

บทที่ 2

อุปกรณ์ และ วิธีการ

เชื้อที่ใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 100 สายพันธุ์ เป็นเชื้อ P. pseudo-
mallei จำนวนทั้งหมด 43 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย
จำนวน 37 สายพันธุ์ เป็นเชื้อที่ได้จากสิ่งแวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์ เป็น
เชื้อที่แยกได้จากสัตว์จำนวน 1 สายพันธุ์ และเป็นเชื้อสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน
3 สายพันธุ์ เชื้อ P. aeruginosa จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อ
ที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 2 สายพันธุ์ เป็นเชื้อที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม
จำนวน 2 สายพันธุ์ และเป็นเชื้อสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 1 สายพันธุ์ เชื้อ
P. putida จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย
จำนวน 2 สายพันธุ์ เชื้อที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์ และ
สายพันธุ์อ้างอิง 1 สายพันธุ์ เชื้อ P. fluorescens จำนวนทั้งหมด 5
สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่แยกได้จาก
สิ่งแวดล้อมจำนวน 2 สายพันธุ์ เชื้อ P. acidovorans จำนวนทั้งหมด 5
สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อแยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 2 สายพันธุ์ แยกได้จากสิ่ง
แวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์อ้างอิง จำนวน 1 สายพันธุ์ P.
alcaligenes จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย
จำนวน 3 สายพันธุ์ และเชื้อที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์
P. diminuta จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย
จำนวน 2 สายพันธุ์ แยกได้จากสิ่งแวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์ และสาย
พันธุ์อ้างอิง 1 สายพันธุ์ P. stutzeri จำนวน ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่ง
เป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 2 สายพันธุ์ แยกได้จากสิ่งแวดล้อม
จำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 1 สายพันธุ์ P. cepacia
จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 2 สาย
พันธุ์ แยกได้จากสิ่งแวดล้อมจำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์อ้างอิง

จำนวน 1 สายพันธุ์ P. pickettii จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 3 สายพันธุ์ และ แยกได้จากสิ่งแวดล้อมจำนวน 2 สายพันธุ์ Pseudomonas species group VE-2 จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 3 สายพันธุ์ และที่แยกได้จาก สิ่งแวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์ P. maltophilia จำนวนทั้งหมด 5 สายพันธุ์ แบ่งเป็นที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 2 สายพันธุ์ แยกได้จากสิ่งแวดล้อม จำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์อ้างอิงจำนวน 1 สายพันธุ์ กลุ่มสุดท้ายคือกลุ่ม Unclassified Pseudomonas ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถจัดเข้าสปีชีส์ใด ๆ ได้ จำนวน 2 สายพันธุ์ รายละเอียดแหล่งที่มาของเชื้อ แสดงไว้ใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงรหัสของสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ใช้, ชื่อเชื้อ, ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้ และแหล่งที่มาของเชื้อ

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P01	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P02	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P03	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P04	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P05	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ. ขอนแก่น
P06	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ. ขอนแก่น
P07	<u>P. pseudomallei</u>	เสมหะ	ร.พ. ฉะเชิงเทรา
P08	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ. บุรีรัมย์
P09	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ. ยโสธร
P10	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ. ระยอง
P11	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ. ร้อยเอ็ด
P12	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ. ร้อยเอ็ด
P13	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ. ร้อยเอ็ด
P14	<u>P. pseudomallei</u>		ร.พ. พุทธชินราช
P15	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาฯ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P16	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P17	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ.มหาสารคาม
P18	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P19	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P20	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
P21	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P22	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิท- ยาลัย
P23	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ.เจ้าพระยา- อภัยภูเบศร์
P24	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ.สงขลา
P25	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ.สงขลา
P26	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ.สงขลา
P27	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ.สงขลา
P28	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ.มหาราช จ.นครศรีธรรมราช
P29	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	มหาวิทยาลัยสงขลา นครินทร์
P30	<u>P. pseudomallei</u>	เสมหะ	มหาวิทยาลัยสงขลา นครินทร์
P31	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ.พุทธชินราช
P32	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ.สามโคก จ.เชียงใหม่
P33	<u>P. pseudomallei</u>	ปัสสาวะ	ร.พ.สามโคก จ.เชียงใหม่

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P34	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ.สามโคก จ. เชียงใหม่
P35	<u>P. pseudomallei</u>	หนอง	ร.พ. ขอนแก่น
P36	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	ร.พ. ขอนแก่น
P37	<u>P. pseudomallei</u>	เลือด	บางพระ จ. ขอน- แก่น
P38	<u>P. pseudomallei</u>	ดิน	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
P39	<u>P. pseudomallei</u>	ดิน	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
P40	<u>P. pseudomallei</u>	วัว	บางพระ จ. ขอน- แก่น
P41	<u>P. pseudomallei</u> NCTC 4845	สิ่ง	Dr. D. A. B. Dance
P42	<u>P. pseudomallei</u> NCTC 7431	คน	Dr. D. A. B. Dance
P43	<u>P. pseudomallei</u> DMS 0732	ดิน	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P44	<u>P. cepacia</u> ATCC 17759	-	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P45	<u>P. cepacia</u>	น้ำกรอง	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P46	<u>P. cepacia</u>	เลือด	ร.พ.จุฬาลงกรณ์
P47	<u>P. cepacia</u>	Nebulizer air	ร.พ.จุฬาลงกรณ์
P48	<u>P. cepacia</u>	เลือด	ร.พ.จุฬาลงกรณ์
P49	<u>P. maltophilia</u> JCM 3801	-	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P50	<u>P. maltophilia</u>	เลือด	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P51	<u>P. maltophilia</u>	หนอง	ร.พ.เด็ก
P52	<u>P. maltophilia</u>	หนองจากตา	ร.พ.ฉะเชิงเทรา
P53	<u>P. maltophilia</u>	เลือด	ร.พ.พระปกเกล้าฯ
P54	<u>P. putida</u> ATCC 12633		คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P55	<u>P. putida</u>	เชื้อปนเปื้อนใน อาหารเลี้ยงเชื้อ	แยกได้เอง
P56	<u>P. putida</u>	เลือด	ร.พ.จุฬาลงกรณ์
P57	<u>P. putida</u>	หนอง	แยกได้เอง
P58	<u>P. putida</u>	อากาศในหอผู้ป่วย	แยกได้เอง
P59	<u>P. aeruginosa</u> ATCC 10145	-	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P60	<u>P. aeruginosa</u>	เลือด	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P61	<u>P. aeruginosa</u>	หนอง	ร.พ.นราธิวาส
P62	<u>P. aeruginosa</u>	บ่อน้ำฝน	แยกได้เอง
P63	<u>P. aeruginosa</u>	น้ำสบู	ศูนย์วิทยาศาสตร์ฯ 6 จ.พิษณุโลก
P64	<u>P. pickettii</u> ATCC 27511	ผู้ป่วย	Nissui Pharma- ceutical
P65	<u>P. pickettii</u>	เสมหะ	แยกได้เอง
P66	<u>P. pickettii</u>	หนอง	แยกได้เอง
P67	<u>P. pickettii</u>	อากาศในหอผู้ป่วย	แยกได้เอง
P68	<u>P. pickettii</u>	ป้ายจากถาดแช่- เครื่องมือ	แยกได้เอง
P69	<u>P. stutzeri</u> ATCC 17587	-	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P70	<u>P. stutzeri</u>	ดิน	ร.พ.สงขลา
P71	<u>P. stutzeri</u>	เครื่องมือผ่าตัด	แยกได้เอง
P72	<u>P. stutzeri</u>	เลือด	ร.พ.เตี๊ยก
P73	<u>P. stutzeri</u>	ปัสสาวะ	ร.พ.พระปกเกล้าฯ
P74	<u>P. acidovorans</u> ATCC 15668	ดิน	Nissui Pharma- ceutical

