การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพลอริ โดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซ่ากับวิธีการเพาะเชื้อ

นางสาวศุภทิพย์ กิตติมานนท์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-277-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 18201106

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

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพลอริ โดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซ่ากับวิธีการเพาะเชื้อ**
โดย	**นางสาว ศุภทิพย์ กิตติมานนท์**
สาขาวิชา	**วิทยาศาสตร์การแพทย์**
อาจารย์ที่ปรึกษา	**รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พิเชฐ สัมปทานุกูล**
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	**รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สมใจ เหรียญประยูร**

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ดร.บังอร ชมเดช)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พิเชฐ สัมปทานุกูล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สมใจ เหรียญประยูร)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พินิจ กุลละวณิชย์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สุมนา ชมพูทวีป)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศุภทิพย์ กิตติมานนท์ : การเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพลอริ โดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซ่ากับวิธีการเพาะเชื้อ (COMPARISON OF HELICOBACTER PYLORI DETECTION BY MODIFIED GIEMSA STAIN AND CULTURE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. นพ. พิเชฐ สัมปทานุกุล, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. พญ. สมใจ เหรียญประยูร, 63 หน้า. ISBN 974-633-277-5

ชิ้นเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหารจำนวน 200 ตัวอย่าง จากผู้ป่วย 100 คนที่มีอาการปวดชนิดจุกเสียด แน่นท้อง ถูกนำมาวิเคราะห์ นำผลการตรวจหาเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพลอริ โดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซ่าทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อมาเปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อซึ่งถือว่าเป็นวิธีทดสอบมาตรฐาน ตัดชิ้นเนื้อเยื่อ 2 ชิ้นจากบริเวณที่ใกล้เคียงกันในตำแหน่งแอนทรัมของกระเพาะอาหาร แล้วส่งตรวจทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ 1 ชิ้น และทำการเพาะเชื้ออีก 1 ชิ้น ผลการวิเคราะห์พบว่า ค่าความไวของการตรวจโดยวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซ่ามีค่าร้อยละ 80 ค่าความจำเพาะของการตรวจมีค่าร้อยละ 88.9 ค่าความสามารถในการทำนายผลการตรวจเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นบวก ค่าความสามารถในการทำนายผลการตรวจเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นลบ โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบถ้าผลการทดสอบเป็นบวก โอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบถ้าผลการทดสอบเป็นลบ มีค่าร้อยละ 89.8 ร้อยละ 78.4 ร้อยละ 89.8 และร้อยละ 21.5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความถูกต้องของการตรวจมีค่าร้อยละ 84 ในขณะที่ความชุกของการติดเชื้อในการศึกษาครั้งนี้มีค่าร้อยละ 55 จากการศึกษาครั้งนี้อาจจะสรุปได้ว่าวิธีดัดแปลงการย้อมสีจิมซ่าทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่เชื่อถือได้สำหรับการตรวจหาเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพลอริในงานประจำ ยิ่งกว่านั้นยังพบว่าให้ประโยชน์ได้มากกว่าการเพาะเชื้อซึ่งเป็นการทดสอบมาตรฐาน เนื่องจากให้ผลรวดเร็ว วิธีการทำง่าย และเสียค่าใช้จ่ายน้อย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา – ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

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.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา - ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ของ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิเชฐ สัมปทานุกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สมใจ เหรียญประยูร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและข้อคิดเห็นต่างๆในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ด้วยดีมาตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์พินิจ กุลละวณิชย์ คุณวารีทิพย์ สุขวัฒน์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน จากสาขาวิชาโรคทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บชิ้นเนื้อเยื่อ (biopsies) สำหรับการทำวิจัย คุณกัญชลี เลิศโภคะสมบัติ จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คุณสุริวรรณ จันทรคุปตังกูร จากงานจุลชีววิทยา โรงพยาบาลราชวิถี ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำเกี่ยวกับวัสดุอุปกรณ์ตลอดจนเทคนิคในการเพาะเชื้อ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ดร.บังอร ชมเดช รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พินิจ กุลละวณิชย์ และรองศาสตราจารย์แพทย์หญิง สุมนา ชมพูทวีป ที่ได้กรุณาเป็นประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง และเพื่อนๆที่สนับสนุนและให้กำลังใจเป็นอย่างดีมาตลอด

ศุภทิพย์ กิตติมานนท์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฏ

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. ปริทัศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 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

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า

4.3 การวิเคราะห์ข้อมูล 38
4.3.1 การคำนวณหา % ความไวของการตรวจ (sensitivity) 38
4.3.2 การคำนวณหา % ความจำเพาะของการตรวจ (specificity) 38
4.3.3 การคำนวณหา % ความสามารถในการทำนายผลการตรวจหาเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นบวก (positive predictive value) 38
4.3.4 การคำนวณหา % ความสามารถในการทำนายผลการตรวจหาเชื้อถ้าผลการทดสอบเป็นลบ (negative predictive value) 39
4.3.5 การคำนวณหา % ของโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบถ้าการทดสอบเป็นบวก (post-test likelihood if test positive) 39
4.3.6 การคำนวณหา % ของโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อหลังการทดสอบถ้าการทดสอบเป็นลบ (post-test likelihood if test negative) 39
4.3.7 การคำนวณหา % ความถูกต้อง (accuracy) หรือประสิทธิภาพของการตรวจ (efficiency of tests) 39
4.3.8 การคำนวณหา % ความชุกของโรคหรือโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อก่อนทำการทดสอบ (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

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า

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 H.pyroli โดยวิธีการเพาะเชื้อ (culture) และวิธีการย้อมสี modified Giemsa (modified Giemsa stain) 32

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ H.pylori ด้วยวิธีการเพาะเชื้อและวิธีการย้อมสี modified Giemsa โดยใช้ตาราง 2x2 37

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบค่าใช้จ่าย ความยุ่งยาก ระยะเวลาและเครื่องมือพิเศษในการตรวจหาเชื้อ H.pylori โดยวิธีการย้อมสี modified Giemsa และวิธีการเพาะเชื้อ 44

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดงโคโลนีของเชื้อ H.pylori บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 16

รูปที่ 2 แสดงรูปร่างและการติดสีย้อมกรัมของเชื้อ H.pylori 17

รูปที่ 3 แสดงผลการทดสอบเอนไซม์ urease ของเชื้อ H.pylori 18

รูปที่ 4 แสดงผลการทดสอบเอนไซม์ oxidase ของเชื้อ H.pylori 19

รูปที่ 5 แสดงผลการทดสอบเอนไซม์ catalase ของเชื้อ H.pylori 20

รูปที่ 6 แสดงรูปร่างลักษณะและการติดสีย้อม modified Giemsa ของเชื้อ H.pylori ใน foveolar lumen ของชิ้นเนื้อเยื่อบุกระเพาะอาหาร 28

รูปที่ 7 แสดงเชื้อ H.pylori เกาะบน foveolar cell ในชั้นเมือกของเยื่อบุกระเพาะอาหาร 29

รูปที่ 8 แสดงเชื้อ H.pylori อยู่ในบริเวณที่มีเมือกหนาแน่น 30

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย