

การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลรี
โดยวิธีตัดแปลงการย้อมสีจิมซำกับวิธีการเพาะเชื้อ

นางสาวสุภทิพย์ กิตติมานนท์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตรการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-277-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARISON OF HELICOBACTER PYLORI DETECTION
BY MODIFIED GIEMSA STAIN AND CULTURE



MISS SUPATIP KITTIMANONT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Department of Medical Science
Graduate School

Chulalongkorn University

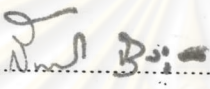
1996

ISBN 974-633-277-5

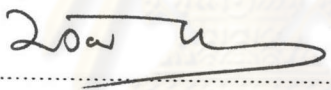
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลรี
โดยวิธีตัดแปลงการย้อมสีจิมซ่ากับวิธีการเพาะเชื้อ

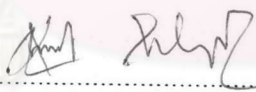
โดย นางสาว ศุภทิพย์ กิตติมานนท์
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พิเชฐ สัมปทานกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สมใจ เจริญประยูร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ จงสุวรรณ)

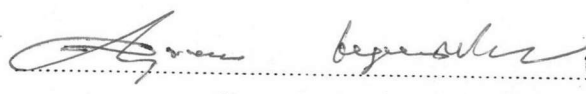
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ดร.บังอร ชมเดช)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พิเชฐ สัมปทานกุล)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สมใจ เจริญประยูร)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พินิจ กุลละวณิช)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สุมนา ชมพูทวีป)

ศุภทิพย์ กิตติมานนท์ : การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลรี โดยวิธีดัดแปลง
การย้อมสีจิมซำกับวิธีการเพาะเชื้อ (COMPARISON OF HELICOBACTER PYLORI
DETECTION BY MODIFIED GIEMSA STAIN AND CULTURE) อาจารย์ที่ปรึกษา :
รศ. นพ. พิเชฐ สัมปทานกุล, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. พญ. สมใจ เจริญประยูร, 63 หน้า.
ISBN 974-633-277-5

ชิ้นเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหารจำนวน 200 ตัวอย่าง จากผู้ป่วย 100 คนที่มีอาการปวดชนิดจุกเสียด แน่น
ท้อง ถูกนำมาวิเคราะห์ นำผลการตรวจหาเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลรี โดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซำทางจุลกาย
วิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อมาเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเชื้อซึ่งถือว่าเป็นวิธีทดสอบมาตรฐาน ตัดชิ้นเนื้อเยื่อ 2 ชิ้นจาก
บริเวณที่ใกล้เคียงกันในตำแหน่งแอนทรมของกระเพาะอาหาร แล้วส่งตรวจทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ
1 ชิ้น และทำการเพาะเชื้ออีก 1 ชิ้น ผลการวิเคราะห์พบว่า ค่าความไวของการตรวจโดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซำ
มีค่าร้อยละ 80 ค่าความจำเพาะของการตรวจมีค่าร้อยละ 88.9 ค่าความสามารถในการทำนายผลการตรวจเชื้อถ้าผล
การทดสอบเป็นบวก ค่าความสามารถในการทำนายผลการตรวจเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นลบ โอกาสที่จะตรวจพบ
เชื้อหลังการทดสอบถ้าผลการทดสอบเป็นบวก โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบถ้าผลการทดสอบเป็นลบ มี
ค่าร้อยละ 89.8 ร้อยละ 78.4 ร้อยละ 89.8 และร้อยละ 21.5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความถูกต้องของการ
ตรวจมีค่าร้อยละ 84 ในขณะที่ความซุกของการติดเชื้อในการศึกษาครั้งนี้มีค่าร้อยละ 55 จากการศึกษาครั้งนี้อาจจะ
สรุปได้ว่าวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซำทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่เชื่อถือได้สำหรับการตรวจหา
เชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลรีในงานประจำ ยิ่งกว่านั้นยังพบว่าให้ประโยชน์ได้มากกว่าการเพาะเชื้อซึ่งเป็นการ
ทดสอบมาตรฐาน เนื่องจากให้ผลรวดเร็ว วิธีการทำง่าย และเสียค่าใช้จ่ายน้อย

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์
ปีการศึกษา 2538

ลายมือชื่อนิสิต Mark Mark
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม นพ. นพ.