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P75	<u>P. acidovorans</u>	หนองจากตา	ร.พ.เด็ก
P76	<u>P. acidovorans</u>	น้ำล้างไต	แยกได้เอง
P77	<u>P. acidovorans</u>	นม	สวนจิตรลดา
P78	<u>P. acidovorans</u>	อุจจาระ	ร.พ.ขอนแก่น
P79	<u>P. fluorescens</u> ATCC 13525	Pre-filter tanks	Nissui Pharma- ceutical
P80	<u>P. fluorescens</u>	เลือด	ร.พ.จุฬาลงกรณ์
P81	<u>P. fluorescens</u>	เสมหะ	ร.พ.ชุมพร
P82	<u>P. fluorescens</u>	น้ำในสระ	ร.พ.พระปกเกล้าฯ
P83	<u>P. fluorescens</u>	น้ำยา Savlon	แยกได้เอง
P84	<u>P. alcaligenes</u> ATCC 14909	Swimming-pool water	Nissui Pharma- ceutical
P85	<u>P. alcaligenes</u>	บัสสาวะ	ร.พ.ระยอง
P86	<u>P. alcaligenes</u>	เลือด	แยกได้เอง
P87	<u>P. alcaligenes</u>	อากาศนทอผู้ป่วย	แยกได้เอง
P88	<u>P. alcaligenes</u>	ป้ายจากเครื่องมือใน นทอผู้ป่วย	แยกได้เอง
P89	<u>Pseudomonas</u> sp. group VE-2 JCM 2952	-	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ



ตารางที่ 1 (ต่อ)

รหัสสายพันธุ์	ชื่อเชื้อ	ตำแหน่งที่แยกเชื้อได้	แหล่งที่มาของเชื้อ
P90	<u>Pseudomonas</u> sp. group VE-2	ป้ายจากรักแร้	ร.พ. พระปกเกล้าฯ
P91	<u>Pseudomonas</u> sp. group VE-2	น้ำไขสันหลัง	ร.พ. นครปฐม
P92	<u>Pseudomonas</u> sp. group VE-2	อากาศในหอผู้ป่วย	ร.พ. พระปกเกล้าฯ
P93	<u>Pseudomonas</u> sp.	อากาศห้องผ่าตัด	แยกได้เอง
P94	<u>Pseudomonas</u> <u>diminuta</u> ATCC 11568	-	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P95	<u>P. diminuta</u>	เลือด	แยกได้เอง
P96	<u>P. diminuta</u>	ปัสสาวะ	แยกได้เอง
P97	<u>P. diminuta</u>	อากาศห้องผ่าตัด	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P98	<u>P. diminuta</u>	ป้ายจากเครื่องมือ ผ่าตัด	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P99	Unclassified <u>Pseudomonas</u>	หนอง	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ
P100	Unclassified <u>Pseudomonas</u>	เลือด	คุณสุรางค์ เดชศิริ- เลิศ

NCTC = National Collection of Type culture
 ATCC = American Type Culture Collection
 JCM = Japan Collection of Microorganisms
 DMS = Department of Medical Sciences, National Institute
 of Health, Ministry of Public Health, Nonthaburi,
 Thailand

Dr. D.A.B. Dance = หน่วยวิจัยเวลคัม คณะเวชศาสตร์เขตร้อน
 มหาวิทยาลัยมหิดล

คุณ สุรางค์ เดชศิริเลิศ = ฝ่ายבקเตรีทั่วไป กองพยาธิวิทยาคลินิก
 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขแห่งชาติ
 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ขั้นตอนการเก็บเชื้อไวรัสดลอง

เชื้อที่ได้รับมาทั้งหมดจะนำมา subculture บน blood agar plate เพื่อดูความบริสุทธิ์ของเชื้อว่ามีเชื้ออื่นปนเปื้อนหรือไม่ เชื้อจะถูกเก็บไว้ใน skim milk ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส และบางส่วนจะเก็บไว้ใน stock culture media (Difco) เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องเพื่อการศึกษาต่อไป.