

การสำรวจหาเชื้อ Listeria monocytogenes จากผู้ป่วยด้วยโรคแท้งติดต่อ ***

สุมาลี ศิรินันท์ วท.ม. *
 ทิมพ์พันธ์ เลียงพิบูลย์ พบ. *
 ทวีพงษ์ สุวรรณโคตร พบ. **
 สุอารีย์ อันตระการ พบ. **

บทคัดย่อ

ผลการแยกเชื้อจากผู้ป่วยด้วยโรคแท้งติดต่อ 39 ราย จาก Fetal Salvage Clinic โรงพยาบาลศิริราช โดยวิธี cold enrichment ไม่พบเชื้อ Listeria monocytogenes เชื้อที่แยกได้ส่วนมากเป็น normal flora พบ Candida albicans และ Trichomonas vaginalis ในผู้ป่วยบางราย ซึ่งไม่น่าจะเป็นสาเหตุของโรคแท้งติดต่อ การเป็นโรคแท้งติดต่อในผู้ป่วยกลุ่มนี้น่าจะเนื่องมาจากสาเหตุอื่นมากกว่า Listeria monocytogenes

บทนำ

Listeria monocytogenes เป็นเชื้อที่แยกได้ครั้งแรก จากการระบาดในกระต่ายที่นำมาเลี้ยงในท้องทดลอง (1) ต่อมา มีรายงานแยกเชื้อได้จากสัตว์ต่างๆ เช่น สมอลงวัว (2), Lemmings (3), หมู (4), เป็ด, ไก่, ปลา, กุ้ง, ปู, หมัด, ฟาร์มเลี้ยงสัตว์, อาหารน้ำไหล, หญ้าหมัก, พืชผักต่างๆ, อาจพบได้ในอุจจาระของคนปกติ, ชยะและดิน (5,6)

การทำให้เกิดโรค ในคนอาจติดต่อโดยตรงจากสัตว์ มีรายงานพบว่า ทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (7,8,9) พบในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็ง (10) พบเชื้อจากแผลผ่าตัดในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับ (11), ทำให้เกิด Bac-

terial endocarditis (9,12,13), Septicemia (9,14) habitual abortion หรือ repeated abortion หรือทำให้เกิดโรคแก่มารดา บิดา และทารกแรกเกิด (15-24) ในมารดาอาการอาจมีไข้เป็นครั้งคราว ทลอคลมชักเสบ, ต่อมมน้ำเหลืองบวม, ตับบวม, โลหิตเป็นพิษ, เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ในเด็กอาจได้รับเชื้อจากมารดา ทำให้คลอดก่อนกำหนด อาจมีอาการทางสมอง และถึงแก่ความตายได้

การทำให้เกิดโรคอาจสร้าง exotoxin ทำให้มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันทานในสัตว์ทดลอง และพบ hemolysin ซึ่งละลายน้ำได้

* ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

** ภาควิชาสูติ-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

*** โครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยมหิดล

(15)

ลักษณะของเชื้อเป็น gram-positive facultative anaerobic rod ไม่มีสปอร์ ไม่มีแคปซูล ขนาดประมาณ $0.5 \times 1-3$ ไมครอน หัวท้ายมน มักอยู่เป็นคู่หรือเป็นสายสั้นๆ เคลื่อนที่ในอาหารที่มีกลูโคส 0.1% ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-36 องศาเซลเซียส เจริญอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เจริญได้ในอาหารธรรมดาที่มีสภาวะเป็นกลาง หรือด่างเล็กน้อย บน Blood agar plate โคโลนิเมื่อเลี้ยงไว้ 24 ชั่วโมง จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 2 มิลลิเมตร และให้ β -hemolysis บน tellurite media จะให้โคโลนิสีดำขอบเรียบ ไม่เจริญบนอาหาร MaeConkey agar บนอาหารใสถ้ำเอียง 45 องศา จะเห็นโคโลนิสีน้ำเงินเขียวกลม โปร่งแสง ขุนเล็กน้อย และคล้ายหยดน้ำ ให้เอนไซม์ catalase, ไม่สร้างเอนไซม์ Oxidase, ไม่สร้าง indole, H_2S , Urease, gelatinase, ไม่ reduce ไนเตรต, ให้ Methyl red และ Voges Poskrauer positive สร้างกรดในน้ำตาลกลูโคส, rhamnose, levulose, trehalose, maltose และ salicin แต่ไม่ให้แกส (25,26,6,12) พบ flagella antigenic 4 types อาจมี antigenic component ร่วมกับเชื้ออื่น โดยเฉพาะ Staphylococcus และ Streptococcus faecalis ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้การวินิจฉัยเชื้อโดยวิธี agglutination test (5,16)

การแยกเชื้อครั้งแรก อาจใช้ tryptose broth, tryptose agar ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสอยู่ด้วย การเก็บ specimen ไว้

ใน 4 องศาเซลเซียส จะทำให้แยกเชื้อได้ในเวลาต่อมาและควรเก็บ specimen ไว้เลี้ยงเชื้อเป็นระยะอย่างน้อย 3 เดือน (2,4,5,19)

เชื่อนี้มักจะไวต่อยา ampicillin, tetracycline และ erythromycin (22,24,26)

วัตถุดิบและวิธีการ

เก็บ cervical swab จากผู้ป่วยที่เป็นโรคแท้งติดต่อกันและมีประวัติการแท้งจาก Fetal Salvage Clinic ของภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล จำนวน 39 ราย ตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2522 ถึง เดือนเมษายน พ.ศ. 2523 นำมาเลี้ยงเชื้อ บน Brain Heart Infusion agar (BHA) และ Blood agar plate (BA) อย่างละ 2 plate นำไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส และที่ 4 องศาเซลเซียส เวลา 24-48 ชั่วโมง ส่วน swab นำไปทำ fresh preparation และย้อมแกรมโดยวิธี aseptic technique แล้วเติม Brain Heart Infusion Broth (BHB) 5 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

นำ plate ที่ incubate แล้วมาศึกษาลักษณะโคโลนิดู β -hemolysis บน BA และดูโคโลนิที่สะท้อนแสงสีเขียวบน BHA ย้อมแกรมและทำ catalase test จากโคโลนิที่สงสัย ถ้าหากไม่พบเชื้อในการเลี้ยงครั้งแรก นำ specimen จากตู้เย็นมาเลี้ยงเชื้อซ้ำอีก หลังจากการเลี้ยงเชื้อครั้งแรก 1,2,3,4,5,6,7 และ 8 สัปดาห์ ถ้าไม่พบเชื้อก็ทิ้งไป จากนั้นนำเชื้อที่สงสัยไปศึกษาทางด้านชีวเคมี-

โดยดูคุณสมบัติในการเคลื่อนที่ที่อุณหภูมิ 22- องศาเซลเซียสใน Dextrose motility medium (26) ทดสอบ catalase, ดูการ ferment น้ำตาลต่างๆ จากนั้นทำการทดสอบ ความไวต่อยา และทำ serotyping เพื่อ confirm ว่าเป็นเชื้อ Listeria monocytogenes และดูการระบาคของเชื้อ ว่าเป็น type ใดกับ specific antisera
ผลการทดลอง

ผลการแยกเชื้อจาก vaginal swab ของผู้ป่วย 39 ราย จาก Fetal Salvage Clinic โรงพยาบาลศิริราช ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2522 เมษายน 2523 ไม่พบเชื้อ L. monocytogenes เชื้อที่พบ เช่น Staphylococcus epidermidis 15.38%, Lactobacillus sp. 17.69% Candida albicans 23.08%, Streptococcus sp. 12.82% และ Acinetobacter lwoffii 10.25% และเลี้ยงเชื้อไม่ขึ้น 46.15% ดัง ตาราง

วิจารณ์

ผลการเลี้ยงเชื้อจากผู้ป่วย ที่มีอาชีพ ต่างๆ 39 ราย ซึ่งมีประวัติแท้งตั้งแต่ 1-7 ครั้ง ไม่พบว่ามีเชื้อ Listeria monocytogenes เชื้อที่พบส่วนมากเป็น normal flora เช่น Staph. epidermidis, A.lwoffii, Lactobacillus sp., Streptococcus sp. และ albicans (yeast form)

จาก fresh preparation พบ Trichomonas vaginalis 2 ราย และ C. albicans (mycelial form) 3 ราย ซึ่งผู้ป่วยมี discharge และมีอาการทางคลินิกร่วมด้วย

ผู้ป่วยมีประวัติการแท้งในระยะ 3 เดือนแรกของการตั้งครรภ์ ซึ่งการแท้งนี้ อาจ เนื่องจากสาเหตุอื่น การไม่พบ L.monocytogenes น่าจะแสดงได้ว่า เชื้อนี้ ไม่ได้เป็น สาเหตุของการแท้งติดต่อในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ศึกษา ซึ่งก็มีรายงานของ Mac Naughton - (1962) ว่าไม่พบเชื้อนี้จากผู้ป่วยด้วยโรคแท้ง ติดต่อกัน 78 ราย เช่นกัน

ตารางแสดงผลการแยกเชื้อจากผู้ป่วยด้วยโรคแท้งติดต่อ 39 ราย จากโรงพยาบาลศิริราช

| เชื้อที่แยกได้ | จำนวน (เปอร์เซ็นต์) |
|-----------------------------------|---------------------|
| <u>Acinetobacter lwoffii</u> | 10.25 |
| <u>Streptococcus sp.</u> | 12.82 |
| <u>Staphylococcus epidermidis</u> | 15.38 |
| <u>Lactobacillus sp.</u> | 17.69 |
| <u>Candida albicans</u> | 23.08 |
| No growth | 46.15 |

เอกสารอ้างอิง

1. Murray, E.G.D., Webb, R.A. and Swann, M.B.R. A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus Bacterium monocytogenes (n.sp.). J. Path.Bact. 29:407-439, 1926.
2. Gray, M.L., Stafseth, H.J., Thorp, F.Jr., Shall, L.B. and Riley, W.F. A New technique for Isolating Listerellae from the Bovine Brain. J. Bacteriol. 55:471-476, 1948.
3. Magus, M. Listeria in Lemmings. Can.J.Pub. Health. 45:27, 1954.
4. Hall, E.R. and Thomas, R.W. Rapid method for the Isolation of Listeria monocytogenes from experimentally infected mice. Appl.Microbiol. 21:112-118, 1971.
5. Reed, R.W. Listeria and Erysipelothrix in Bacterial and Mycotic Infections of Man. by. Dubos, R. J. and Hirsch., J.G. 4th ed. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. pp.752-757, 1965.
6. Welshimer. H.J. Isolation of Listeria monocytogenes from vegetation. J.Bacteriol. 95(2) 300-303, 1968.
7. Allin, A.E. A fatal Infection due to Listeria monocytogenes.Can. J.Pub. Health. 45:27, 1954.
8. Barrow, G.I. and Pugh, R.J. Listeria (Erysipelothrix) monocytogenes meningitis in the newborn. J. Path. Bact. 75:9, 1958.
9. Baker, C.C., Felton, F.G. and Muchmore, H.G. Listeria : Report of 5 cases. Amer. J. Med. Sci. 85:739, 1961.
10. Louria, D.B., Hensle, T., Armstrong, D., Collins, H.S., Blevins, A., Krugman, D. and Buse, M. Listeriosis complicating Malignant Disease. Ann. Intern. Med. 67(2) : 261-281, 1967.
11. Inhorn, S.L., Smits, R.L. and Christensen, E. Listeria as a cause of Splenic granulomas in a patient with Felty's Syndrome. Amer. J. Clin. Pathol. 33(4) : 330-338, 1960.
12. Hoepflich, P.D. and Chernoff, H.M. Subacute bacterial endocarditis due to Listeria monocytogenes. Amer. J. Med. 19:488-494, 1955.
13. Breyer, R.H., Arnett, E.N., Spray, T.L. and Robert, W.C. Prosthe-

- tic, valve endocarditis due to *Listeria monocytogenes*. Amer. J. Clin. Pathol. 69(2) : 186-187, 1978.
14. Weiner, J. Septicemia of the newborn due to Listeria monocytogenes. J. Pediat. 51:392, 1957.
 15. Girard, K.F. and Gavin, W.F. Listeriosis of the Newborn. J. Path. Bact. 74:93, 1957.
 16. Selinger, B. and Becker, F.P. Listeria meningitis. Pediatrics. 16:500, 1955.
 17. Genlschlager, F.K. Listeria as a possible cause of abortion. Gynec. 16:595, 1960.
 18. Gray, M.L. Genital Listeriosis as a cause of Repeated abortion Lancet. 2:314-316, 1960.
 19. Rappaport, F., Rabinovitz, M., Toaff, R., and Krochik, N. Genital Listeriosis as a cause of repeated abortion. Lancet. 1:1273-1275 1960.
 20. Dungal, N. Listeriosis in Four Siblings. Lancet 2:513, 1961.
 21. Ruffolo, E.H., Wilson, R.B. and Weed, L.A. Listeria monocytogenes as a cause of pregnancy wastage obstet. Gynec. 19:533, 1962.
 22. Toaff, R., Krochick, N. and Rabinovitz. Genital Listeriosis in the Male. Lancet. 2:482-483, 1962.
 23. Barber, M. and Okubodejo, O.A. Maternal and Neonatal Listeriosis : Report of Case and Brief Review of Listerature of Listerosis in Man. Brit. Med. J. 2:735-738, 1965.
 24. Coid, C.R. Infections and Pregnancy Academic Press. London 1977.
 25. Line, F.G. and Cherry, W.B. Meningitis due to Listeria monocytogenes : Report of two cases J. AMA. 148:366-369, 1952.
 26. Finegold, S.M., Martin, W.J. and Scott, E.G. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 5th ed. The C.V. Mosby Company. Saint Louis, 1978.
 27. Macnaughton, M.C. Listeria monocytogenes in abortion. Lancet. 2: 484, 1962.

ABSTRACTListeria monocytogenes as a cause of repeated
abortion

| | | | |
|------------|---------------|------|----|
| Sumalee | Sirinanunta | MSc. | * |
| Pimpan | Liengpibul | M.D. | * |
| Thaweepong | Suwannacotara | M.D. | ** |
| Suaree | Ontrakarn | M.D. | ** |

There was not successful in isolating Listeria monocytogenes from 39 habitual abortion patients in Fetal Salvage Clinic, Siriraj Hospital by cold enrichment method. The isolated organisms were almost normal flora. Candida albicans and Trichomonas vaginalis were found in some cases, but they were suggested not causative agents of habitual abortion. These negative findings suggest that habitual abortion in this group of patients is caused by other factors rather than L.monocytogenes.

* Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medical Technology, Mahidol University

** Department of Gynaecology, Faculty of Medicine Mahidol University