

การใช้ฟังก์ชันเรซิม แอนด์บอร์ด เทคนิค เพื่อกราฟทางเชือในชีวิตรีสурс



ເວົ້າການໄທຫຼິງ ພິມພາ ຮູ່ນພຄວ

วิทยานิพนธ์เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาความหลักสูตรปฐมบุตรและเด็กทารกในประเทศไทย

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

W. H. 2526

ISBN 974-562-422-5

011290

I1bb98757

APPLICATION OF FLUORESCENT ANTIBODY TECHNIQUE
FOR DETECTION OF Neisseria gonorrhoeae

Flying Officer Pimpha Rungnabhakhun

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

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1983

หัวขอวิทยานิพนธ์

โดย

ภาควิชา

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

การใช้พลด้อมเรสเซ็น แทนที่บันทึก เทคนิค เพื่อวิเคราะห์เชื้อ
ในเชิงเรีย โภโนรีเอ

เรืออากาศไทยถึง พิมพา รุ่งนพคุณ

จุลชีววิทยา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผ่องพรรณ นันทาภิสุทธิ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ฤทธิ์สุวรรณ



มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

๗๘๐๙๖ ๔๗๗

..... คณบดีมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุประคิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

๒๗๓ ๑๕๘๖ ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สารี วิรุพผล)

๑๖๖ ๑๕๘๖ กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผ่องพรรณ นันทาภิสุทธิ์)

๑๖๖ ๑๕๘๖ กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรพิน ฤกษ์ชื่น)

๑๖๖ ๑๕๘๖ กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ฤทธิ์สุวรรณ)

ศูนย์วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้วิธีฟลูออเรสซิน แอนด์บีดี เทคนิค เพื่อวิเคราะห์เชื้อ <u>ไนซ์เรีย โกลโนร์โธ</u> จากผู้ป่วย
ชื่อนิสิต	เรืออากาศไหหนิง พิมพา รุ่งนพคุณ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผ่องพรระ นันทาภิสุทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ
ภาควิชา	ศูลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์
ปีการศึกษา	2525



บทคัดย่อ

Neisseria gonorrhoeae เป็นสาเหตุของโรคหนองใน ซึ่งจะเป็นกามโรคอย่างหนึ่ง มีสัดส่วนระบาดเป็นอันดับ 2 ของกามโรคในประเทศไทย การวินิจฉัยโรคเบื้องต้นอาศัยจากลักษณะของหนอง และการข้อมูลสีแกรน ซึ่งจะพบลักษณะของเชื้อเป็น intracellular gram negative diplococci จากการนำสั่งตรวจที่เป็นหนองจากผู้ป่วย 100 รายที่มารับการตรวจรักษาในคลินิกกามโรคของโรงพยาบาลภูมิหลังคลอง เช่น กรมแพทย์ทหารอากาศ มาทำ การข้อมูลสีแกรน และการข้อมูลวิธีฟลูออเรสซินแอนด์บีดีจากสิ่งตรวจโดยตรง และทำการเพาะเชื้อใน培養基 Thayer-Martin พร้อมทั้งทำการทดสอบยืนยันว่า เชื้อที่เพาะได้นี้เป็นเชื้อ Neisseria gonorrhoeae โดยการข้อมูลสีแกรน, ข้อมูลฟลูออเรสซินแอนด์บีดี, การเพอร์เมนท์น้ำตาลแม็ลโลส กลูโคส และ ซูโคส และปฏิกิริยา coagglutination จากผลการทดลองพบว่า การข้อมูลสีแกรนจากสิ่งตรวจโดยตรง จะพบลักษณะของเชื้อ N. gonorrhoeae ในผู้ป่วย 53 ราย ส่วนการข้อมูลฟลูออเรสซินแอนด์บีดี พบว่า ให้ผลบวกเพียง 50 ราย ซึ่งให้ผลที่แตกต่างกัน 3% จากจำนวนผู้ป่วย 100 ราย เมื่อนำมาเพาะเชื้อและทำการทดสอบยืนยันเชื้อที่เพาะได้ว่าเป็นเชื้อ N. gonorrhoeae พบว่าเพาะเชื้อได้เพียง 46 ราย และทดสอบยืนยันว่า เป็นเชื้อ N. gonorrhoeae โดยเชื้อที่เพาะได้จะให้ผลบวกกับปฏิกิริยาออกซิเตส และปฏิกิริยา coagglutination ทั้งหมด และเพอร์เมนท์น้ำตาลกลูโคสเพียง 44 สายพันธุ์ เมื่อนำไปทดสอบความไวต่อยาเพนนิซิลิน พร้อมกับทดสอบการสร้างเบต้า-แลคตามิส พบว่าเชื้อมีความไวต่อยาเพนนิซิลิน 25 สายพันธุ์ และก่ออาบน้ำเพนนิซิลิน 21 สายพันธุ์ ซึ่งในจำนวนนี้เป็นเชื้อที่สร้าง

เบื้อง—แล้วคามาเมส 18 ราย ดังนั้นการย้อมดีแกรมเพียงอย่างเดียวก็พอที่จะใช้เป็นแนวทางช่วยในการวินิจฉัยโรคเบื้องต้น ทั้งยังให้ความสะดวก รวดเร็วและค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการย้อมด้วยวิธีฟลูออเรสซิน แต่คืนอดีต เมมาร์สำหรับห้องปฏิบัติการทั่วๆไป



ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title Application of fluorescent antibody technique
for detection of Neisseria gonorrhoeae

Name Flying Officer Pimpha Rungnabhakhun

Thesis Advisor Assistant Professor Pongpan Nuntapisut

Co-Advisor Assistant Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.

Department Microbiology

Academic Year 1982

ABSTRACT



Neisseria gonorrhoeae is a causative agent of Gonorrhea which is one of the sexually transmitted diseases. Gonorrhea is the second problem in epidemiology of such diseases in Thailand. The provisional diagnosis depends on characteristic of discharges and Gram's staining for intracellular gram negative diplococci of polymorphonuclear cells. Gram's staining and fluorescent antibody technique were determined directly from 100 specimens from the patients who attended to the Venereal Disease Clinic in Bhumipol Aduljadeh Hospital. The specimens were cultured on Thayer - Martin medium for isolation of N. gonorrhoeae and confirmed by Gram's stain, fluorescent antibody technique, sugar fermentation of maltose, glucose, and sucrose, and coagglutination test. The results from Gram's stain were found intracellular gram negative diplococci in 53 specimens and 50 positive results by fluorescent antibody technique. The difference between Gram's stain and fluorescent antibody technique was 3% from 100 specimens. N. gonorrhoeae were isolated from 46 specimens and gave the positive results in the confirmatory tests. All isolated strains gave the positive results to oxidase reagent and coagglutination

test. Only 44 isolated strains fermented glucose. Twenty-five strains of N. gonorrhoeae were sensitive to penicillin and twenty-one strains had resistance to penicillin. From the beta-lactamase test, only 18 strains resisting penicillin were beta-lactamase producing strains. Thus, Gram's staining is easier, more rapid and less expensive than fluorescent antibody technique for the routine laboratories.

ศูนย์วิทยพรพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิติกรรมประจักษ์



ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
มองพรวณ นันทาภิสุทธิ์ อารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬา-
ลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ หัวหน้าภาควิชา
จุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ
ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องจนกระทั้งงานวิทยานิพนธ์สำเร็จ

ขอขอบพระคุณ กองการโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวง
สาธารณสุข ที่ให้เอกสารและสิ่ติเกี่ยวกับการโรคในประเทศไทย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ



หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	๗
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	๘
กิตกรรมประการ.....	๙
รายการตารางประกอบ.....	๑๐
อินไซค์อยอ.....	๑๑

บทที่

1 บทนำ.....	1
2 ความรู้พื้นฐาน.....	3
3 วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ.....	21
4 ผลการทดลอง.....	27
5 วิจารณ์และสรุป.....	35
เอกสารอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก.....	54
ประวัติ.....	61

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการงานประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบติที่แตกต่างกันของเชื้อใน family Neisseriaceae	18
2	คุณสมบติที่แตกต่างในการแยก species genus Neisseria ...	19
3.1	เปรียบเทียบการวินิจฉัยเบื้องต้นของแพห์ กับการข้อมสีแกรมจาก หนองของผู้ป่วย 100 ราย.....	30
3.2	เปรียบเทียบการข้อมสีแกรม กับการข้อมฟลูออเรสซินแอนติบอดี้ จากสิ่งตรวจผู้ป่วย 100 ราย.....	31
3.3	เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อโภคในคอกคัพบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด ท่าง ๆ กับการข้อมสีแกรมและการข้อมสีเรืองแสงจากสิ่งตรวจ...	31
3.4	เปรียบเทียบการวิเคราะห์เชื้อ <u>Neisseria gonorrhoeae</u> โดยคุณภาพการเพาะเชื้อ, การข้อมสีแกรม, การข้อมสีเรืองแสง 32	
3.5	ผลจากการทดลองทางชีวเคมีของเชื้อ gram negative diplococci ที่โคลนีไนเพลนบวกกับปฏิกิริยาอ็อกซิเกส บน Thayer-Martin medium จำนวน 46 รายซึ่งมาจาก สิ่งตรวจ.....	32
3.6	เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ <u>Neisseria gonorrhoeae</u> โดย วิธี sugar fermentation วิธีข้อมสีเรืองแสง และวิธี coagglutination ซึ่งแยกได้จากสิ่งตรวจจำนวน 46 ราย... 33	
3.7	ผลการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ <u>Neisseria</u> <u>gonorrhoeae</u> ที่แยกได้จากสิ่งตรวจ 46 สายพันธุ์..... 33	
3.8	เปรียบเทียบผลการทดสอบ เบคา-แลคตามีส และการทดสอบ ความไวของเชื้อต่อยาแพนนิซิลลิน จากเชื้อ <u>Neisseria</u> <u>gonorrhoeae</u> ที่แยกได้..... 34	

ອົນນາຍຄໍາຍອ

FA	Fluorescent antibody
TM	Thayer-Martin medium
BA	Blood agar medium
ML	Martin-Lewis medium
NYC	New York City medium
NSU	Non-specific urethritis
PID	Pelvic inflammatory disease
GC	Gonococci
LPS	Lipopolysaccharides
PBS	Phosphate buffer solution
I.U.	International units
g	gram
mg	milligram
l	litre
ml	millilitre
CTA	Cystine-tryptic digest agar base medium
ช.ม.	ช້າໂມງ
ช.ช.	ອັກສາເຊື່ອເຊີຍສ
ນ.ນ.	ນິລດິເນຕຣ
ນ.ດ.	ນິລດິເນຕຣ
PPNG	Penicillinase-producing <u>Neisseria gonorrhoeae</u>