C645066 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEY WORD: HELICOBACTER PYLORI/ MODIFIED GIEMSA STAIN/ GASTRIC MUCOSA

SUPATIP KITTIMANONT : COMPARISON OF HELICOBACTER PYLORI DETECTION BY MODIFIED GIEMSA STAIN AND CULTURE. THESIS ADVISOR :

ASSO. PROF. PICHET SAMPATANUKUL,M.D., CO-ADVISOR : ASSO. PROF.

SOMJAI REINPRAYOON,M.D. 63 pp. ISBN 974-633-277-5

Two hundred samples of gastric mucosal biopsy from 100 patients with dyspeptic symptoms were analysed. Detection of Helicobacter pylori by histological section stained with modified Giemsa was compared to the gold standard microbiological culture. Two pieces of biopsy, one for histology and one for culture, were taken side by side from the gastric antrum. The results showed that the detection by histology with modified Giemsa stain was 80%, specificity of the test was 88.9%. The positive predictive value, the negative predictive value, the post-test likelihood if test positive and the post-test likelihood if test negative were 89.8%, 78.4%, 89.8% and 21.5%, respectively. In addition, the overall accuracy was 84%, while the prevalence in this study accounted for 55%. From this study, it may conclude that histological section stained with modified Giemsa is a reliable method for routine investigation for Helicobacter pylori. Furthermore, it shows more benefit over the gold standard culture method because of rapidity, simplicity, and inexpensiveness.



ภาควิชา.....

สาขาวิชา..... วิทยาศาสตร์การแพทย์.....

ปีการศึกษา..... 2538.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *[Signature]*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *[Signature]*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *[Signature]*.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ของ
รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิเชฐ สัมปทานุกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และ รอง
ศาสตราจารย์แพทย์หญิง สมใจ เจริญประยูร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณา
ให้คำปรึกษาและข้อคิดเห็นต่างๆในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ด้วยดีมาตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์พินิจ กุลละวณิชย์ คุณวาริทิพย์
สุขวัฒน์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน จากสาขาวิชาโรคทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บชิ้นเนื้อเยื่อ (biopsies)
สำหรับการทำวิจัย คุณกัญชลี เลิศโกยะสมบัติ จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คุณสุวิวรรณ จันทร์คุปต์งูร จากงานจุลชีววิทยา โรงพยาบาลราชวิถี
ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำเกี่ยวกับวัสดุอุปกรณ์ตลอดจนเทคนิคในการ
เพาะเชื้อ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ดร.บังอร ชมเดช รองศาสตราจารย์
นายแพทย์ พินิจ กุลละวณิชย์ และรองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สุมนา ชมพูทวีป ที่ได้กรุณา
เป็นประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนใน
การศึกษาวิจัยครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง และเพื่อนๆที่สนับสนุนและให้
กำลังใจเป็นอย่างดีมาตลอด

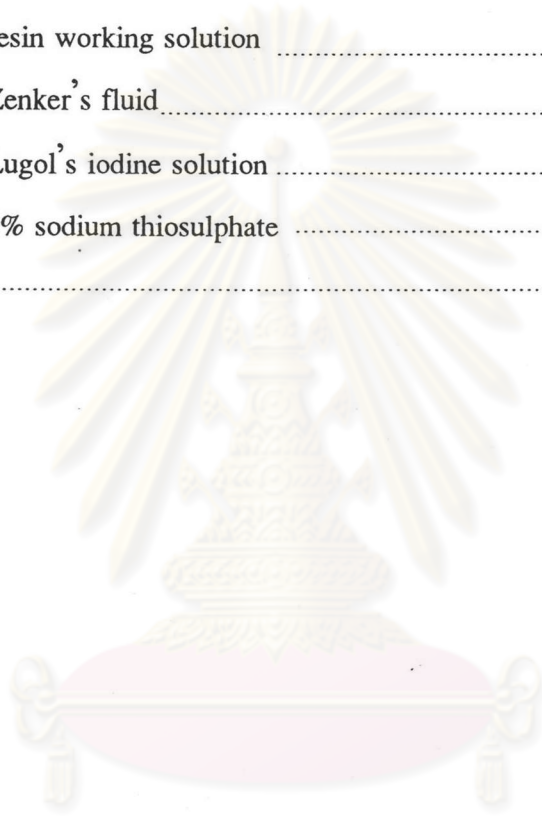
ศุภทิพย์ กิตติมานนท์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.2 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ	4
1.5 ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย	5
2. ทัศนัวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	6
3. วิธีดำเนินการวิจัย	10
3.1 วัสดุที่ใช้ในการเพาะเชื้อ	10
3.2 ขั้นตอนในการเพาะเชื้อ	12
3.3 วัสดุที่ใช้ในการย้อมสี modified Giemsa	21
3.4 ขั้นตอนในการย้อมสี modified Giemsa	23
4. ผลการวิจัย	31
4.1 ผลการตรวจเชื้อ H.pylori โดยวิธีการเพาะเชื้อ และวิธีการย้อมสี modified Giemsa	32
4.2 การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ H.pylori โดยวิธีการย้อมสี modified Giemsa และวิธีการเพาะเชื้อ	37

4.3 การวิเคราะห์ข้อมูล	38
4.3.1 การคำนวณหา % ความไวของการตรวจ (sensitivity)	38
4.3.2 การคำนวณหา % ความจำเพาะของการตรวจ (specificity).....	38
4.3.3 การคำนวณหา % ความสามารถในการทำนายผลการตรวจ หาเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นบวก (positive predictive value)	38
4.3.4 การคำนวณหา % ความสามารถในการทำนายผลการตรวจ หาเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นลบ (negative predictive value)	39
4.3.5 การคำนวณหา % ของโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบ ถ้าการทดสอบเป็นบวก (post-test likelihood if test positive)	39
4.3.6 การคำนวณหา % ของโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบ ถ้าการทดสอบเป็นลบ (post-test likelihood if test negative)	39
4.3.7 การคำนวณหา % ความถูกต้อง (accuracy) หรือประสิทธิภาพ ของการตรวจ (efficiency of tests)	39
4.3.8 การคำนวณหา % ความชุกของโรคหรือโอกาสที่จะตรวจพบ เชืวก่อนทำการทดสอบ (prevalence or pre-test likelihood)	40
5. อภิปรายและสรุปผลการวิจัย	41
รายการอ้างอิง	45
ภาคผนวก ก : วิธีการเพาะเชื้อ	58
1. การเตรียมอาหารเพาะเชื้อ	58
2. การเตรียม stock antibiotic	58
3. การเตรียมน้ำยา oxidase	59
4. การเตรียม urea agar slant	59
5. การเตรียม crystalviolet solution	59
6. การเตรียม iodine solution	60
7. การเตรียมน้ำยาล้างสี	60
8. การเตรียม safranin solution	60

ภาคผนวก ข : วิธีการย้อมสี modified Giemsa	61
1. การเตรียม neutral buffered formalin solution	61
2. การเตรียม 10% formalin with sodium acetate.....	61
3. การเตรียม Giemsa working solution.....	61
4. การเตรียม resin stock solution	61
5. การเตรียม resin working solution	62
6. การเตรียม Zenker's fluid.....	62
7. การเตรียม Lugol's iodine solution	62
8. การเตรียม 5% sodium thiosulphate	62
ประวัติผู้เขียน	63



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	แสดงผลการตรวจเชื้อ <i>H.pylori</i> โดยวิธีการเพาะเชื้อ (culture) และวิธีการย้อมสี modified Giemsa (modified Giemsa stain)	32
ตารางที่ 2	แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ <i>H.pylori</i> ด้วยวิธีการเพาะเชื้อและวิธีการย้อมสี modified Giemsa โดยใช้ตาราง 2x2	37
ตารางที่ 3	แสดงการเปรียบเทียบค่าใช้จ่าย ความยุ่งยาก ระยะเวลาและเครื่องมือพิเศษ ในการตรวจหาเชื้อ <i>H.pylori</i> โดยวิธีการย้อมสี modified Giemsa และวิธีการเพาะเชื้อ	44

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1	แสดงโคโลนีของเชื้อ <i>H.pylori</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 16
รูปที่ 2	แสดงรูปร่างและการติดสีย้อมกรัมของเชื้อ <i>H.pylori</i> 17
รูปที่ 3	แสดงผลการทดสอบเอนไซม์ urease ของเชื้อ <i>H.pylori</i> 18
รูปที่ 4	แสดงผลการทดสอบเอนไซม์ oxidase ของเชื้อ <i>H.pylori</i> 19
รูปที่ 5	แสดงผลการทดสอบเอนไซม์ catalase ของเชื้อ <i>H.pylori</i> 20
รูปที่ 6	แสดงรูปร่างลักษณะและการติดสีย้อม modified Giemsa ของเชื้อ <i>H.pylori</i> ใน foveolar lumen ของชั้นเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหาร 28
รูปที่ 7	แสดงเชื้อ <i>H.pylori</i> เกาะบน foveolar cell ในชั้นเมือกของเยื่อบุกระเพาะอาหาร 29
รูปที่ 8	แสดงเชื้อ <i>H.pylori</i> อยู่ในบริเวณที่มีเมือกหนาแน่น 30