



บทที่ 5

วิจารณ์และสรุป

การย้อมจากสิ่งตรวจโดยตรง ย้อมสีแกรมพบลักษณะเป็น gram negative diplococci 53 ราย วิธีฟลูออเรสซินแอนติบอดี เมื่อเทียบกับการย้อมสีแกรม พบผลเป็นบวก (เรืองแสง) 50 ราย และโทผลลบ (ไม่เรืองแสง) 3 ราย การที่ย้อมฟลูออเรสซินให้ผลเป็นลบ 3 ราย อาจจะเป็นผลที่เกิด false negative เนื่องจากคอนจูเกทที่ใช้ในการย้อมฟลูออเรสซินเป็นคอนจูเกทที่เตรียมสำเร็จโดย Difco Laboratories ที่ใช้ในการทดลอง Deacon และคณะ<sup>(7)</sup> ทำการทดลองพบว่าการใช้วิธีฟลูออเรสซินแอนติบอดีในการตรวจหาเชื้อ Neisseria gonorrhoeae โดยเตรียมคอนจูเกทขึ้นเองนั้น จะมีความจำเพาะต่อเชื้อ N. gonorrhoeae สายพันธุ์นั้น เพราะเชื้อแต่ละสายพันธุ์จะมีส่วนประกอบของแอนติเจนแตกต่างกัน หรือในกรณีที่มีเชื้ออยู่เป็นจำนวนน้อย เมื่อนำมาย้อมด้วยวิธีฟลูออเรสซินแอนติบอดีจะทำให้เกิดผลเป็นลบได้ Young และคณะ<sup>(38)</sup> ทำการทดลองพบว่า ข้อเสียของการย้อมฟลูออเรสซินแอนติบอดี คือ ไม่สามารถตรวจเชื้อที่มีอยู่เป็นจำนวนน้อย และจะไม่ให้ผลลบที่แน่ชัดคือ non-gonococcal neisseriae ที่มีจำนวนน้อย

การเพาะเชื้อจากสิ่งตรวจบน Thayer-Martin medium พบเชื้อ N. gonorrhoeae 44 ราย เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar 2 ราย แต่ไม่เจริญบน TM และไม่พบเชื้อบนอาหารทั้งสองชนิดนี้ 7 ราย ซึ่งจากการย้อมสีแกรมจากสิ่งตรวจโดยตรงพบลักษณะของเชื้อ 53 ราย การที่เชื้อไม่เจริญบน TM แต่เจริญบน blood agar เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อ TM มียาปฏิชีวนะที่ใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น คือ แวนโคมัยซิน ปนอยู่ ซึ่ง Bronson และคณะ<sup>(34)</sup> พบว่ามีเชื้อ N. gonorrhoeae บางสายพันธุ์ที่มีความไวต่อยาแวนโคมัยซิน จึงไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TM ได้ แต่กลับเจริญบน blood agar ซึ่งไม่มียาปฏิชีวนะปนอยู่ Phillips และคณะ<sup>(54)</sup> ทำการวิเคราะห์เชื้อ N. gonorrhoeae

จากหนองของผู้ป่วย โดยเพาะเชื้อบน selective media ที่ประกอบด้วยยาปฏิชีวนะพวก แวนโคมัยซิน โคลิสติน นิสตาติน และ ไตรเมโทโทพริม โดยเปรียบเทียบกับการย้อมสีแกรมและการย้อมฟลูออเรสซินแอนติบอดี พบว่า 10 % ของตัวอย่างที่เขาทำการทดลองพบลักษณะของ N. gonorrhoeae ในการย้อมสีแกรม แต่เพาะเชื้อไม่ขึ้น ทำการพิสูจน์พบว่า เกิดจากสายพันธุ์ที่ไวต่อยาแวนโคมัยซิน McMillan และ Pattman<sup>(55)</sup> ทดลองเพาะเชื้อ N. gonorrhoeae จากผู้ป่วยชายจำนวน 5,076 ราย พบว่าเป็นโรคหนองในแท้ 957 ราย โดยการย้อมสีแกรมและการเพาะเชื้อ มีอยู่ 67 รายที่พบลักษณะของโกโนคอคคัสจากการย้อมสีแกรม แต่เพาะเชื้อไม่ขึ้น เขาอธิบายว่าอาจจะเกิดจากที่เชื้อไม่สามารถมีชีวิตอยู่ใน Stuart's transport medium เพราะพวกโคลิฟอร์ม (coliform) อาจจะเจริญในอาหารแบบนี้ และยับยั้งการเจริญของเชื้อ N. gonorrhoeae นอกจากนั้นประมาณ 3 % ของสายพันธุ์ของเชื้อ N. gonorrhoeae ที่ไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแวนโคมัยซินประกอบอยู่ Taylor และ Phillips<sup>(35)</sup> ได้ศึกษาการเพาะเชื้อ N. gonorrhoeae บน selective medium และ non-selective medium พบว่าเชื้อ N. gonorrhoeae ที่แยกได้ 10 ราย ถูกยับยั้งการเจริญโดยแวนโคมัยซิน Exner และคณะ<sup>(56)</sup> ทำการทดลองหาสายพันธุ์ที่ไวต่อยาแวนโคมัยซิน โดยศึกษาทาง auxotype พบว่ามี auxotype เป็น arginine, hypoxanthine และ uracil

ส่วนในกรณีที่ย้อมสีแกรมพบเชื้อแต่เพาะเชื้อไม่ขึ้น ไม่ว่าจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบใด เนื่องจากผู้ป่วยบางรายซื้อยาทานก่อนที่จะเข้ามารับการรักษาในคลินิก กามโรค ยานบางชนิดจะยับยั้งการเจริญของเชื้อ (bacteristatic) ทำให้เชื้อหยุดการเจริญ แต่ไม่ไคมาเชื้อ หนองยังอาจจะไหลอยู่ และพบเชื้อจากการย้อมสีแกรมจากสิ่งตรวจโดยตรง แต่เพาะเชื้อไม่ขึ้นเพราะเชื้อถูกยับยั้งการเจริญไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้<sup>(51)</sup> Smeltzer และคณะ<sup>(53)</sup> พบว่าการให้การรักษาแก่ผู้ป่วยหญิงที่เป็นโรคหนองใน ก่อนที่จะทำ presumptive criteria จะเสี่ยงต่อการแยกเชื้อที่ไม่ใช่ N. gonorrhoeae

Thayer-Martin medium เมื่ออบเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วไม่พบเชื้อ

จะพบเชื้อเมื่ออบต่ออีก 24 ชั่วโมง Westbrook<sup>(58)</sup> พบว่าเกิดจากมีเชื้ออยู่น้อยใน  
 สิ่งตรวจ หรือคนไข้ได้รับการรักษามาบ้างแล้วก่อนที่จะทำการเพาะเชื้อ

ผลการย้อมสีแกรมและการย้อมฟลูออเรสซินจากเชื้อที่เพาะขึ้นบนอาหารเลี้ยง  
 เชื้อ จะให้ผลเท่ากัน Lucas และคณะ<sup>(57)</sup> ศึกษาพบว่า การเพาะเชื้อบน TM และ  
 การใช้วิธี delayed FA จะให้ผลพอ ๆ กัน แต่หากคนไข้ได้รับการรักษาแล้ว การ  
 เพาะเชื้อจะให้ผลลบ ส่วนการย้อมฟลูออเรสซิน จะให้ผลเป็นบวกถ้าเชื้อยังคงอยู่  
 (จากตาราง 3.4)

Deacon และคณะ<sup>(8)</sup> บอกถึงประโยชน์ของการย้อมฟลูออเรสซินโดยตรง  
 ( direct ) และจากการเพาะเชื้อ ( delayed FA ) ว่า การย้อมฟลูออเรสซิน  
 เพื่อหาเชื้อ N. gonorrhoeae จากสิ่งตรวจโดยตรงมีขีดจำกัดและขึ้นอยู่กับจำนวน  
 ของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคตรงบริเวณที่เก็บตัวอย่าง แต่จะมีผลต่อการย้อมฟลูออเรสซิน  
 จากการเพาะเชื้อน้อยมาก เขาจึงสรุปว่า การย้อมฟลูออเรสซินจากการเพาะเชื้อ  
 อาจจะใช้ในการวิเคราะห์ยืนยันว่าเป็นเชื้อ N. gonorrhoeae โดยตรงโดยเฉพาะ  
 ในกรณีที่เป็นสิ่งตรวจจากผู้ป่วยหญิง Lind<sup>(10)</sup> ทำการย้อมฟลูออเรสซินจากสิ่งตรวจ  
 โดยตรง พบว่าการย้อมฟลูออเรสซินจะให้ผลเท่ากันกับการย้อมสีแกรม แต่ถ้า  
 เปรียบเทียบการเพาะเชื้อกับการย้อมฟลูออเรสซินแบบ delayed พบว่าแบบ  
 delayed จะมีความไวและรวดเร็วในการยืนยันเชื้อ N. gonorrhoeae Lind<sup>(61)</sup>  
 กล่าวถึงประโยชน์ของการย้อมฟลูออเรสซินว่า การย้อมด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของ  
 fluorescein isothiocyanate - labelled immunoglobulin G antibodies  
 และเป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย การทดสอบทางอิมมูโนฟลูออเรสซิน สามารถ  
 วิเคราะห์เชื้อ N. gonorrhoeae จากการเพาะเชื้อครั้งแรกในผู้ป่วยชายถึง 95 %  
 และในผู้ป่วยหญิง 93 % Thin และคณะ<sup>(62)</sup> ทดลองใช้วิธีย้อมฟลูออเรสซินจากสิ่ง  
 ตรวจโดยตรง และการย้อมฟลูออเรสซินจากการเพาะเชื้อ ในการวิเคราะห์เชื้อ  
N. gonorrhoeae พบว่า การย้อมฟลูออเรสซินจากการเพาะเชื้อจะให้ผลบวกมากกว่า  
 การย้อมฟลูออเรสซินโดยตรง นอกจากนั้นยังอ่านผลได้ง่าย เขายังพบว่าคนไข้ที่ได้รับการ  
 การติคเชื้อซ้ำจะให้ผลบวกกับการย้อมฟลูออเรสซินเพียงอย่างเดียว McMillan  
 และคณะ<sup>64</sup> ใช้วิธี indirect immunofluorescent antibody

ในการวิเคราะห์เชื้อ N. gonorrhoeae พบว่าได้ผลต่ำกว่าการย้อมสีแกรม และค่าใช้จ่ายสูงเกินกว่าที่จะใช้เป็นวิธีในการวิเคราะห์ที่จำเป็นประจำทุกวัน

การทดสอบยืนยันเชื้อ N. gonorrhoeae โดยปฏิกิริยาทางชีวเคมี พบว่าปฏิกิริยาออกซิเคสให้ผลบวกกับการเพาะเชื้อทุกราย การเฟอร์เมนต้น้ำตาลกลูโคสจะให้ผลลบในเชื้อ N. gonorrhoeae ที่แยกได้ 2 ราย ซึ่งอาจจะเกิดจากสารบางตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ ซิสทีน หรือ ซิสทีน-โคโซเคียมซัลไฟด์ (  $Cystine - Na_2SO_3$  ) ที่ประกอบอยู่ใน CTA-medium เป็นปัจจัยในการยับยั้งการเจริญและการใช้น้ำตาลกลูโคสเพียงบางส่วนหรือทั้งหมดของเชื้อ (74) หรือ เกิดในกรณีที่สายพันธุ์ของเชื้อ N.

gonorrhoeae เป็นพวก delayed glucose utilization จากการศึกษ ของ Arko และคณะ (60) พบว่า ปัญหาในการใช้น้ำตาลของเชื้อ N. gonorrhoeae เกิดเพราะสายพันธุ์บางสายพันธุ์ของเชื้อเฟอร์เมนต้น้ำตาลกลูโคสช้ามาก

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เชื้อ N. gonorrhoeae โดยวิธีเฟอร์เมนต้น้ำตาล วิธีย้อมฟลูออเรสซิน และวิธี coagglutination พบว่าวิธี coagglutination จะให้ผลดีกว่าวิธีเฟอร์เมนต้น้ำตาล และให้ผลเท่ากับวิธีย้อมฟลูออเรสซิน และวิธีเฟอร์เมนต้น้ำตาล พบว่าวิธี coagglutination โดยใช้แอนติซีรัมที่เตรียมสำเร็จรูป เรียกว่า Phadebact Gonococcus Test จะให้ผลดีเท่ากับวิธีย้อมฟลูออเรสซิน และให้ผลดีกว่าวิธีเฟอร์เมนต้น้ำตาล เพราะเชื้อ N. gonorrhoeae บางสายพันธุ์ไม่เจริญเมื่อทำการ subculture เขาสรุปว่าการใช้ Phadebact Gonococcus Test จะให้ผลที่รวดเร็วกว่าและง่ายในการทดสอบยืนยันเชื้อ N. gonorrhoeae กว่าวิธีย้อมฟลูออเรสซินที่ต้องอาศัยความชำนาญและกลองฟลูออเรสซิน ส่วนวิธีเฟอร์เมนต้น้ำตาลต้องเสียเวลาในการ subculture เชื้อ Anand และ Kadis (66) ; Lewis และ Martin (67) แนะนำให้ใช้วิธี coagglutination โดยใช้ Phadebact Gonococcus Test ในการทดสอบยืนยันเชื้อ N. gonorrhoeae เพราะเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่ทำการแยกเชื้อ N. gonorrhoeae เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในกรณีที่เกิดปัญหาเกี่ยวกับวิธีเฟอร์เมนต้น้ำตาล Young และ McMillan (38) (1982) ได้ทำการทดลองและยืนยันว่า การใช้ Phadebact Gonococcus Test

เป็นวิธีที่เชื่อถือได้ในการพิสูจน์เชื้อ N. gonorrhoeae และค่าใช้จ่ายในการทดสอบก็ถูกกว่าการใช้วิธีย้อมฟลูออเรสซิน

การทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อ N. gonorrhoeae ทั้ง 46 สายพันธุ์ มีความไวต่อยาคลาฟอแรน หรือมีชื่อทางการค้าว่า เชฟคฟแทคซิม (cefotaxime) และใช้ได้ผลในกรณีที่เชื้อคือตอยาเพนนิซิลิน<sup>(47)</sup> มีอยู่ 14 สายพันธุ์ที่คือตอยาเพนนิซิลิน แอมพิซิลิน และเมทธิซิลิน ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เรียกว่า multiple resistance เกิดจากผู้ป่วยที่เป็นโรคนองในส่วนใหญ่มักจะซื้อยารับประทานเองก่อนที่จะมารับการรักษา<sup>(46)</sup> Warner และคณะ<sup>(68)</sup> ศึกษาทางด้านพันธุกรรมของเชื้อ N. gonorrhoeae ที่คือตอยาเพนนิซิลิน และ เตทตราซัยคลิน ว่าเกิดจาก multiple - drug resistance polygene

สายพันธุ์ที่คือตอยาเพนนิซิลิน 21 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบการสร้างเบต้า-แลคตาเมสพบว่า เชื้อที่คือตอยาเพนนิซิลินและสร้างเบต้า-แลคตาเมสมีอยู่ 18 สายพันธุ์ และอีก 3 สายพันธุ์ คือตอยาเพนนิซิลินแต่ไม่สร้างเบต้า-แลคตาเมส Perine และคณะ<sup>2</sup> พบว่าสายพันธุ์ที่สร้างเบต้า-แลคตาเมสนี้สามารถถ่ายทอดคุณสมบัตินี้ให้กับสายพันธุ์อื่น โดยผ่านทางพลาสมิด โดยวิธีคอนจูเกชัน Shtible<sup>(60)</sup> พบว่าสายพันธุ์ที่ไม่สร้างเบต้า-แลคตาเมส แต่คือตอยาเพนนิซิลิน เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ chromosomally gene ของเชื้อ เป็นผลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ผนังเซลล์ภายนอกและแปปติโคไกลแคน Catlin และ Reyn<sup>(63)</sup> ทำการศึกษาเชื้อโกโนคอคคัสสายพันธุ์ที่แยกได้ ระหว่างปี ค.ศ. 1935 และ 1948 ซึ่งก่อนที่จะใช้ยาเพนนิซิลินในการรักษาโรคนองในพบว่า สายพันธุ์ที่คือตอยาซัลฟา มีความต้องการแอมมิโนแอซิดในการเจริญ คือ เมทไทโอนีน และยังพบอีกว่า สายพันธุ์ที่ไวต่อยาเพนนิซิลินและยาดอื่น ๆ มี auxotype เป็น AUH ( arginine, hypoxanthine และ uracil )

สังเคราะห์จากผู้ป่วยจำนวน 100 รายที่แพทย์ทำการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าเป็นโรคทอปัสสาวะอักเสบ หรือโรคนองในเทียม หรือปัสสาวะอักเสบ เมื่อนำมาย้อมสีแกรม พบว่ามีลักษณะเป็น intracellular gram negative diplococci เพียง 53 ราย ผู้ป่วยที่มีอาการเป็นโรคทอปัสสาวะอักเสบ 82 ราย เมื่อย้อม

ฟลูออเรสซินจากสิ่งตรวจโดยตรงจะให้ผลใกล้เคียงกับย้อมสีแกรม แต่การย้อมฟลูออเรสซินต้องเสียเวลานานและอาศัยความชำนาญมากกว่าการย้อมสีแกรม ซึ่งในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลทั่ว ๆ ไปจะต้องคำนึงถึงความสะดวกและรวดเร็วในการบริการคนไข้ ดังนั้น การย้อมสีแกรมจากสิ่งตรวจของคนไข้ที่แพทย์ทำการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าเป็นโรคหอบัสสาวะอักเสบโดยตรง ก็เพียงพอต่อการที่ยืนยันการวินิจฉัยว่าคนไข้นั้นเป็นโรคหอบัสสาวะอักเสบที่เกิดจากเชื้อ N. gonorrhoeae หรือเชื้ออื่น การย้อมฟลูออเรสซินจะให้ผลที่ชัดเจนและแน่นอนกว่าผลการทดสอบทางชีวเคมี เมื่อนำมาใช้เป็นวิธีทดสอบยืนยันการเพาะเชื้อจากสิ่งตรวจว่าเป็นเชื้อ N. gonorrhoeae จริง ในกรณีของคนไข้หญิง ถ้าคนไข้ติดเชื้อหนองใน การย้อมสีแกรมก็สามารถจะพบลักษณะของเชื้อ นอกจากนี้ในกรณีที่คนไข้ได้รับการรักษาหรือทานยามาบ้างแล้ว จะพบเชื้อได้ค่อนข้างยาก ต้องอาศัยการเพาะเชื้อ

จึงเห็นได้ว่า การย้อมสีแกรมจากสิ่งตรวจโดยตรง จะให้ความสะดวก รวดเร็วกว่าการย้อมฟลูออเรสซินแอนติบอดี สำหรับงานในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไป ที่เป็นงานประจำ ( routine laboratory ) และไม่ต้องอาศัยความชำนาญมากนัก ส่วนในการทดสอบยืนยันว่าเชื้อที่ได้จากการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะนั้นคือเชื้อ N. gonorrhoeae ได้มีบริษัท Pharmacia AB ผลิตแอนติซีรัมสำเร็จรูปที่เรียกว่า Phadebact Gonococcus Test ขึ้นใช้ในการทดสอบเชื้อ N. gonorrhoeae พบว่าให้ผลดีพอกับการย้อมแบบ delayed FA และใช้เวลาในการทดสอบสั้นกว่า ประหยัดกว่าวิธีฟลูออเรสซินแอนติบอดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย