

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากสิ่งตรวจที่เป็นหนองจากผู้ป่วย 100 ราย นำมาทำการทดลองและได้ผลดังต่อไปนี้

1. จากการย้อมสีแกรม พบว่าผู้ป่วยที่แพทย์วินิจฉัยว่าเป็นโรคท่อปัสสาวะอักเสบ (urethritis) 82 ราย จะพบเชื้อที่เป็นลักษณะ intracellular gram negative diplococci ในผู้ป่วย 51 ราย คิดเป็นร้อยละ 62.3 นอกจากนั้นจะพบเชื้ออื่น ๆ ได้แก่ gram positive staphylococci 16 ราย คิดเป็นร้อยละ 19.5 และไม่พบเชื้อในผู้ป่วย 15 ราย คิดเป็นร้อยละ 18.3

ส่วนผู้ป่วยที่แพทย์วินิจฉัยว่าเป็นโรคหนองในเทียม (non - specific urethritis) 9 ราย เมื่อนำมาย้อมสีแกรม ไม่พบเชื้อเลย 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 77.8 และพบเชื้อ gram positive staphylococci 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 22.2 ส่วนหนองจากผู้ป่วยหญิงที่แพทย์วินิจฉัยว่าเป็น pelvic inflammatory disease จำนวน 9 ราย พบว่าเป็น intracellular gram negative diplococci 2 ราย และ gram negative bacilli 3 ราย และไม่พบเชื้อ 1 ราย (ตามตารางที่ 3.1)

2. การย้อมฟลูออเรสซินแอนติบอดี เทคนิค พบว่าจากจำนวนผู้ป่วย 100 ราย ซึ่งพบลักษณะของ gram negative diplococci จากการย้อมสีแกรม 53 ราย เมื่อนำมาย้อมฟลูออเรสซิน (สีเรืองแสง) พบว่าให้ผลเป็นบวกเพียง 50 ราย นอกนั้นให้ผลเป็นลบ (ตามตารางที่ 3.2)

3. การเพาะเชื้อ จากการเพาะเชื้อจากสิ่งตรวจของผู้ป่วย 100 ราย บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thayer - Martin medium และ blood agar plate (BA) พบว่าเชื้อหนองในเจริญได้บน TM ส่วนบน BA จะมีเชื้ออื่น ๆ เจริญปนอยู่ด้วย ลักษณะของโคโลนีบน TM เล็กค่อนข้างเข็ม แต่ถ้าอบต่อไปอีก 24 ชั่วโมง โคโลนีจะมีขนาดใหญ่ ส่วนโคโลนีบน BA เล็กมาก และผิวของ

โคโลนีจะค้ำ หนองจากผู้ป่วยที่เพาะเชื้อขึ้นบน TM และย้อมสีแกรมพบลักษณะเป็น gram negative diplococci เป็นจำนวน 44 ราย พบเชื้อขึ้นบน BA แต่ไม่ขึ้นบน TM 2 ราย ไม่พบเชื้อ N. gonorrhoeae บน TM และ BA มีจำนวน 7 ราย เมื่อเทียบกับการย้อมสีแกรมที่พบลักษณะของเชื้อ N. gonorrhoeae 53 ราย บางกรณีเชื้อจะไม่เจริญ หรือเจริญน้อยมากบน TM เมื่ออบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่การเจริญจะเพิ่มขึ้นเมื่ออบต่อไปอีก 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อที่เจริญบน TM ในเวลา 24 ชั่วโมงมีจำนวน 38 ราย และเมื่ออบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนเพิ่มอีก 6 ราย (ตามตารางที่ 3.3)

ได้ทำการทดลองเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ ที่มีชื่อว่า GAB ในคนไข้ 10 ราย เปรียบเทียบลักษณะและขนาดของโคโลนีกับการเจริญของเชื้อหนองในบน TM ปรากฏว่า โคโลนีของเชื้อหนองในบน GAB มีลักษณะใหญ่ ขอบนูน และแข็งกว่าโคโลนีของเชื้อที่เจริญบน TM และยังพบอีกว่า ในสิ่งตรวจ 3 ราย ที่เพาะเชื้อไม่ขึ้นบน TM แต่ขึ้นบน GAB

4. ผลการทดสอบยืนยัน นำโคโลนีที่ส่งส้อมมาทำการทดสอบ oxidase test และนำย้อมสีแกรม, ย้อมฟลูออเรสซิน, เฟอร์เมนค้ำน้ำตาลกลูโคส มัลโทส และซูโคส และทำการทดสอบโดยใช้ปฏิกิริยา coagglutination กับ แอนติซีรัมที่เตรียมขึ้นสำเร็จรูป เรียกว่า Phadebact Gonococcus Test ปรากฏว่า โคโลนีที่พบลักษณะเป็น gram negative diplococci จากการย้อมสีแกรม แต่ผลจากการเฟอร์เมนค้ำน้ำตาลเป็นลบ ส่วนผลจากปฏิกิริยา coagglutination จะได้ผลเป็นบวก (ตามตารางที่ 3.5 และ 3.6)

5. การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

นำเชื้อโคโคคคัยที่ทดสอบยืนยันแล้วว่า เป็น N. gonorrhoeae จำนวน 46 ราย ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ คือ เพนนิซิลลิน แมทธิซิลลิน แอมพิซิลลิน และ คลาฟอแรน ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ แสดงในตารางที่ 3.7

6. ทดสอบการสร้าง เบตา-แลคตาเมส (beta - lactamase)

เชื้อ N. gonorrhoeae ที่แยกได้จากสิ่งตรวจ 46 สายพันธุ์ และมีความไว

ต่อยาเพนนิซิลลิน 25 สายพันธุ์ และคือต่อยาเพนนิซิลลิน 21 สายพันธุ์ ได้ทำการ
ทดสอบ เบต้า-แลคตาเมส พบว่าเป็นสายพันธุ์ที่สร้าง เบต้า-แลคตาเมส 18
สายพันธุ์ และไม่สร้าง เบต้า-แลคตาเมส 28 สายพันธุ์ (ตามตารางที่ 3.8)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.1 เปรียบเทียบการวินิจฉัยเบื้องต้นของแพทย์ กับการย้อมสีแกรม จากหนองของผู้ป่วย 100 ราย

เชื้อที่พบจากการย้อมสีแกรม	Provisional Diagnosis			Total
	Urethritis	NSU ^a	PID ^b	
Gram negative diplococci	51	-	2	53
Gram positive cocci	16	2	3	21
Gram positive bacilli	-	-	-	-
Gram negative bacilli	-	-	3	3
No organism	15	7	1	23
(Pus cells)	(67)	(2)	(8)	(87)
	82	9	9	100

a กือ Non-specific urethritis

b กือ Pelvic Inflammatory Disease

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบการย้อมสีแกรม กับการย้อมฟลูออเรสซิน แอนติบอดี จากสิ่งตรวจผู้ป่วย 100 ราย

วิธีการย้อมสี	ย้อมสีแกรม	ย้อมสีฟลูออเรสซิน
ผลจากการย้อมสี		
พบเชื้อหนองใน	53	50
ไม่พบเชื้อหนองใน	47	50
- พบเชื้อรูปร่างเป็นคอคคัย	(21)	-
- พบเชื้อรูปร่างเป็นแท่ง	(3)	-
- ไม่พบเชื้อ	(23)	-
รวม	100	100

ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อหนองในบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นต่าง ๆ กับการย้อมสีแกรม และการย้อมฟลูออเรสซิน จากสิ่งตรวจ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ผลการเพาะเชื้อ		ไม่พบเชื้อ	ย้อมสีแกรม		ย้อมฟลูออเรสซิน	
	พบเชื้อหนองใน			+	-	+	-
	หลังอบ 24 ชม.	48 ชม.					
Thayer-Martin	38	44	54	53	47	50	50
Blood agar	2	2	-	-	-	-	-
รวม		46	54				

ตารางที่ 3.4 เปรียบเทียบการวิเคราะห์เชื้อ Neisseria gonorrhoeae โดยดูจากผลการเพาะเชื้อ, การย้อมสีแกรม, การย้อมฟลูออเรสซิน

เชื้อที่พบจากการเพาะ	การย้อมสีแกรม	การย้อมฟลูออเรสซิน	จำนวน
+	+	+	46
-	+	+	5
-	+	-	3

ตารางที่ 3.5 ผลจากการทดลองทางชีวเคมีของเชื้อ gram negative diplococci ที่โคโลนีให้ผลบวกกับปฏิกิริยาออกซิเคส บน Thayer-Martin medium จำนวน 46 ราย ซึ่งเพาะจากสิ่งตรวจ

Presumptive identifications	ผลการเฟอร์เมนน้ำตาล		
	กลูโคส	มัลโตส	ซูโคส
46	44	-	-

ตารางที่ 3.6 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ Neisseria gonorrhoeae โดยวิธี
sugar fermentation, วิธีย้อมฟลูออเรสซิน
coagglutination ซึ่งแยกได้จากสิ่งตรวจจำนวน 46 ราย

วิธีที่ใช้วิเคราะห์	ผลการทดสอบยืนยันเชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u>
Sugar fermentation	44
ย้อมฟลูออเรสซิน	46
Coagglutination	46

ตารางที่ 3.7 ผลการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ Neisseria gonorrhoeae
ที่แยกได้จากสิ่งตรวจ 46 สายพันธุ์

ชนิดของยาปฏิชีวนะ	ผลการทดสอบความไว		
	ไวต่อยา	กึ่งต่อยา	ผลปานกลาง
เพนนิซิลิน	25	21	-
แอมพิซิลิน	30	14	2
เมททิซิลิน	28	16	2
คลาฟอแรน	46	-	-

ตารางที่ 3.8 เปรียบเทียบผลการทดสอบ เบต้า-แลคตาเมส และการทดสอบความไว
ของเชื้อคอตยาเพนนิซิลิน Neisseria gonorrhoeae
ที่แยกได้

ผลความไวคอตยาเพนนิซิลิน	จำนวนที่ได้จากการทดสอบ เบต้า-แลคตาเมส	
	ผลบวก ก	ผลลบ ข
เชื้อไวคอตยา	-	25
เชื้อคอตยา	18	3

ก ผลบวก = สร้าง เบต้า-แลคตาเมส

ข ผลลบ = ไม่สร้าง เบต้า-แลคตาเมส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย