หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ความรู้พื้นฐาน

ประวัติของเชื้อโกโนคอคคัย

นักประวัติศาสตร์ทางการแพทย์บางคนเห็นว่า การขลิบหนังหุ้มปลายหัวลึงค์เพื่อป้องกันหัวลึงค์อักเสบ เป็นอาการแทรกซ้อนของโรคหนองใน Galen (คริสต์ศักราช 130) เป็นคนแรกที่ใช้คำว่า หนองใน (gonorrhea) ซึ่งแปลว่า กระแสของเชื้อ ระหว่างปลายสมัยกลางของประวัติศาสตร์ ค.ศ.1767 John Hunter เข้าใจกันว่าโรคหนองในเป็นอาการของโรคซิฟิลลิส ต่อมาในปี ค.ศ.1830 Ricord ได้จำแนกโรคทั้งสองออกจากกัน ปี ค.ศ.1879 Neisser ได้พิสูจน์ และพบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคหนองใน เขาเรียกว่าเชื้อ N.gonorrhoeae [1] หลายปีต่อมา Bumm (1885) แยกได้เชื้อบริสุทธิ์ และแสดงสมุฏฐานวิทยาของโรคนี้ โดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาสาสมัครชาย[15] ในปี ค.ศ.1894 Finger, Ghon และ Schlagenhauter ได้บรรยายถึง histopathology ของโรคหนองใน โดยทำการศึกษาจากศพของคนไข้ที่ติดเชื้อจากโรคอื่นในช่วงสุดท้าย โรคหนองในนี้เป็นที่สนใจในทางบักเตรีวิทยา สาธารณสุข และอนามัยในช่วง 30 ปีที่ผ่านมา ในปี ค.ศ.1943 นักวิทยาศาสตร์ได้เพิ่มความสนใจในโรคหนองในมากขึ้น ทำให้มีการศึกษาความไวของเชื้อต่อยา พบว่าเชื้อ N.gonorrhoeae มีความไวต่อยาเพนนิซิลลิน[1]

ต่อมาได้มีนักวิทยาศาสตร์สนใจศึกษาถึงรายละเอียดในด้านต่าง ๆ ของเชื้อ N.gonorrhoeae เช่น คุณสมบัติการเป็นแอนตีเจนของเชื้อ การรับและนำส่งสิ่งตรวจ การเพาะเชื้อ และการวิเคราะห์และพิสูจน์เชื้อ

การจัดจำแนกเชื้อ N.gonorrhoeae

จากหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology จัดเชื้อ N.gonorrhoeae อยู่ใน Family Neisseriaceae เชื้อในนี้ มีลักษณะเป็นทรงกลมอยู่กันเป็นคู่ หรือหันส่วนแบนเข้าหากัน หรือเป็นแห่งอยู่กัน

เป็นคู่ หรือสายสั้น ๆ ไม่มีอวัยวะสำหรับเคลื่อนที่ ติดสีแกรมลบ

บาง species ให้ xanthophyll pigment บาง species มีความต้องการที่สลับซับซ้อนในการเจริญ และเจริญได้ช้าในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา

species ส่วนใหญ่สร้างแคตตาเลส และ ไซโตโครม ออกซิเดส

เจริญในที่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่พอเหมาะแก่การเจริญประมาณ 35-37° ซ.

ที่เป็นปาราไซด์ได้แก่ Neisseria, Branhamella, Moraxella

ที่เป็นซาโปรไฟต์ หรือ ทำให้เกิดโรคได้ในบางโอกาส ได้แก่

Acinetobacter

คุณสมบัติที่ใช้ในการแยกเชื้อใน family นี้ ตามตารางที่ 1

Genus Neisseria

รูปร่างเป็นคอคคัย เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6-1.0 มิลลิไมครอน โดยทั่วไปพบเป็นคู่ โดยหันด้านแบนเข้าหากัน ไม่สร้างเอนโดสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ อาจจะพบเปลือกหุ้ม

จัดเป็นแกรมลบ

มีอยู่ 2 species ที่สร้างสารที่มีสี ทำให้โคโลนีมีสีเหลืองเขียว

ความต้องการในการเจริญเติบโตสลับซับซ้อน บาง species สามารถทำลายเม็ดเลือดแดง

ย่อยคาร์โบไฮเดรทได้ 2-3 ชนิด

สร้างแคตตาเลส และ ไซโตโครมออกซิเดส

เป็นปาราไซด์กับเยื่อเมือกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

G + C content ของ DNA อยู่ระหว่าง 47.0-52.0 โมล %

Type Species : Neisseria gonorrhoeae (ดูความแตกต่างตามตารางที่ 2)

Neisseria gonorrhoeae

ชื่อทั่วไป คือ โกโนคอคคัย

รูปร่างลักษณะ เชื้อ N.gonorrhoeae มีลักษณะกลม อยู่เป็นคู่ ลักษณะคล้ายไตหรือถั่วผ่าซีก โดยหันด้านราบเข้าหากัน เรียกว่า diplococcus ขนาด

เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6-1.0 มิลลิไมครอน ติดสีแกรมลบ ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีเปลือกหุ้ม และไม่สร้างสปอร์ (1,5,6,14) การย้อมสีจากสิ่งส่งตรวจมักจะพบเชื้ออยู่ภายในเซลเม็ดเลือดขาว ถ้าเป็นเชื้อที่มีชีวิต แต่ถ้าเป็นเชื้อที่ตายแล้วจะพบเชื้ออยู่ภายนอกเม็ดเลือดขาว(15)

<u>การเจริญ</u> การเจริญเติบโตของเชื้อโกโนคอคคัย ต้องการอาหารพิเศษ ซึ่งมีส่วนประกอบที่เป็นพื้นฐาน ได้แก่ กรดอะมิโน น้ำตาลกลูโคส เกลือ และสารรีดิวซิง และเชื้อจะเจริญได้ดียิ่งขึ้นถ้าเติมสารจำพวกวิตามิน โคเอ็นไซม์ ไนโตรเจนเบส และ เมตาโบลิต อินเทอร์มิเดียท ลงไปด้วย

เชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u> ต้องการอ็อกซิเจนในการเจริญ และต้องอยู่ภายใต้บรรยากาศของคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 35° ซ.

การแยกเชื้อครั้งแรกบน selective media (เช่น Thayer-Martin media) จะไม่สร้างสี ไม่เจริญบน eosin methylene blue หรือ McConkey medium

เชื้อเจริญได้ดีบน chocolate agar ความเป็นกรดเป็นด่างที่พอเหมาะแก่การเจริญตั้งแต่ 7.2-7.6 การเพาะเชื้อบน enriched media ภายใน 24 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีจะเล็กและมีอยู่เล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี 0.6-1.0 มิลลิเมตร โคโลนีค่อนข้างใส บางขอบไม่สม่ำเสมอ เป็นรอยหยัก หลังจากเจริญ 2-3 วัน โคโลนีอาจจะมีลักษณะคล้ายหูด ในบางกรณีจะพบโคโลนีหลังจากอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เจริญไม่ดีในอาหารเหลวที่เป็นซีรั่ม ซึ่งอาจจะ ซึ่งอาจจะขุ่นเล็กน้อย หรือไม่ขุ่น หลังจากอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (14,15)

<u>ลักษณะของโคโลนี</u> โคโลนีของเชื้อโกโนคอคคัยมีอยู่ 4 ชนิด โคโลนีที่มีขนาดเล็กจะเป็นโคโลนีชนิด T1 และ T2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง ส่วนโคโลนีชนิด T3 และ T4 จะมีขนาดใหญ่และไม่มีความรุนแรง จากการทดลองเพาะเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ในอาสาสมัครชาย(5)

Dellogg และคณะ(16,17) ได้บรรยายถึงลักษณะของโคโลนีทั้ง 4 ชนิดไว้ดังนี้

ชนิดที่ 1 โคโลนีขนาดเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.05 มม.) กลม มีสีเหลืองทองออกดำ โปร่งแสง เหนียวเล็กน้อย ละลายน้ำเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อละลายในน้ำเกลือ

เชื้อจะจับกันเป็นก้อน

ชนิดที่ 2 ลักษณะโดยทั่วไปคล้ายชนิดที่ 1 แต่ขอบของโคโลนีจะเรียบและบางครั้งก็เป็นหยัก โคโลนีจะแตกเป็นชิ้นใหญ่ เมื่อละลายในน้ำเกลือจะจับกันเป็นท่อน ๆ

ชนิดที่ 3 โคโลนีมีขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มม.) นูนเล็กน้อย ขอบกลมเรียบละลายได้ดีในน้ำเกลือ

ชนิดที่ 4 โคโลนีคล้ายชนิดที่ 3 ทั้งขนาดและรูปร่าง ไม่มีสี ละลายเป็นเนื้อเดียวกันในน้ำเกลือ

เมื่อเร็ว ๆ นี้ Jephcott และ Reyn [18] ได้รายงานโคโลนีแบบที่ 5 ว่าเป็นสายพันธุ์ที่พบในห้องปฏิบัติการ โคโลนีใหญ่และมีสีน้ำตาลดำ ขอบไม่สม่ำเสมอ บนผิวหน้าของโคโลนีจะมีลักษณะเป็นวงแหวนตรงกลาง

<u>ปฏิกริยาทางชีวเคมี</u> เชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u> จะให้ปฏิกริยาบวกกับน้ำยาสำหรับทดสอบออกซิเดส และน้ำยาสำหรับทดสอบแคตตาเลส[1,6] แต่ถ้าเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1% ของกลูโคส ผลของออกซิเดสจะเป็นลบ[1] เชื้อจะเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสให้กรดแต่ไม่มีแกส ไม่เฟอร์เมนต์น้ำตาลมัลโตส และซูโคส เป็นการแยกเชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u> ออกจากเชื้อ Neisseria ตัวอื่น ๆ (ตามตารางที่ 2)

<u>ความคงทน</u> เชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u> จะตายอย่างรวดเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เชื้อไม่ทนต่อความแห้ง แสงแดด แสงอุลตราไวโอเลต ความเป็นกรดเป็นด่าง และอุณหภูมิ เชื้อจะตายภายใน 2-3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 42° ซ. และจะตายภายใน 2-3 นาที ถ้าถูกความร้อนชื้นที่ 55° ซ. ยาฆ่าเชื้อที่ได้ผลมากคือ ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ และสารประกอบเงิน[1] เชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u> สามารถจะติดอยู่บนผ้าปูที่นอน ผ้าเช็ดตัว รอยเปื้อนบนเสื้อผ้าและมือของแพทย์ พยาบาล และ ผู้ช่วยพยาบาล บน blood agar เชื้อจะมีชีวิตอยู่ประมาณ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 37° ซ. และความชื้นคงที่ อาจจะเก็บเชื้อโดยวิธีแช่แข็ง[15]

<u>คุณสมบัติการเป็นแอนติเจนของเชื้อ N.gonorrhoeae</u>

จากการประชุมขององค์การอนามัยโลก[19] ในหัวข้อที่เกี่ยวกับแอนติเจนของเชื้อ <u>N.gonorrhoeae</u> โดยพิจารณาจากโครงสร้างภายนอกจนถึงไซโตพลาสมิกเมมเบรน มีดังต่อไปนี้

1. พิไล (Pili) จะพบเฉพาะในโคโลนีชนิด T1 และ T2 และเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ ส่วนประกอบของพิไลเป็นโปรตีนเพียงชนิดเดียว น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 21000 และไม่มีเฮกโซส ฟอสฟอรัส และ เฮกโซซามีน พบว่าอย่างน้อยที่สุดเชื้อ N.gonorrheae 1 สายพันธุ์ สามารถสร้างพิไลแตกต่างกัน 2 ชนิด

พิไลมีคุณสมบัติทางอิมมูน สามารถตรวจหาแอนติบอดีต่อพิไลโดยวิธี radio immunoassay, agglutination ของผลึก pili, agglutination ของพิไลอิสระ และ haemagglutination

หน้าที่ของพิไลเกี่ยวข้องกับการเกาะติดของผนังเซล นอกจากนั้นยังอาจจะเกี่ยวข้องในแง่ของกรรมพันธุ์ เพราะขบวนการ transformation จะเกิดเฉพาะสายพันธุ์ที่มีพิไล ในบางกรณีพิไลอาจจะทำให้ polymerphonuclear leukocytes กินเชื้อ N.gonorrhoeae ช้าลง ยังพบว่าพิไลมีส่วนในการเคลื่อนที่ของเชื้อ

Liegel และคณะ[20] ได้ทดลองทำวัคซีนจากพิไลของเชื้อ N.gonorrhoeae โดยฉีดเข้าไปในอาสาสมัคร เพื่อดูการสร้างแอนติบอดีของร่างกายต่อวัคซีน พบว่าพิไลมีคุณสมบัติทางอิมมูนที่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อพิไล

2. แคปซูล ได้มีการศึกษาส่วนประกอบต่าง ๆ และคุณสมบัติทางอิมมูน แต่ยังไม่ได้ผลที่แน่นอน กำลังอยู่ในระหว่างการค้นคว้า

3. ลิโปโพลีแซคคาไรท์ (Lipopolysaccharides = LPS) จากการแยก LPS ของเชื้อ N.gonorrhoeae จากโคโลนีของเชื้อชนิด T1 พบ "Complete" LPS ประกอบด้วย โพลีแซคคาไรท์ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง LPS จากโคโลนีของเชื้อชนิด T4 เป็น incomplete LPS ซึ่งมีคุณสมบัติของอิมมูนต่ำในสัตว์หลายชนิด แต่ในไก่จะได้ไตเตอร์ในซีรั่มสูง โดยใช้วิธี haemagglutination, quantitative precipitin และ agar gel diffusion พบว่าการทดสอบโดยใช้ LPS antiserum ที่เตรียมในไก่ เพื่อช่วยในการพิสูจน์เชื้อ N.gonorrheeae โดยวิธี Slide agglutination ซึ่งมีความจำเพาะและความไวสูง และไม่มี

ปฏิกริยาแทกซ้อนกับเชื้อ Neisseria ตัวอื่น ๆ

4. แอนตีเจนของเมมเบรนส่วนนอก Johnson & Gotschlich แสดงให้เห็นว่าส่วนใหญ่ของโปรตีนของผนังเซลภายนอก ประกอบด้วยโปรตีน 3 ตัวที่มีน้ำหนักโมเลกุล 34500, 22000 และ 11500 คุณสมบัตินี้จะคงที่ในแต่ละสายพันธุ์ และไม่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของโคโลนี Swanson และคณะได้ทำการศึกษารายละเอียด ความเกี่ยวพันของเชื้อ N.gonorrhoeae กับ polymorphonuclear leukocytes พบว่าการเกาะของเชื้อ N.gonorrhoeae มีผลมาจากพิไลเพียงเล็กน้อย แต่จะเกี่ยวข้องกับปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่เรียกว่า leukocyte adherence แฟคเตอร์นี้สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์หลายชนิด

5. Periplasmic antigens และ secreted antigens มีรายละเอียดอยู่เพียงเล็กน้อย แต่ที่น่าสนใจที่สุดคือ immunoglobulin-A-eleaving enzymes ของเชื้อ

6. มิวรีน พบว่าไม่มีคุณสมบัติเป็นแอนตีเจน

7. Cytoplasmic membranes มีรายละเอียดน้อยมาก พบว่าประกอบด้วยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบ electron transport

จากคุณสมบัติการเป็นแอนตีเจนของเชื้อ N.gonorrhoeae ได้มีนักวิทยาศาสตร์คือ Sandstrom และ Danielsson [21] เตรียมแอนตีบอดีต่อแอนตีเจนที่เป็นโปรตีนภายนอกผนังเซลของเชื้อ N.gonorrhoeae เพื่อใช้ในการจัดจำแนกเชื้อ N.gonorrhoeae โดยวิธี coagglutination พบว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่รวดเร็ว ง่าย และให้ผลที่เชื่อถือได้ในการจัดจำแนกเชื้อ N.gonorrhoeae ทางอิมมูนวิทยา

<u>การรับและการนำส่งสิ่งตรวจ</u>

เนื่องจากเชื้อ N.gonorrhoeae เป็นเชื้อที่ตายง่าย ดังนั้นจึงต้องทำการเพาะเชื้อทันทีหลางจากที่ทำการป้ายหนองจากบริเวณที่เป็นโรค แต่บางกรณีไม่สามารถจะทำการเพาะเชื้อได้ทันที ต้องเก็บสิ่งตรวจในอาหารพิเศษที่สามารถจะทำให้เชื้อคงมีชีวิตอยู่ ที่เรียกว่า transport medium ที่ใช้โดยทั่วไปได้แก่ Stuart's transport medium หรือ Amies transport medium [5] ซึ่งสามารถ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เก็บเชื้อ N.gonorrhoeae ได้อย่างมาก 6 ชั่วโมง ได้มีนักวิทยาศาสตร์ทำศึกษาและปรับปรุง transport medium ให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น และสามารถทำให้เชื้อ N.gonorrhoeae ชีวิตอยู่ได้นานยิ่งขึ้น ในกรณีที่ต้องใช้เวลานานในการส่งสิ่งตรวจ Holston และคณะ[22] ได้แสดงถึงคุณค่าของการใช้ Gono-Pak (A bag-CO_2-generating-tablet) ว่าได้ผลดีเท่ากับวิธีที่ใช้จุดเทียนในกระป๋อง (candle-jar) ในการเพาะเชื้อ N.gonorrhoeae ประโยชน์ของ Gono-Pak คือ ความสะดวกในการส่งสิ่งตรวจ ต้องการเนื้อที่ในการอบเชื้อน้อย และการส่งต่อก็น้อยด้วย Brown[23] ได้ทำการเปรียบเทียบการเพาะเชื้อ N.gonorrhoeae จากท่อปัสสาวะของคนไข้ชายและจากคอมดลูกของคนไข้หญิง โดยเพาะเชื้อบน Thayer-Martin medium ทันที กับใส่สิ่งตรวจใน transport medium ที่เรียกว่า Transgrow medium ซึ่งประกอบด้วยอาหารที่ใช้ในการส่งสิ่งตรวจรวมกับอาหารที่ช่วยในการเจริญ พบว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่ออบสิ่งตรวจก่อนส่งเพาะเชื้อ Transgrow medium เตรียมได้ง่าย และเป็นวิธีที่สะดวกในการส่งตรวจ Symington[24] ได้ศึกษา Chamber ที่มีบรรยากาศของคาร์บอนไดออกไซด์ เรียกว่า Jembec chamber ซึ่งใช้ในการส่งสิ่งตรวจเพื่อตรวจหาเชื้อ N.gonorrhoeae พบว่า Jembec chamber ที่ประกอบด้วย Modified New York City medium จะให้สภาพแวดล้อมที่ป้องกันให้เชื้อมีชีวิตอยู่ในช่วงระยะเวลานานพอที่จะส่งทางไปรษณีย์ Jephcott และคณะ[25] แนะนำให้ใช้วิธี Jembec/Neigen transport และ culture system สำหรับการวิเคราะห์เชื้อ N.gonorrhoeae อย่างรวดเร็ว เป็นวิธีที่สะดวกและใช้เวลาน้อย Short และคณะ[26] ศึกษาการมีชีวิตอยู่ของเชื้อ N.gonorrhoeae ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และการเก็บเชื้อในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน เพื่อชลอเวลาในการอบเชื้อ เขาพบว่าเชื้อ N.gonorrhoeae สามารถจะมีชีวิตอยู่ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน บนผิวหน้าของวุ้น และหลังจากอบเชื้อในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน 48 ชั่วโมง ก็สามารถจะเจริญได้ดีเมื่อนำมาเพาะเชื้อในสภาพที่มีออกซิเจน

การเพาะเชื้อ N.gonorrhoeae

Thayer และ Martin ได้ปรับปรุงอาหารที่ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อ

N.gonorrhoeae เป็น selective media โดยเติมสารที่ช่วงเร่งการเจริญของเชื้อ และยาปฏิชีวนะบางตัวเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นที่อาจจะเป็น normal flora อยู่บริเวณที่เก็บสิ่งตรวจสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย Bacto GC agar base, haemoglobin, supplement B ยาปฏิชีวนะที่ใช้คือ โพลีมิคซิน และริสโตซิติน ต่อมาบริษัทเลิกผลิตยาริสโตซิติน Thayer และ Martin (28) จึงได้ใช้ยาปฏิชีวนะตัวใหม่ คือ vancomycin, colistin, nystatin หรือเรียกย่อ ๆ ว่า VCN เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น ๆ แทน ต่อมา Martin และคณะ(29) ได้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการแยกเชื้อครั้งแรกของเชื้อ N.gonorrhoeae โดยเฉพาะ ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ได้แก่ Bacto GC agar base, defined supplement "Isovitalex" และยา VCN ในปี ค.ศ.1973 Faur และคณะ(30) ได้รายงานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เฉพาะสำหรับเชื้อโกโนคอคคัย ซึ่งเรียกว่า New York City (NYC) medium ประกอบด้วย NYC basal nedium, hovse plasma, 3 % hemolyzed hore red blood cell และยาปฏิชีวนะจำพวก vancomycin, colistin, nystatin และ trimethoprim (VCNT)

Martin และ Lewis (31) ได้ปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อ Thayer-Martin medium โดยใช้แอนนิโซมัยซิน ซึ่งเป็นยาที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แทนนิสตาติน เรียกอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ว่า Martin-Lewis medium (ML) Granato และคณะ(32) ได้รายงานผลการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ NYC ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ N.gonorrhoeae เทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin-Lewis พบว่าอัตราการเพาะเชื้อจาก NYC จะสูงกว่า Martin-Lewis medium ถึง 13.3 % Lawton และ Koch (33) ได้เปรียบเทียบการเพาะเชื้อ N.gonorrhoeae จากสิ่งตรวจทางคลินิค 100 ราย โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ NYC และ Martin-Lewis medium เตรียมอาหารทั้ง 2 ชนิดบน JEMBEC plates พบว่า NYC medium สามารถเพาะเชื้อโดยที่มีจำนวนโคโลนีมากกว่าใน Martin-Lewis medium ถึง 49 ราย โคโลนีเท่ากับ ML 43 ราย และน้อยกว่า ML 8 ราย

Bronson และคณะ[34] พบว่ามีเชื้อ N. gonorrhoeae บางสายพันธุ์ที่มีความไวต่อยาแวนโคมัยซิน ทำให้เชื้อไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาตัวนี้ประกอบอยู่ โดยเขาทำการทดลองเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ยา ลินโคมัยซิน แทนแวนโคมัยซิน Taylor และ Phillips[35] ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ N. gonorrhoeae บน non-selective และ selective medium (ประกอบด้วยยา แวนโคมัยซิน นิสตาติน และไตรเมทโทพริม) พบว่าเชื้อ N. gonorrhoeae ที่แยกได้ 3 สายพันธุ์ถูกยับยั้งการเจริญด้วยไตรเมทโทพริม 4 มิลลิกรัม/ลิตร และ 10 สายพันธุ์ถูกยับยั้งการเจริญด้วยแวนโคมัยซิน 2 มิลลิกรัม/ลิตร Mardh และคณะ[36] ได้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ที่เตรียมขึ้นในการเพาะเชื้อ N. gonorrhoeae พบว่าประสิทธิภาพในการแยกเชื้อสูงกว่า Thayer - Martin medium ที่ประกอบด้วยยา VCN โคโลนีที่ได้จะโตกว่าที่ได้จาก Thayer - Martin และสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความไวต่อยาแวนโคมัยซิน

Donald[39] ได้เปรียบเทียบการใช้ Till - U - Test (TUT) GC slide ในการเพาะเชื้อ N. gonorrhoeae กับวิธีมาตรฐาน คือใช้ modified Thayer - Martin medium พบว่าวิธี TUT ให้ผลดีกว่าวิธีมาตรฐานเล็กน้อย เขาแนะนำว่าวิธี TUT มีประโยชน์ต่อการวิเคราะห์เบื้องต้นของโรคหนองใน

การวิเคราะห์และพิสูจน์เชื้อ N. gonorrhoeae

ในการวิเคราะห์และพิสูจน์เชื้อ N. gonorrhoeae นอกจากจะอาศัยปฏิกริยาทางชีวเคมีแล้ว ยังใช้ปฏิกริยาทางอิมมูนวิทยามาช่วยในการยืนยันว่า เชื้อที่เพาะได้เป็นเชื้อ N. gonorrhoeae

Deacon และคณะ[8] ใช้วิธีฟลูออเรสซีนแอนติบอดีในการพิสูจน์เชื้อ N. gonorrhoeae โดยเตรียมแอนติซีรั่มจากเชื้อ N. gonorrhoeae ที่ฉีดเข้าสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ Deacon[9] ยังได้ศึกษาคุณค่าของการใช้ delayed fluorescent antibody method ในการตรวจหาเชื้อ N. gonorrhoeae โดยเฉพาะจากคนไข้หญิง Lind[10] ได้สนับสนุนให้ใช้วิธีฟลูออเรสซีนแอนติบอดีเทคนิคในการวิเคราะห์เชื้อ N. gonorrhoeae ในห้องปฏิบัติการ Ashton และคณะ[11] ได้เตรียมแอนติซีรั่มเพื่อใช้ในการยืนยันเชื้อ N. gonorrhoeae โดยวิธี

delayed fluorescent antibody โดยเตรียมคอนจูเกทใหม่เพื่อหลีกเลี่ยงปฏิกริยาแทรกซ้อนระหว่างเชื้อโกโนคอคคัยกับเชื้อเมนนิโกคอคคัย คอนจูเกทที่เตรียมขึ้นอยู่ในรูปของ anti - LPS (lipopolysaccharide) conjugate

ในปัจจุบันบริษัท Pharmacia Diagnostica ได้เตรียมแอนตีซีรั่มของเชื้อ N. gonorrhoeae เป็นแบบสำเร็จรูป เพื่อใช้ยืนยันผลการเพาะเชื้อ ว่าเชื้อที่ได้นั้นเป็น N. gonorrhoeae เรียกว่า Phadebact Gonococcus Test Carlsonและคณะ (37) ได้ศึกษาคุณค่าของ Phadebact ในการพิสูจน์เชื้อ N. gonorrhoeae เปรียบเทียบกับวิธีการพิสูจน์ทางชีวเคมี พบว่าเชื้อ N. gonorrhoeae ทำปฏิกริยา coagglutination กับแอนตีซีรั่มที่ใช้ Young และ McMillan (38) ทดลองและพบว่าการใช้ Phadebact ให้ผลดีในการพิสูจน์เชื้อ N. gonorrhoeae

การทำให้เกิดโรค

เมื่อเชื้อ N. gonorrhoeae เข้าไปในร่างกาย เชื้อจะเกาะติดกับผิวเยื่อบุ ซึ่งจะไม่หลุดออกมาถึงแม้จะมีการไหลของน้ำปัสสาวะ และน้ำเมือก จากการทดลองพบว่า เชื้อ N. gonorrhoeae ติดกับเนื้อเยื่อของคนได้รวดเร็ว (40) การติดเชื้อของโรคหนองในโดยสาเหตุมาจาก N. gonorrhoeae นั้นไม่เฉพาะเจาะจงต่ออวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง โดยที่มันสามารถจะเกาะติดได้กับเนื้อเยื่อในบริเวณที่มีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติต่อการติดเชื้อ เช่น ที่บริเวณปากมดลูก ช่องปาก ช่องคลอด และที่มดลูกของคน (41) เชื้อ N. gonorrhoeae สามารถเกาะติดกับเซลล์ของเนื้อเยื่อได้โดยความสามารถของพิไล

จากการศึกษาในผู้ป่วยและการทดลองใช้ human follopain tube (42) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ N. gonorrhoeae สายพันธุ์ที่มีพิไล จะเป็นตัวสาเหตุของการทำให้เกิดโรคมากกว่าพวกที่ไม่มีพิไล เชื้อจะใช้ส่วนของพิไลเกาะติดกับเยื่อบุผิว ต่อจากนั้นเชื้อจะผ่านผิวของเยื่อเมือก โดยขบวนการของ epithelial cell phagocytosis เชื้อจะคงอยู่ในไซโตพลาสซึมและเพิ่มจำนวนเชื้อจะกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดยฉับพลัน ทำให้เกิดหนองในท่อปัสสาวะ และหนองในคอมดลูก ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของโรคหนองใน การอักเสบเกิดจาก polymorphonuclear

leukocytes ที่ร่างกายสร้างไว้ทำลายสิ่งแปลกปลอม โดยขบวนการ surface phagocytosis

ในรายที่เกิดการติดเชื้อที่คอมดลูก ทวารหนัก และคอ จะไม่ค่อยแสดงอาการ อาจจะอธิบายได้ว่า การเพิ่มจำนวนของเชื้อ N. gonorrhoeae ในบริเวณเหล่านี้ เกิดโดยที่เชื้อไม่ได้เข้าไปในเนื้อเยื่อที่อยู่ลึก หรือเกิดจากการที่เชื้อไม่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบในที่ที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ N. gonorrhoeae (42,43)

อาการทางคลินิค (5)

เนื่องจากโรคหนองในมีระยะฟักตัวสั้นเพียง 1-5 วันเท่านั้น โดยจะแสดงอาการของโรคหลังรับเชื้อเข้าไปประมาณ 3-5 วัน ถึง 2 อาทิตย์ หรือเร็วเพียง 24 ชั่วโมง

ในผู้ชาย เชื้อ N. gonorrhoeae จะทำให้เกิดอาการของท่อปัสสาวะอักเสบ (urethritis) มีหนองลักษณะเป็นน้ำข้น ๆออกมาทางท่อปัสสาวะ ปัสสาวะขัด หรือแสบในลำกล้องเวลาปัสสาวะ ถ้าไม่รีบรักษาให้ถูกต้อง โรคจะลุกลามไปถึงอวัยวะสืบพันธุ์ส่วนอื่น ทำให้เกิดการอักเสบของต่อมต่าง ๆ เช่น ต่อมไหมัส ต่อมลูกหมาก และอาจจะลุกลามถึงอัณฑะ ทำให้อัณฑะอักเสบ บวม เจ็บมาก บางรายกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ถ่ายปนเลือด และอาจทำให้ผู้ป่วยเป็นหมันได้ในภายหลัง มีอยู่ประมาณ 40 % ของผู้ป่วยชายที่เป็นโรคหนองในแต่ไม่แสดงอาการ (asymtomatic) ซึ่งมีความสำคัญในการแพร่กระจายของโรค

ในผู้หญิง อวัยวะส่วนที่เกิดการอักเสบเนื่องจากเชื้อหนองในที่พบบ่อยที่สุด คือ ท่อปัสสาวะ และปากมดลูก พบว่าประมาณ 35-50 % ของผู้หญิงที่กำลังเป็นโรคหนองในอยู่จะไม่มีอาการปรากฏหรือมีอาการน้อยมากจนไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติ ในบางรายอาการจะปรากฏดังนี้ ปัสสาวะขัดเขาและแสบ อาจมีหนองไหลทางท่อปัสสาวะหรือช่องคลอด เจ็บบริเวณท้องน้อย ปวดเอว ปวดหลัง มีไข้ ประจำเดือนผิดปกติ ถ้ามีการอักเสบที่กระเพาะปัสสาวะ ผู้ป่วยจะมีอาการถ่ายปัสสาวะบ่อยกว่าปกติ รายที่เป็นมากอาจถ่ายปัสสาวะปนเลือด

อาการแทรกซ้อนที่สำคัญก็คือการอักเสบของอวัยวะต่าง ๆ ในอุ้งเชิงกราน ซึ่งได้แก่ เยื่อบุมดลูก ปีกมดลูก ท่อรังไข่ และรังไข่ ผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวด

บริเวณท้องน้อยมาก ปวดหลัง มีไข้ ในรายที่ท่อรังไข่มีอาการอักเสบมากจะทำให้เป็นฝี การอักเสบอาจลุกลามเข้าไปในช่องท้อง ส่วนอุ้งเชิงกราน ผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวดรุนแรงยิ่งขึ้น และถ้าปีกมดลูกอักเสบซ้ำ ๆ อาจจะทำให้ท่อรังไข่ตีบตัน จนเป็นสาเหตุหนึ่งของการมีครรภ์นอกมดลูก หรือไม่สามารถมีบุตรได้ภายหลัง

ในผู้ป่วยทั้งชายและหญิงที่ป่วยเป็นโรคหนองใน อาจมีอาการรุนแรงถึงขั้นโลหิตเป็นพิษเนื่องจากเชื้อหนองในเข้าไปในกระแสโลหิตหมุนเวียนไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายก่อให้เกิดพยาธิสภาพแก่อวัยวะที่สำคัญได้ เช่น เยื่อหุ้มหัวใจ เยื่อสมองอักเสบ บางรายทำให้ข้ออักเสบบวมแดงเจ็บปวดมาก

ในเด็ก เด็กอาจติดเชื้อโรคหนองในจากบิดามารดาที่กำลังเป็นโรคหนองในโดยบังเอิญหรือขาดความเอาใจใส่ในการรักษาความสะอาด เด็กจะเกิดเป็นหนองที่บริเวณปลายท่อปัสสาวะในเด็กชาย และในเด็กหญิงจะเกิดเป็นหนองบริเวณปาก-ช่องคลอด อวัยวะเพศจะมีอาการอักเสบ

ในเด็กเกิดใหม่ จะติดเชื้อหนองในจากมารดาได้ โดยเชื้อโรคจะเข้าตาเด็กขณะผ่านช่องคลอด (birth canal) ทำให้ตาอักเสบ มีหนอง เรียกว่า opthalmia neonatorum ถ้ารักษาไม่ทันจะทำให้เด็กตาบอดได้ ดังนั้นเด็กเกิดใหม่ทุกรายจะต้องหยอดตาด้วย silver nitrate 1 % เพื่อป้องกันการติดเชื้อที่ตาเด็ก

นอกจากนี้ยังอาจจะเกิดการติดเชื้อบริเวณช่องทวาร (rectal infection) ในกรณีที่มีการร่วมเพศทางทวาร โดยทั่วไปอาการจะไม่ปรากฏ แต่อาจจะมีอาการทวารหนักอักเสบอย่างรุนแรง และมีหนองไหลออกจากช่องทวาร บางครั้งอาจจะมีอาการท้องเดินร่วมด้วย

ส่วนในกรณีที่มีการร่วมเพศทางปาก อาจจะทำให้เกิดการติดเชื้อบริเวณคอหอย (pharyngeal infection) อาการจะไม่ปรากฏเช่นกัน เว้นแต่ในกรณีที่มีหนองจากคอหอย

เนื่องจากโรคหนองในไม่มีภูมิคุ้มกันโรคเกิดขึ้นภายหลังจากเป็นโรคนี้แล้ว ดังนั้นการติดเชื้อหนองในอาจเกิดขึ้นอีกหลังจากรักษาหายแล้ว (repeated gonorrhea) (52)

การรักษาโรคหนองใน

ตั้งแต่ในสมัยที่เริ่มพบเชื้อหนองใน ยาที่ใช้รักษาได้แก่ยาประเภทซัลฟา ต่อมาพบเชื้อที่ดื้อต่อยาชนิดนี้ จึงมาใช้ยาพวกเพนนิซิลลินแทน โดยทั่วไปของการรักษาแพทย์จะฉีดโปรเคน เพนนิซิลิน 2.4 ล้านยูนิตให้ 2 ครั้ง ในกรณีที่คนไข้แพ้ยาเพนนิซิลิน อาจจะใช้ยาปฏิชีวนะชนิดอื่นแทน เช่น เตทตราซัยคลิน หรือ อิริโทรมัยซิน ถ้าเป็นการติดเชื้อเรื้อรัง (เช่น ต่อมลูกหมากอักเสบ, คอมดลูกอักเสบ) จำเป็นที่จะต้องขูดเอาหนองออก พร้อมกับฉีดยาเพนนิซิลิน 4.8 ล้านยูนิต ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน[14]

ประมาณปี ค.ศ.1976 ได้มีรายงานเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อหนองในที่ดื้อต่อยาเพนนิซิลินเป็นครั้งแรกในสหรัฐอเมริกาและอังกฤษ[2] ต่อมาองค์การอนามัยโลกได้รายงานถึงสายพันธุ์นี้จากส่วนอื่น ๆ ของโลก ทำให้เกิดปัญหาในการควบคุมโรคหนองใน[4] สายพันธุ์นี้จะสร้างเอนไซม์ที่เรียกว่าเพนนิซิลิเนส ซึ่งทำลายยาเพนนิซิลินตรงส่วนของ beta - lactam ring จึงเรียกสายพันธุ์นี้ว่า beta - lactamase producing Neisseria gonorrhoeae หรือ penicillinase producing Neisseria gonorrhoeae (PPNG) ซึ่งดื้อต่อยาเพนนิซิลิน แอมพิซิลิน และเซฟฟาโลริดีน[45] คุณสมบัตินี้สามารถถ่ายทอดจากสายพันธุ์นี้ไปยังสายพันธุ์อื่น ๆ ทางพลาสมิดโดยผ่านทางขบวนการคอนจูเกชั่น สายพันธุ์ PPNG จากตะวันออกไกลจะเป็น auxotype proline ส่วนสายพันธุ์ PPNG จากอัฟริกาตะวันตกจะเป็น auxotype arginine[2]

ในปัจจุบันมีการปรับปรุงยาที่ใช้ในการรักษาโรคหนองใน และยังสามารถใช้รักษาสายพันธุ์ ดื้อยา ได้แก่ ยาเสปคติโนมัยซิน และ ไทแอมฟินิคอน ซึ่งให้ผลในการรักษาใกล้เคียงกัน[46]

Lancaster และคณะ[47] ได้ทดลองใช้ยาเซฟโฟแทคซิม ซึ่งจัดยาพวก beta-lactam antimicrobials ในการรักษาเชื้อหนองในพบว่าได้ผลดี Khan และคณะ[48] ได้ทดลองใช้ยาพวก beta- lactam ตัวใหม่ ได้แก่ เซฟเตรียซอน (ceftriaxone) เซฟโฟนิซิด (cefonicid) และ เมซิลลินัม (mecillinam) ในการรักษาโรคหนองใน พบว่า เซฟเตรียซอน ใช้ได้ผลดีที่สุด รองลงมาคือ

011290

เซฟโฟนิซิด ส่วน เมซิลลินัม ใช้ไม่ได้ผล

การรักษาในประเทศไทยควรจะพิจารณาดูว่า ควรใช้ยาชนิดใดจึงจะเหมาะสมกับสถานการณ์ในปัจจุบัน

<u>การป้องกันและควบคุม</u>

ดังที่ทราบกันแล้วว่ายังไม่มีวัคซีนชนิดใดที่จะนำมาใช้ป้องกันโรคหนองใน และระยะฟักตัวของโรคก็เพียง 2-7 วัน ดังนั้นการป้องกันตนเองโดยใช้ถุงยางคุมกำเนิดจะเป็นการจำกัดวงของโรคที่จะติดต่อไปผู้อื่นได้ ให้การศึกษาและความรู้เกี่ยวกับโรคหนองใน ถ้าผู้ใดเริ่มมีอาการก็ให้รีบปรึกษาแพทย์ดีกว่าที่จะซื้อยารับประทาน (50)

<u>การระบาดของโรคหนองใน</u>

เป็นที่ทราบกันแล้วว่า แหล่งที่ติดเชื้อและแพร่เชื้อของโรคหนองใน คือ มนุษย์ ในสหรัฐอเมริกาช่วงระหว่างปี ค.ศ.1963 ถึง 1875 สถิติผู้เป็นโรคหนองในเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า โรคหนองในนี้เป็นปัญหาของโลก มีรายงานการเพิ่มจำนวนผู้ป่วยจากแทบทุกประเทศในโลก เช่น อาร์เจนตินา, ออสเตรีย, โบลิเวีย, แคนนาดา, โคลัมเบีย, คอสตาริกา, เดนมาร์ก, เอลซัลวาดอ, อีกวาดอร์, ฟินแลนด์, เยอรมัน, ฮ่องกง, อิสราเอล, อิหร่าน, อิรัก, จาไมกา, นอร์เวย์, ปานามา, ฟิลิปปินส์, โปแลนด์, สหราชอาณาจักร และ เวเนซูเอลา เป็นต้น เชื้อหนองในนี้ตายง่ายถ้าอยู่นอกร่างกายมนุษย์ และจะทำให้เกิดการติดเชื้อเฉพาะส่วนที่เป็น epithelial surface และจะติดต่อกันทางเพศสัมพันธุ์(43)

โรคหนองในเกิดได้ทั้งในหญิงและชาย ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วงอายุ 20-24 ปี ถัดลงมาจะอยู่ในช่วงอายุ 15-19 ปี มีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของโรคหนองใน ตัวอย่าง เช่น จำนวนของผู้ร่วมประเวณี, การใช้ยาคุมกำเนิด, การเคลื่อนย้ายของประชากร, พวกกระเทย, และผู้มีกลุ่มเลือดบี การเพิ่มของเชื้อหนองในที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะก็อาจจะเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง

นอกจากนี้ยังมีผู้พบเชื้อหนองในสายพันธุ์ใหม่ที่ดื้อต่อยาเพนนิซิลินในปี พ.ศ. 2519 โดยเรียกสายพันธุ์นี้ว่า penicillinase producing <u>Neisseria gonorrhoeae</u> ทำให้การรักษายุ่งยากขึ้น(49)

ระยะการติดต่อของโรคหนองใน ถ้าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาให้หายขาด ก็สามารถจะแพร่เชื้อไปยังผู้อื่นได้ โรคนี้ไม่ทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรค ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาแล้วอาจจะติดเชื้อนี้ได้อีก

ส่วนในประเทศไทย จำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคหนองในทั้งที่มีอาการแทรกซ้อนและไม่มีอาการแทรกซ้อน ตั้งแต่ปี พ.ศ.2524-2525 มีจำนวนเพิ่มขึ้น (สถิติจากกองกามโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ **กระทรวงสาธารณสุข**)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 คุณสมบัติที่แตกต่างกันของเชื้อใน family Neisseriaceae.[a]

	I.Neisseria	II.Branhamella	III.Moraxella	IV.Acinetobacter[b]
Cells	Coccal	Coccal	Plump rods in pairs or short chains	Rod-shaped in exponential phase but nearly spherical in stationary phase
Division	Two planes	Two planes	One plane	One plane
Growth in simple defined media	d	-	d	+
Pennicillin	Originally sensitive	Originally sensitive	Originally sensitive	Originally resistant
Oxidase	+	+	+	-
Reduction of nitrate	- or d	+	d	-
G + C moles %	47-52	40-45	40-46	39-47

a) + : Most strains positive; - : Most strains negative; d : Some strains positive, some negative.

b) Temporarily associated with Neisseriaceae.

ตารางที่ 2 คุณสมบัติที่แตกต่างในการแยก species ของ genus Neisseria.

	1.N. gonorrhoeae	2.N. meningi-tidis	3.N. sicca	4.N. subflava	5.N. flavescens	6.N. mucosa
Capsules	-	v	v	+	-	+
Acid from:						
Glucose	+	+	+	+	-	+
Maltose	-	+	+	+	-	+
Fructose	-	-	+	v	-	+
Sucrose	-	-	+	v	-	+
Starch	-	-	v	v	-	+
Polysaccharide produced from 5 % sucrose	0	0	+	d	+	+
Production of H_2S	-	-	+	+	+	+
Reductionof :						
Nitrate	-	-	-	-	-	+
Nitrite	-	d	+	+	+	+
Pigment	-	-	d	+	+	-
Extra CO_2	//	/	*	*	*	*
Growth at 22C	-	-	d	d	+	+
G + C moles %	49.5-49.6	50.0-51.5	49.0-51.5	48.0-50.5	46.5-50.1	50.5-52.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

+ : Most strains positive.

- : Most strains negative.

d : Some strains positive, some negative.

v : Character inconstant and in one strain may sometimes be positive, sometimes negative.

O : No growth on medium with 5 ? sucrose.

G + C : Guanine + cytosine in the deoxyribonucleic acid.

// : Very important.

/ : Important.

* : Not necessary.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย