

4-1-1972

Incidence of C. Diphtheriae from the patients' clinical specimens

พงษ์พรรณ เต็มสุข

นราทร ธรรมบุตร

ดวงรัตน์ วิทยาประสิทธิ์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal>



Part of the [Medicine and Health Sciences Commons](#)

Recommended Citation

เต็มสุข, พงษ์พรรณ; ธรรมบุตร, นราทร; and วิทยาประสิทธิ์, ดวงรัตน์ (1972) "Incidence of C. Diphtheriae from the patients' clinical specimens," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 17: Iss. 2, Article 5.

DOI: 10.58837/CHULA.CMJ.17.2.5

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol17/iss2/5>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

INCIDENCE
OF
C. DIPHTHERIAE
FROM THE PATIENTS' CLINICAL SPECIMENS

ส่องพรรณ เต็มสุข*
นราทร ธรรมบุตร พ.บ.*
ดวงรัตน์ วิชาประสิทธิ์*

Introduction :

Diphtheria bacilli เป็น organisms ที่อยู่ใน genera *Corynebacterium* species เป็น species เดียวที่ทำให้เกิดโรค คอตีบ

รูปร่างของ organisms นี้ เป็นรูป rod—shape แต่ไม่แน่นอน ไม่มี capsule, และ spore ตรงปลาย rod ข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างจะเป็นรูป club—shape มักจะมี Metachromatic granule ซึ่งเห็นได้โดยย้อม Methylene blue stain มีการเรียงตัวเหมือนอักษรจีน

Method :

การเพาะเชื้อและการ Identify นั้น Div. of Bacteriology ได้ supply Loeffler coagulated serum slant เป็น transport

medium สำหรับ Diphtheria Bacilli, จาก ผู้ป่วยควรจะ streak ลงบน media นี้ diphtheria bacilli เจริญได้เร็วกว่าอยู่ใน normal flora ในเวลา ๒—๓ ชม. แรก (1)

Swab ที่อยู่ใน Loeffler medium นำมา streak บน Blood agar สำหรับ detected group a—β. hemolytic streptococci และจาก Loeffler medium นำมา smear และย้อมด้วย Methylene blue และ streak บน *Clauberger II medium* (2) เมื่อแยก diphtheria bacilli, media นี้ diphtheria bacilli จะขึ้นได้ดี normal flora ส่วนใหญ่จะถูก inhibit. เก็บ Blood agar plate และ *Clauberger II medium* ที่ ๓๗° C นาน ๑๘ ชม. ลักษณะ colony ของ diphtheria bacilli บน *Clauberger II medium*

* แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์เวชสาร

๑๘ ชม. มีขนาดเล็ก สีเทาดำ กลมแบน ได้ดี บน media นี้ และจะให้ colony สีดำ
แต่ถ้า incubate ๔๘ ชม. colony จะใหญ่ สนิท ใหญ่, หนูน, กลม เมื่อยอมดูจะแยก
และเห็นชัดขึ้น. Staphylococci ก็จะมีขึ้น ได้จาก diphtheria bacilli

รายงานตลอดปี ๒๕๑๔ มัตถน

Data Diphtheria ปี ๒๕๑๔ (มกราคม ๒๕๑๔ — ธันวาคม ๒๕๑๔)

MONTHS	Total cases	"ISOLATED" STRAINS		Positive Virulent test	
		patients	personels	patients	personels
มกราคม	๕	๕	—	๒	—
กุมภาพันธ์	๕	๕	—	๔	—
มีนาคม	๒	๒	—	—	—
เมษายน	๓	๓	—	๑	—
พฤษภาคม	๖	๖	—	๒	—
มิถุนายน	๕	๕	—	๕	—
กรกฎาคม	๕	๕	—	๔	—
สิงหาคม	๔	๔	—	๓	—
กันยายน	—	—	—	—	—
ตุลาคม	๑	๑	—	—	—
พฤศจิกายน	๔	๓	๑*	—	—
ธันวาคม	๑๔	๑๔	—	๕	—
รวม	๖๒	๖๑	๑*	๒๖ (๔๑.๕๓%)	—

* = from nurses.

นำ colony ที่มีลักษณะเหมือน diphtheria bacilli มาย้อมดู แล้ว streak ลงบน Blood agar plate เพื่อทำ Virulent test ต่อไป

๓. ใช้เชือกที่แยกได้ pure แล้ว นำมา streak จากขอบของแผ่นกระดาษกรองลงมาจนถึงขอบ plate ทำ positive control จากเชื้อ Diphtheria ที่พิสูจน์แล้วว่ามี

Detection-Diphtheria toxin (Virulent test) :

Virulence

การหา Toxin ของโรคคอตีบมี ๒ วิธีคือ
๑. Vivo test เป็นการฉีด intracutaneous เข้าสั้วทศดลอง ซึ่งโดยมากใช้กระต่ายหรือหนูตะเภา

๔. นำ plate นั้นไปเข้าตู้อบ ๓๗° C นาน ๔๘ ชม. แล้วจึงอ่านผลโดยดู precipitating line ที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับ positive control.

๒. Vitro test (Eleck's Method) หน่วยบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใช้วิธีนี้ เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก ประหยัด ตามนโยบาย มีวิธีทำดังนี้ :

จาก Data ตลอดปี ๒๕๑๔ แสดงให้เห็นว่ายังพบเชือนี้ได้บ้างในชุมชน

๑. ใช้กระดาษกรองขนาด ๑.๕ x ๗ ซม. ที่ปราศจากเชื้อลุ่มใน Diphtheria toxin ๕๐๐ Unit/ml. นำไปวางบน surface ของ serum agar ใน petri plate กดแผ่นกระดาษกรองให้ติดกับ surface ของ agar นั้น

ปัญหาที่สำคัญที่จะต้องนำมาพูดถึง คือ การระบาดของโรคนี้เป็นแบบ Droplet สมัยก่อนที่ยังไม่มี artificial immunization ต่อโรคนี้ ผู้ที่ contact กับผู้ป่วยโรคคอตีบจะค่อย ๆ มีความต้านทานต่อโรคนี้จนพอที่จะป้องกันโรคนี้ได้ตลอดไป โรคคอตีบจึงเป็นโรคที่เล็กมาก ผิดกับปัจจุบันนี้ เรามีวัคซีนป้องกันทันสมัย แต่ก็มีช่องว่างอยู่ระยะหนึ่งคือระยะที่ Artificial immunity น้อยลง และ Natural immunity จึงไม่มากพอที่จะฆ่าเชื้อ C. diphtheria เป็นเหตุให้เชือนี้เล็ดลอดเข้าไปอาศัยอยู่ในคอ เป็นพาหะที่สำคัญของโรคนี้ไป

๒. นำ plate นั้นไปทำให้แห้งในตู้อบ ๓๗° C นาน ๑-๒ ชม. โดยแฉกแผ่น plate เล็กน้อย

รายงานจะสมบูรณ์กว่า ถ้าได้ identify จาก throat swabs ของ persons ที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยทุกท่าน

Discussion

การ smear และย้อมด้วย Methylene blue เพื่อดู Metachromatic granules ช่วยในการ identify เชื้อคอตีบ พบว่าเชื้อที่ได้จาก Clauberger II media หรือ Tellurite media ไม่ค่อยเห็น Metachromatic granules ใน blood agar plate จะเห็น granules ได้บ้าง แต่ใน Loeffler media เห็น granules ชัดมาก

การทำ Elek test บางครั้ง control ด้ผล false negative เนื่องจากว่า การที่ เก็บเชื่อนาน ๆ (subculture) ทำให้เชื่อนเสียคุณสมบัติในการสร้าง Toxin

Serum ที่ใส่ใน base media เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งที่ส่งเสริมให้เกิด precipitating line

หน่วยปฏิบัติการ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ใช้ Horse serum 2 ml. ต่อ base media 15 ml. และมักจะเห็นผล positive (ถ้าเชื้อ

พบมี Virulence) ภายใน ๑๘ ชม. และ line จะเห็นชัดเจนทุกที่ใน ๔๘ ชม.

การทำให้แห้งของ agar surface เมื่อวางกระดาษกรองนั้น พบว่า ๑—๒ ชม. เป็นเวลาที่เหมาะสม เพราะถ้านานกว่า precipitating line จะเกิดช้า และถ้า surface มีความชุ่มชื้นมาก เชื้อที่ streak จะไหลซึมไปในกระดาษกรองปนกันไปหมด

นอกจากนี้ precipitating line ที่เกิดขึ้น ใกล้กับกระดาษกรองมาก (เพราะ Antitoxin มี potency ไม่ดี)

การ dry surface หลังจากวางกระดาษกรองที่ชุบ antitoxin นั้น เวลา ๑—๒ ชม. เป็นระยะที่เหมาะสม ถ้านานไป surface agar แห้งเกินไป พบว่า precipitation line จะเกิดช้า แต่ถ้า surface ยังเปียกชุ่มอยู่ เชื้อที่ streak จะไหลซึมไปตามกระดาษกรองปนกับเชือดวอน นอกจากนี้ precipitation line ที่เกิดขึ้นจะอยู่ ใกล้กับขอบกระดาษกรองเห็นไม่ค่อยชัด การดู line ควรจะต้องกับแสงไฟสว่าง

Reference :

1) Daniels, J.B., M.P. Johnson, and R.A. Mac Cready.— Laboratory Diagnosis of *Corynebacterium diphtheriae*: Early

report of positive cultures in 0-8 hrs.-
Can. J. Public Health, 42:185-189, 1951.

2) Burkhardt, F. Bacteriological and
Serological Standard Method of the Depart-
ment of Medical Science, Bangkok, Nov.
t,-Page 19, 1968.

3) Blair, J.E., Lennette, E.H., and
Traunt, J.P.- Manual of Clinical Microbi-
ology, Bethesda, MD.-Page 89-94,1970.

Acknowledgement:

ผู้รายงานขอขอบคุณ

๑. หัวหน้าแผนกจุลชีววิทยาที่อนุญาติ
ลงตีพิมพ์

๒. ผศ. ดิลก เย็นบุตร ที่ได้ตรวจ
แก้ไขและแนะนำมาโดยตลอด

