

ความสำคัญของสีแกรมทางแพทย์

เมธี กุลกำจร*

นราทร ธรรมบุตร**

ไม่ว่านิสิตแพทย์หรือนักศึกษาพยาบาล ใครงก็ตามถ้าผ่านหลักสูตรวิชาจุลชีว-ปราสาทวิทยา สิ่งหนึ่งที่ยังติดตาไปในวันหน้าก็คือ เรื่องของ การย้อมสีจุลชีพ โดยวิธีของแกรม (Gram's stain) การย้อมสีแกรมจึงจะดูเป็นหัวใจของวิชาจุลชีว-ปราสาทวิทยา ที่นักจุลชีว-ปราสาทวิทยา ออกจะภูมิใจ และเป็นที่รู้จักใช้กันกว้างขวางในการแพทย์ในปัจจุบัน

เรื่องของสีแกรมช่วยชีวิตผู้ป่วยมาก เป็นต้นว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคเชื้อหุ้มสมองอักเสบ หรือหนองในกิติ กว่าจะมาถึงโรงพยาบาล ผู้ป่วยจะได้รับปฏิชีวนะกันมาก่อน (เพราะเราคุมร้านขายยาไม่ได้) หนทาง

ที่จะเพาะหาจุลชีพก่อโรคให้พบดูจะมีดมนเต็มที การที่ได้แค่สารน้ำล้างสมอง* น้ำไขสันหลังผู้ป่วยมาย้อมสีแกรมและนั่งดูด้วยกล้องจุลทรรศน์นาน ๆ 5-10 นาที ก็จะช่วยตัดสินใจได้ว่าจุลชีพก่อโรคนั้นเป็นแบคทีเรียหรือไวรัสกันแน่? อนึ่ง สีแกรมยังช่วยจำแนกชนิดของแอนแอโรบส์ได้ดี (ดูตาราง) แม้กระทั่งในคลินิกเอกชนหรือโพลีคลินิกที่เชื่อถือได้บางแห่งก็ยังมีชุดสีแกรมเพื่อช่วยตัดสินใจอย่างรวดเร็วว่า ผู้ป่วยที่มีหนองไหล (โรคหนองใน) นั้นมาหาแพทย์ในระยะเป็นโรคเฉียบพลัน (acute) หรือเรื้อรังเป็นหนองในแท้หรือเทียมกันแน่?

Table Showing the easy way to classify anaerobic bacteria by Gram's stain.

Anaerobes	Shape	Gram reaction	Arrangement
1. Clostridium spp. (spore-forming bacteria)	Rod shape bacilli	Gram positive	Not typical
2. Non sporeforming bacteria	Bacillary form	Gram positive	Not typical
3. Fusiforms and Bacteroides (non sporeforming bacteria)	Slender and small bacilli	Gram negative	Filaments
4. Coccus	Coccal form	Gram positive	Chains and cluster
5. Actinomyces spp.	Mycelial form	Gram positive	True branching
6. Spirochete	Spiral form	—	Not typical

* ภาควิชาปราสาทวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** Sub-galial fluid.

เมื่อได้ค้นดูประวัติทางจุลชีววิทยาเมื่อราว ๆ สัก 100 ปีมาแล้ว ก็พบความสำคัญของการย้อมสีแกรม สัมพันธ์กับปฐมเหตุของโรคปอดบวม ซึ่งนักวิจัยสมัยนั้นโต้แย้งกันอย่างรุนแรงและก็ดูเหมือนสีแกรม นั้นเองเป็นผู้ตัดสินใจใครถูกใครผิด ในการโต้แย้งทางวิชาการของท่านนักวิจัยทั้งหลายในครั้งนั้น กล่าวถึงปฐมเหตุของโรคปอดบวมว่า อาจะเกิดจาก จุลชีพที่มีลักษณะกลมตัวสีม่วง ที่เป็นแกรมบวก หรือเกิดจากแบคทีเรียตัวยาวและสีแดง ซึ่งเป็นแกรมลบ? จุลชีพทั้ง 2 สายพันธุ์ตามที่กล่าวมานั้น ในปัจจุบันนี้ก็เป็นที่ทราบกันแน่ชัดว่า อย่างน้อยจุลชีพก่อโรคปอดบวม 2 ชนิดที่ได้ศึกษากันในสมัยนี้ แตกต่างกันทางลักษณะ โคลโลนี ที่เห็นได้ชัดในห้องปฏิบัติการและผลของการทดสอบในสัตว์ทดลอง ก็ต่างกัน ชนิดหนึ่ง คือ *Klebsiella pneumoniae* (Friedlander's bacilli) อีกชนิดหนึ่งในปัจจุบัน เรียกจุลชีพนี้ว่า *Streptococcus pneumoniae*.

บัดนี้ จุลชีพทั้งสองแยกจากกันได้หลายวิธี แต่ไม่มีวิธีใดจะง่ายไปกว่าการย้อมสีแกรม อย่างไรก็ตาม แม้จะรู้วิธีการย้อมสีแกรมมาราว 1 ศตวรรษแล้วก็ตามที่ แม้ว่าการย้อมสีแกรมจะช่วยจำแนกโลกของ สิ่งมีชีวิตน้อย ๆ (จุลชีพ) ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามที่ทราบดีแล้วก็ตาม นักวิจัยทั้งหลายก็ยังไม่ทราบกลวิธีที่แน่นอนของการติดสีแกรม และไม่ได้ติดสี basic dyes ในวิธีการย้อมสีแกรม ฉะนั้น ทฤษฎีการติดสีแกรมจึงมีผู้กล่าวถึงมาก ส่วนใหญ่ก็พอจะเชื่อถือได้ แต่ก็มีคำโต้แย้งกันจนทฤษฎีเหล่านั้นเชื่อถือไม่ได้สนิทใจนัก

ปัญหาอยู่ที่ว่า ใครเป็นผู้คิดค้นวิธีการย้อมสีแกรม? ท่านผู้นี้คือ นักจุลชีววิทยาชาวเดนมาร์ค ชื่อ Dr. Hans Gram* หรือบางแห่งเรียกท่านว่า Dr. Christian Gram เป็นนักวิจัยในห้องปฏิบัติการของ

Dr. Friedlander นั้นเอง เมื่อ 15 มีนาคม พ.ศ. 2427 ดร. แกรม คิดวิธีการย้อมสีขึ้น จุดประสงค์มิได้เพื่อแยกชนิดของจุลชีพเช่นในปัจจุบัน แต่เพื่อย้อมตัวจุลชีพในเนื้อเยื่อ และเวลาทำการตรวจศพ หรือไปอ้อพลีย์ เพื่อให้เห็นตัวจุลชีพเด่นชัดขึ้น การย้อมสีแบบก่อน ๆ หน้าที่จะเห็นตัวจุลชีพและเนื้อเยื่อติดสีคล้าย ๆ กันไปหมด ดูแล้ววาลาย** ขณะนั้นไม่มีผู้ใดเห็นความสำคัญของการย้อมสีแกรมต่อการแพทย์เลย แม้แต่ ดร. แกรม เองปี พ.ศ. 2524 ดร. แกรม เขียนถึงวิธีการย้อมสีแกรมอย่างย่อ ๆ ในรายงานประชุมวิทยาศาสตร์การแพทย์นานาชาติที่กรุงโคเปนเฮเกน ปี พ.ศ. 2429 มีรายงานแสดงว่าจุลชีพก่อโรค ทัยฟอยด์ โรคอหิวาต์และโรคหนองใน ถูก decolorized โดยวิธีการย้อมสีแกรม (gram-negative) แต่ไม่มีหลักฐานแน่ชัด วิธีการย้อมสีนี้ เข้ามาอยู่ในตำราจุลชีววิทยา ตั้งแต่เมื่อไร?

ปี พ.ศ. 2495 Bartholomew และคณะรวบรวมรายงานวิธีการย้อมสีแบบต่าง ๆ และกล่าวถึงวิธีของ แกรม ไว้ด้วย ในเวลานั้นทราบกันว่าจุลชีพก่อโรคไพลามทุ่ง โรคปอดบวม และหนองฝีหลาย ๆ ชนิด ติดสีแกรม (แกรมบวก) ส่วนจุลชีพก่อโรคอหิวาต์ ทัยฟอยด์ หนองใน มองฉลา (glanders) ไข้กลับ (relapsing fever) ไม่ได้ติดสีแกรม (แกรมลบ) อนึ่ง การย้อมสีแกรมเป็นหัวใจในการแยกกลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่พึ่งก๊าซออกซิเจน (ดูตาราง)

การย้อมสีแกรม เป็นวิธีการย้อมที่จัดอยู่ในประเภท simple stain ที่ประกอบด้วยน้ำยา 2-3 ชนิด ที่มีหลักเกณฑ์ง่าย ๆ

ในปัจจุบัน การแพทย์ในทุกสาขาวิชาเจริญก้าวหน้าไปไกล เป็นต้นว่า ปฐมเหตุที่ทำให้กางเกงในมีจุดดำ เนื่องจากประกอบเพศสัมพันธ์แผนใหม่ (ทางปาก) หรือทดสอบทั้งครรภ์อย่างรวดเร็วโดยวิธี

* รูปปั้น Dr. Gram เป็นสัมฤทธิ์ขนาดเท่าตัวจริงอยู่ในพิพิธภัณฑ์แห่งชาติโคเปนเฮเกน, เดนมาร์ค.

** ปัจจุบันเพื่อให้เห็นจุลชีพในเนื้อเยื่อเด่นชัด นิยมย้อมสีตามวิธีการของ Brown Brenn Staining.

dry-dot-slide เหล่านี้เป็นต้น อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไป ถ้าจะนำงานวิจัย งานค้นคว้าที่มีคุณค่าแก่นมนุษย์ มาพิจารณาให้ถ่องแท้จะเห็นได้ว่า สามารถแบ่งผลงานค้นคว้าออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

ก. มหวิสามนัญวิจัย หมายถึงการค้นพบความจริงที่ยิ่งใหญ่ ดีเด่น เป็นการพบที่ทันสมัยเป็นนิจ และเป็นสภาวะต่อมนุษย์จำนวนมากในโลกนี้ ไม่ว่าจะอดีต ปัจจุบัน หรืออนาคต เป็นต้นว่า อริยสัจสี่* ที่พระพุทธเจ้าทรงค้นพบ แต่เดิมนั้น พระพุทธองค์เป็นเจ้าของสิทธิ์ตะที่เสวยสุขอยู่ในพระราชวัง พระองค์ทรงพิจารณาเห็นว่าชีวิตมีแต่ความทุกข์ จึงทรงพยายามที่จะแสวงหาทางที่จะให้พ้นทุกข์ ทรงตัดสินใจพระทัยที่จะเสด็จออกบวชบรรพชา ขณะนั้นมีพระชนมายุได้ 29 พรรษา ทรงบำเพ็ญทุกกิริยาอยู่ ณ ตำบลอุรุเวลาเสนานิคม เป็นเวลานานถึง 6 ปี

แต่ก็ไม่สามารถบรรลุธรรมที่จะทำให้พ้นทุกข์ได้ จึงทรงหันมาบำเพ็ญสมาธิจนกระทั่งถึงวันเพ็ญเดือนหก ก็สามารถบรรลุธรรมที่ช่วยพ้นทุกข์ได้ คือพระองค์ตรัสรู้ อริยสัจสี่ คือ

1. ทุกขสัจ สิ่งที่สัตว์ได้รับความทรมาน ได้แก่ แก่ เกิด แก่ เจ็บและตาย
2. สมุทัยสัจ มูลเหตุที่ทำให้เกิดทุกข์ อันได้แก่ ตัณหา ความอยาก ความชั่ว ความหลง
3. นิโรธสัจ ความดับทุกข์ได้สนิท ซึ่งเครื่องดับทุกข์ คือ ธรรม
4. มรรคสัจ วิธีทางปฏิบัติธรรมพาให้ถึงทางดับทุกข์

อริยสัจ ที่พระอริยเจ้าทรงค้นพบ จัดว่าเป็นยอดของธรรม และเป็นตัวบรรลุมรรคผล ถ้าสาธุชนทุกคนในโลกปฏิบัติได้ จะทำให้จิตใจผ่องใส

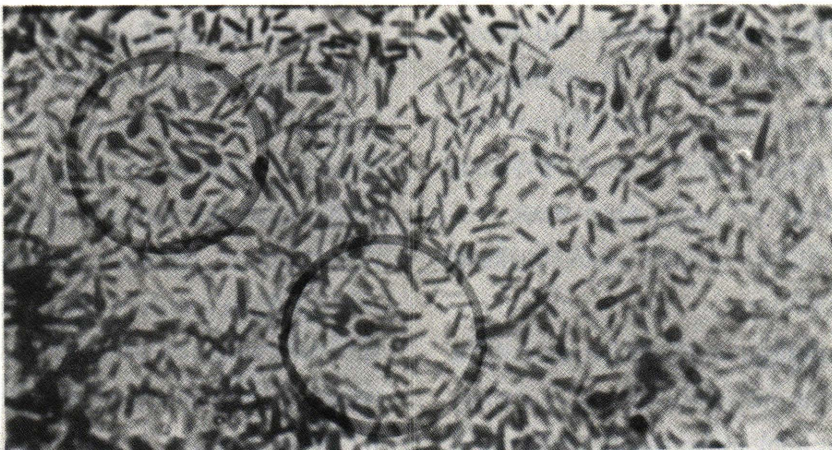


Figure 1 Round terminal spores by Gram's stain (*Cl. tetani*).

* อริย คือประเสริฐ สะอาด หมดจดบริสุทธิ์, สัจจะ แปลว่าความจริง.

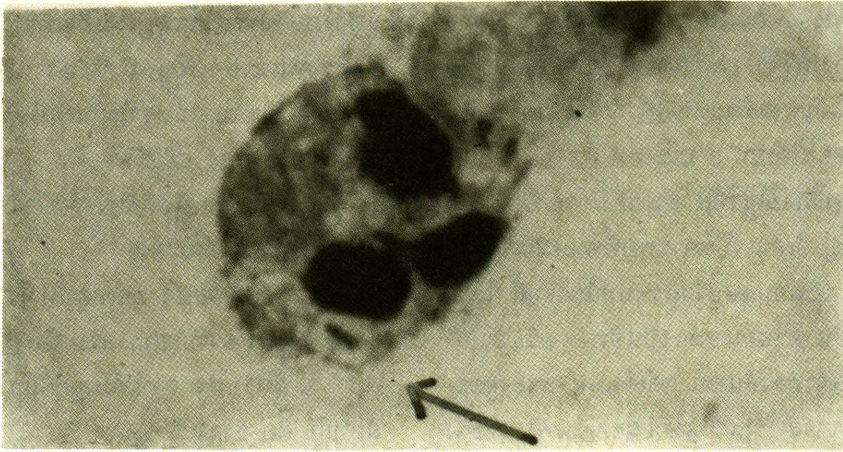


Figure 2 The intracellular *Cl. perfringens* by Gram's stain.

ข. วิตามินบี หมายถึง การค้นพบสิ่งจจะที่สำคัญ จะโดยบังเอิญหรือตั้งใจก็ตาม การค้นพบนั้นนับว่ามีประโยชน์ต่อมวลมนุษยมาก ประโยชน์ที่ได้จากการพบนั้นยิ่งใหญ่และมีความสำคัญมาโดยตลอด แม้ว่าจะมีการปรับปรุง (modified) พัฒนาอย่างไรก็ตาม หลักการเดิมก็ยังคงอยู่ตลอดไป ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจนก็คือ การค้นพบวิธีการย้อมสีแกรม ซึ่งรู้จักและใช้กันมาเกือบศตวรรษแล้วก็ตามที่ เรื่องของสีแกรมจึงปรากฏในตำราทุกเล่มที่เกี่ยวข้องกับจุลชีพที่ก่อโรคติดเชื้อ ฉะนั้น คุณภาพและประสิทธิภาพของสีแกรม ในวงการแพทย์จึงมีมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

ค. สามัญวิจัย การค้นคว้าพบสิ่งจจะเป็นจริงอยู่ได้ชั่วระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น นานวันไป สิ่งที่พบนั้นแม้จะมีประโยชน์ แต่ก็จจะกลายเป็นสิ่งล้าสมัยไป เช่น การผ่าตัดทารกให้มีหัวใจลิงบาบูน* นานวันก็มีผู้ใช้วัสดุอื่นแทน ทารกหัวใจลิงก็จจะล้าสมัยไปหรือวิธีการตรวจหา exoantigens ของจุลชีพ *N. meningitidis* Gr. A หรือหาจุลชีพ *H. influenzae*

type b ในน้ำไขสันหลัง นานวันก็คงมีผู้หาวิธี CIE** อื่น ๆ มาทำให้วิธีที่ทำอยู่เชื่อถือไม่ได้ แม้กระทั่งผู้ป่วยที่เป็น thalassemia เคยเชื่อกันว่าเสี่ยงมากต่อจุลชีพ *Streptococcus pyogenes* gr. A ความจริงนี้กลายเป็น ไม่จริงในปัจจุบัน

แม้ว่า เรื่องของสีแกรม จะมีความสำคัญในทางการแพทย์มานานแสนนานก็ตามที่ นิสิตแพทย์ในปัจจุบันใช้หลักการเขียนประวัติการตรวจและวินิจฉัยโรคตามหลักของการรักษาผู้ป่วยแบบวิธีการแก้ปัญหาเช่นหลักสำคัญซึ่งรู้จักกันในชื่อย่อว่า POMR (The Problem Oriented Medical Records) เพื่อความเป็นระเบียบ เข้าใจปัญหาผู้ป่วยได้รวดเร็ว เป็นไปตามหลักของวิทยาศาสตร์การแพทย์ศาสตร์แผนใหม่ ประกอบกับทักษะของนิสิตแพทย์ในทางทำ bedside lab. ดู จะลดลง (เช่นย้อมสีแกรม) เพราะเข้าใจงานแล็บ เป็นงานของพนักงานวิทยาศาสตร์ หรือเจ้าหน้าที่ประจำตึกไป จึงทำให้ดูประหนึ่งว่า การย้อมสีแกรมไม่มีความจำเป็นในทางแพทย์สมัยใหม่เท่าที่เคยมีมาเก่าก่อน

* หนูน้อย Baby Fae, Loma Linda Univ. Med. Center, California, USA.

** Counterimmuno-electrophoresis.

ถึงแม้ว่าภาควิชาปรสิตวิทยาและจุลชีววิทยาเคยเป็นเพียงหน่วยหนึ่งใน ภาควิชาพยาธิวิทยาก็ตาม ในปัจจุบันภาควิชาดังกล่าวนอกจากงานสอน การดูแลและแนะนำนิสิตแพทย์นิสิตเทคนิค นิสิตปริญญาโท นักศึกษาพยาบาลของสภากาชาดไทยแล้ว ภาควิชาฯ ยังสนับสนุนงานวิจัยทุก ๆ ด้านไม่ว่าจะเป็นการวิจัย-แอนติเจน แอนติบอดี ระบบ Histocompatibility (HLA) การติดเชื้อ *Chlamydia tyachomatis* ที่ปากมดลูกในสตรีตั้งครรภ์ อุบัติการ ของการพบ Herpes simplex virus type II ที่ปากมดลูก การศึกษาคุณสมบัติ B lactamase จากปาริโธเจนส์ ต่าง ๆ ความสำคัญของ sporangium อุบัติการ

Cryptosporidial oocyst ในอุจจาระเด็กตลอดจน การศึกษาโรคที่เกิดโดย helminths microfilariae, protozoa ในอุจจาระ เป็นต้น

ในปัจจุบัน การวิจัยจะดำเนินไปจนสำเร็จได้หรือไม่ ขึ้นอยู่กับโครงการวิจัยที่น่าสนใจ มีเงินสนับสนุน และผู้วิจัยเสียสละ ตั้งใจโดยมิได้หวังสิ่งใดตอบแทน ประกอบกับต้องเป็นนักสังเกตการณ์ที่ดี มีประสบการณ์พอสมควร และทำงานดีมีระบบ ภาควิชาจุลชีวและปรสิตส่งเสริมให้มีอิสระทางการ เพื่อให้เกิดประโยชน์นอกงามในทางความรู้ ไม่ว่าจะเป็นประเภทข้อ ข. หรือข้อ ค. ที่กล่าวมาแล้วก็ตาม

อ้างอิง

1. Beng TG, Kanchan BV, Paul FA, Frederick KS Lim. Diagnosis of gonorrhoea by gram-stained smears and cultures in men and women : role of the urethral smear. J Am Ven Sis Assoc 1985 Jul - Sep; 12(3) : 135-139
- 1 ก. Burrows W. Textbook of Microbiology. 21 ed. Philadelphia : WB Saunders, 1979. 20
2. Curickshank R. Textbook of Medical Microbiology. 12 ed. London : E & S Livingstone, 1972. 30
- 2 ก. Musher MD. Gram stain and culture of sputum to diagnose bacterial pneumonia. J Infect Dis 1985 Nov; 152(5) : 1096
3. The International Common Pathology Tests and The Pathological diagnosis of Disease Bangkok : IMS Publication, 1983.
4. Weed LL. The Problem Oriented Medical Recods Bangkok : Western Reserve University Press. 1975.
5. นราทร ธรรมบุตร. สีแกรม. แพทยสภาสาร 2523 ธันวาคม; 9(12) : 839-847
6. นราทร ธรรมบุตร. แอนแอโรบัสที่สำคัญทางแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2, 2529. (แก้ไขเพิ่มเติม 2529) กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ประเสริฐศิริ, 2527. 11
7. พระมหาวิระ กาวโร. มหาสติปัญญาานสี. กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์, 2526