะสังเคราะห์สูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชั่วโมงเริ่มต้น สิ่งที่สำคัญในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อ *P. mirabilis* สามารถชักนำให้เกิดผลึกแบบ dendrite ได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และเมื่อสังเกตต่อไปพบลักษณะของผลึกทั้งแบบ dendrite และ dendritic branches จำนวนมากขึ้น และผลึกมีการเกาะกลุ่มกันมากขึ้น อาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียนี้มีความสามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้ดีมาก⁽¹¹⁾ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ส่งผลให้เกิดผลึกได้เร็วและมีจำนวนมากจากการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Prywer และคณะ ในปี ค.ศ. 2012⁽⁷⁾ ที่พบการชักนำให้เกิดผลึกสตรูไวท์เมื่อปัสสาวะมีค่า pH ≥ 7.2 นอกจากนี้ยังพบว่าเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อขนาดและจำนวนของผลึกที่เกิดขึ้นด้วย ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Rivadeneyra และคณะในปี ค.ศ. 1999⁽¹²⁾ อย่างไรก็ตามเชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้ แต่อาจมีปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดนิ่วในขั้นตอนอื่น เช่น ขั้นตอนส่งเสริมการเจริญและการเกาะกลุ่มของผลึก จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Chutipongtanate และคณะในปี ค.ศ. 2012⁽¹³⁾ พบว่า เชื้อ *E. coli* และ *Streptococcus pneumoniae* สามารถส่งเสริมให้เกิดการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาเลตได้

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ยูรีเอสจาก *P. mirabilis* เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งต่อการเกิดผลึกในปัสสาวะสังเคราะห์โดยเอนไซม์ยูรีเอสย่อยสลายยูเรียได้เป็นแอมโมเนีย และคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นแอมโมเนียจะรวมตัวกับน้ำกลายเป็นแอมโมเนียมไอออนและไฮดรอกไซด์ไอออน ส่งผลให้ปัสสาวะมีความเป็นด่างมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้เกิดฟอสเฟตไอออนเพิ่มขึ้น เมื่อถึงจุดที่มีความอิ่มตัวยวดยิ่งของปัสสาวะที่เหมาะสมจึงเกิดผลึกแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตหรือสตรูไวท์ขึ้น⁽⁴⁻⁷⁾ ที่เวลา 12 ชั่วโมงการศึกษานี้ได้ทำการทดลองในปัสสาวะสังเคราะห์ตามสูตรของ Griffith และคณะ ในปี ค.ศ. 1976 เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมาะสมต่อการศึกษาการเกิดผลึกของแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต แม้ว่าในสูตรปัสสาวะสังเคราะห์นี้มี tryptic soy broth ที่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งไม่พบในปัสสาวะมนุษย์ แต่ก็ยังมีการใช้ปัสสาวะสังเคราะห์สูตรนี้ในการศึกษาการเกิดผลึกแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตกันอย่างแพร่หลาย^(10, 14) อย่างไรก็ตามอาจมีการศึกษาการเกิดผลึกโดยแบคทีเรียเหล่านี้ในปัสสาวะสังเคราะห์สูตรอื่นหรือปัสสาวะมนุษย์ต่อไป

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างเอนไซม์ยูรีเอสร่วมกับปัจจัยอื่นๆ มีความสำคัญต่อการเกิดผลึกแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต ซึ่งการเกิดผลึกเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการเกิดนิ่ว อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นต้องศึกษาต่อไปในอนาคตถึงบทบาทของเชื้อเหล่านี้ต่อการเกิดนิ่วไตในแง่อื่นๆ เช่น ความสามารถในการส่งเสริมการเจริญและการเกาะกลุ่มของผลึกชนิดต่างๆ เพื่อช่วยอธิบายกลไกพื้นฐานเกี่ยวกับการเกิดนิ่วกับการติด

เชื้อในทางเดินปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้ไว้ในภาคตะวันออก
เฉียงเหนือของประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ทุนอุดหนุน
การวิจัย ประเภทเงินอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2559
(หมายเลขโครงการ 590049) และขอขอบพระคุณนายแพทย์
สมบัติ บรรพผดุงกิตติ อาสาสมัครทุกท่าน ตลอดจนบุคลากร
ของโรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความช่วย
เหลือในการเก็บตัวอย่างส่งตรวจครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Nimmannit S, Malasit P, Susaengrat W, Ong-Aj-Yooth S, Vasuvattakul S, Pidetcha P, et al. Prevalence of endemic distal renal tubular acidosis and renal stone in the northeast of Thailand. *Nephron* 1996; 72: 604-10.
2. Ingsathit A, Thakkestian A, Chaiprasert A, Sangthawan P, Gojaseni P, Kiattisunthorn K, et al. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease in the Thai adult population: Thai SEEK study. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1567-75.
3. Bichler KH, Eipper E, Naber K, Braun V, Zimmermann R, Lahme S. Urinary infection stones. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 488-98.
4. Griffith DP. Struvite stones. *Kidney Int* 1978; 13: 372-82.
5. Griffith DP. Urease stones. *Urol Res* 1979; 7: 215-21.
6. Miano R, Germani S, Vespasiani G. Stones and urinary tract infections. *Urol Int* 2007; 79 Suppl1: 32-6.
7. Prywer J, Torzewska A. Effect of curcumin against *Proteus mirabilis* during crystallization of struvite from artificial urine. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 1-7.
8. Tavichakorntrakool R, Prasongwattana V, Sungkeeree S, Saisud P, Sribenjalux P, Pimratana C, et al. Extensive characterizations of bacteria isolated from catheterized urine and stone matrices in patients with nephrolithiasis. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 4125-30.
9. Griffith DP, Musher DM, Itin C. Urease. The primary cause of infection-induced urinary stones. *Invest Urol* 1976; 13: 346-50.
10. Torzewska A, Staczek P, Rozalski A. Crystallization of urine mineral components may depend on the chemical nature of *Proteus* endotoxin polysaccharides. *J Med Microbiol* 2003; 52: 471-7.
11. Broomfield RJ, Morgan SD, Kahn A, Stickler DJ. Crystalline bacterial biofilm formation on urinary catheters by urease producing urinary tract pathogens: a simple method of control. *J Med Microbiol* 2009; 58: 1367-75.
12. Rivadeneyra MA, Gutierrez-Calderon A, Rivadeneyra AM, Ramos-Cormenzana A. A study of struvite precipitation and urease activity in bacteria isolated from patients with urinary infections and their possible involvement in the formation of renal calculi. *Urol Int* 1999; 63: 188-92.
13. Chutipongtanate S, Sutthimethakorn S, Chiangjong W, Thongboonkerd V. Bacteria can promote calcium oxalate crystal growth and aggregation. *J Biol Inorg Chem* 2013; 18: 299-308.
14. Prywer J, Torzewska A, Plocinski T. Unique surface and internal structure of struvite crystals formed by *Proteus mirabilis*. *Urol Res*. 2012; 40: 699-707.