



# เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวที่พบเชื้อวัณโรค ที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดราชบุรี

นางสาวผกาพร พุ่มพวง, นางสาวสรีรียา ยังพึ้ง, นางสาวอัมพร เล็กไข



## บทคัดย่อ

การศึกษาเชิงพรรณนา ครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยเก็บข้อมูลจากผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลว ซึ่งส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดราชบุรี ระหว่างวันที่ 1 กรกฎาคม 2565 ถึง 31 มกราคม 2566 วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา หาค่าความถี่ร้อยละ ผลการศึกษาพบว่าจากตัวอย่างที่ส่งมาเพาะเชื้อวัณโรคทั้งหมดจำนวน 1,662 ราย มีผลพบเชื้อวัณโรคจำนวน 489 ราย คิดเป็นร้อยละ 29.42 เมื่อเปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงเชื้อพบว่าผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรคจำนวน 391 ราย คิดเป็นร้อยละ 23.52 ต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารเหลวซึ่งพบเชื้อวัณโรคจำนวน 410 ราย คิดเป็นร้อยละ 24.67 เมื่อจำแนกตามรายการทดสอบ พบว่าในตัวอย่างที่มีผล AFB Positive จำนวน 238 ราย เมื่อเพาะเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค จำนวน 199 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.61 ส่วนในอาหารเหลว พบเชื้อวัณโรคจำนวน 214 ราย คิดเป็นร้อยละ 89.92 สำหรับในตัวอย่างที่ AFB Negative จำนวน 251 ราย เมื่อเพาะเชื้อในอาหารแข็งและอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค ร้อยละ 76.49 และ 78.09 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคตามผลการตรวจทางอนุชีววิทยาของยา Isoniazid (INH) และ Rifampicin (RIF) พบว่าในกลุ่มตัวอย่างที่มีผลการทดสอบความไวต่อยาทั้งสองชนิด (SS) จำนวน 280 ราย คิดเป็นร้อยละ 57.26 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค ร้อยละ 77.86 และในอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค ร้อยละ 81.43 ในกลุ่มตัวอย่างที่ต่อต่อยา INH แต่ไม่ต่อต่อยา RIF (RS) จำนวน 98 ราย เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค ร้อยละ 87.76 และในอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค ร้อยละ 89.80 ส่วนในกลุ่มที่ต่อต่อยาทั้งสองชนิด (RR) จำนวน 94 ราย มีอัตราการพบเชื้อในอาหารแข็งมากกว่าอาหารเหลว โดยในอาหารแข็งพบ ร้อยละ 84.04 ในขณะที่ในอาหารเหลวพบเชื้อ ร้อยละ 81.91 สำหรับกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ต่อต่อยา INH แต่ต่อต่อยา RIF (SR) จำนวน 17 ราย พบว่าอัตราการพบเชื้อในอาหารทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันมาก โดยในอาหารแข็งพบเชื้อเพียงร้อยละ 47.06 ในขณะที่อาหารเหลวพบเชื้อวัณโรคสูงถึงร้อยละ 100 ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวคู่กันทั้งสองวิธี ทำให้เพิ่มโอกาสในการพบเชื้อวัณโรคมากขึ้นเนื่องจากเชื้อวัณโรคบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารแข็งและบางชนิดเจริญได้ดีในอาหารเหลว การเพาะเชื้อ ร่วมกันทั้งสองวิธีจะทำให้เพิ่มโอกาสการพบเชื้อ ทำให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยได้แม่นยำและความถูกต้องมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยให้ผู้ป่วยมีโอกาสในการรักษาหายมากขึ้นและลดการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรคได้อีกด้วย

## ที่มาและความสำคัญ

วัณโรค (Tuberculosis หรือ TB) เป็นโรคติดต่อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Mycobacterium tuberculosis ซึ่งสามารถแพร่เชื้อได้ง่าย จากรายงานวัณโรคระดับโลก โดยองค์การอนามัยโลก (WHO, Global Tuberculosis Report 2021) คาดประมาณว่าในปี พ.ศ. 2563 อุบัติการณ์ผู้ป่วยวัณโรค (รายใหม่และกลับเป็นซ้ำ) ของโลกสูงถึง 9.9 ล้านคน (127 ต่อแสนประชากร) และมีจำนวนผู้ป่วยวัณโรคเสียชีวิตสูงถึง 1.3 ล้านคน เมื่อปี พ.ศ. 2558 องค์การอนามัยโลก จัดให้ประเทศไทยเป็น 1 ใน 14 ประเทศของโลกที่มีภาระวัณโรคสูง และในปี ค.ศ. 2021-2025 โดยประเทศไทย ไม่อยู่ในกลุ่ม 30 ประเทศที่มีจำนวนและอัตราผู้ป่วยวัณโรคต่ออายุหลายขนานสูงแล้ว ซึ่งหมายความว่าประเทศไทยพ้นจาก 14 ประเทศที่มีภาระด้านวัณโรคสูง ซึ่งการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยวัณโรคจึงมีความสำคัญอย่างมากในการมีส่วนช่วยในการค้นหาผู้ป่วย ให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและการรักษาที่ถูกต้องเหมาะสม จะช่วยให้ผู้ป่วยมีโอกาสในการรักษาหายมากขึ้น และลดการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรค

การตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture) ซึ่งเป็นวิธีที่เป็นมาตรฐาน (goldstandard) เป็นการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูง เมื่อตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดเชื้อปนเปื้อนและยังพบว่าเชื้อที่มีชีวิตอยู่เพียง 10-100 ตัว/มิลลิลิตร ก็สามารถเพาะเชื้อขึ้น โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคสามารถทำได้ ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งอาหารชนิดแข็ง (solid media) และ อาหารชนิดเหลว (liquid media) การเพาะเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่นิยมใช้ คือ egg-based media เช่น Löwenstein-Jensen (L-) และการเพาะเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่นิยมใช้ คือ Middle-Brook 7H9 เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ MGIT (mycobacterial growth indicator tube) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคจะสามารถบอกความมีชีวิตของเชื้อวัณโรคได้

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการทางกายภาพด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดราชบุรี มีแนวโน้มพบผู้ป่วยรายใหม่และกลับเป็นซ้ำเพิ่มมากขึ้น การเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมกับการค้นหาและติดตามผลการรักษาเพราะมีความไวและความจำเพาะสูงและยังสามารถบ่งบอกความมีชีวิตของเชื้อวัณโรค แต่เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารเหลวมีต้นทุนค่าใช้จ่ายที่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็ง จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวที่พบเชื้อวัณโรค เพื่อศึกษาว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลว มีอัตราการพบเชื้อวัณโรคแตกต่างกันหรือไม่และเพื่อพัฒนาหรือปรับปรุงงานเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคให้มีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น



## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวที่พบเชื้อวัณโรคที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดราชบุรี

## วิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา โดยเก็บข้อมูลตัวอย่างของผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อวัณโรคด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาและเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และอาหารเหลว (liquid culture) จากโปรแกรม TB SYSTEM ตั้งแต่ 1 กรกฎาคม 2565 ถึง 31 มกราคม 2566 การวิเคราะห์ข้อมูลทางโปรแกรม Microsoft Excel ณ กลุ่มห้องปฏิบัติการทางกายภาพด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดราชบุรี จากจำนวนตัวอย่างเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค 1,662 ราย ตรวจพบเชื้อวัณโรคจำนวน 489 ราย เก็บข้อมูลตามแบบฟอร์มการเก็บข้อมูล ซึ่งประกอบด้วยตัวแปรต่างๆ ได้แก่ เลข LSN เพศ อายุ ประเภทผู้ป่วย ผลตรวจ AFB จากกล้องจุลทรรศน์ ผลเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และอาหารเหลว (liquid culture) และผลตรวจการต่อต่อยาวัณโรคด้วยเทคนิคการตรวจทางอนุชีววิทยา โดยวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา คำนวณหาค่าความถี่ ร้อยละ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวในตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อวัณโรค คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยหารด้วยตัวอย่างที่ส่งตรวจเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และอาหารเหลว (liquid culture) ที่พบเชื้อวัณโรค

## ผลการศึกษา

จากข้อมูลตัวอย่างที่ส่งตรวจเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็ง (solid) และอาหารเหลว (liquid culture) ที่พบเชื้อวัณโรคจำนวน 489 ราย เมื่อจำแนกการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยผลการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าในการตรวจหาเชื้อ AFB Positive จำนวน 238 ราย คิดเป็นร้อยละ 47.79 มีการตรวจพบ Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) ด้วยอาหารแข็ง (solid culture) จำนวน 199 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.61 และด้วยอาหารเหลว (liquid culture) จำนวน 214 ราย คิดเป็นร้อยละ 89.92 และตรวจหาเชื้อ AFB Negative จำนวน 251 ราย คิดเป็นร้อยละ 50.40 มีการตรวจพบ Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) ด้วยอาหารแข็ง (solid culture) จำนวน 192 ราย คิดเป็นร้อยละ 76.49 และด้วยอาหารเหลว (liquid culture) จำนวน 196 ราย คิดเป็นร้อยละ 78.09 และเมื่อพิจารณาผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยการตรวจทางอนุชีววิทยาของยา Isoniazid (INH) และ Rifampicin (RIF) พบว่าในการตรวจหาทางอนุชีววิทยาผลการทดสอบไวต่อยาทั้งสองชนิด (SS) จำนวน 280 ราย คิดเป็นร้อยละ 57.26 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค จำนวน 218 ราย คิดเป็นร้อยละ 77.86 และเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค จำนวน 228 ราย คิดเป็นร้อยละ 81.43 การตรวจหาทางอนุชีววิทยาผลการทดสอบต่อต่อยา INH แต่ไม่ต่อต่อยา RIF (RS) จำนวน 98 ราย คิดเป็นร้อยละ 20.04 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค จำนวน 86 ราย คิดเป็นร้อยละ 87.76 และเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค จำนวน 88 ราย คิดเป็นร้อยละ 89.80 การตรวจหาทางอนุชีววิทยาผลการทดสอบไม่ต่อต่อยา INH แต่ต่อต่อยา RIF (SR) จำนวน 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.48 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค จำนวน 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 47.06 และเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค จำนวน 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 100 การตรวจหาทางอนุชีววิทยาผลการทดสอบต่อต่อยาทั้งสองชนิด (RR) จำนวน 94 ราย คิดเป็นร้อยละ 19.22 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค จำนวน 79 ราย คิดเป็นร้อยละ 84.04 และเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรค จำนวน 77 ราย คิดเป็นร้อยละ 81.91 รายละเอียด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวที่พบเชื้อวัณโรค จำแนกตามรายการทดสอบ

รายการทดสอบ	Solid culture						Liquid culture						รวม		
	growth		No growth		contaminate		growth		No growth		Contaminate		จำนวน	%	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%			
AFB	+ve	199	83.61	37	15.55	2	0.84	214	89.92	17	7.14	7	2.94	238	47.79
	-ve	192	76.49	57	22.71	2	0.80	196	78.09	45	17.93	10	3.98	251	50.40
Molecular (INH,RIF)	S,S	218	77.86	60	21.43	2	0.71	228	81.43	36	12.86	16	5.71	280	57.26
	R,S	86	87.76	11	11.22	1	1.02	88	89.80	10	10.20	0	0.00	98	20.04
	S,R	8	47.06	9	52.94	0	0.00	17	100.00	0	0.00	0	0.00	17	3.48
	R,R	79	84.04	14	14.89	1	1.06	77	81.91	16	17.02	1	1.06	94	19.22

## อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งมีอัตราการพบเชื้อวัณโรคร้อยละ 23.52 ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารเหลวพบเชื้อวัณโรคร้อยละ 24.67 และการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคร่วมกันทั้ง 2 วิธี พบเชื้อวัณโรคร้อยละ 29.42 ซึ่งพบว่ามีความสูงกว่าการศึกษาของทิพย์ภรณ์ ณ ศรีสุข เล็กน้อย โดยในการศึกษาดังกล่าวมีอัตราการพบเชื้อวัณโรคในอาหารแข็ง ร้อยละ 19.18 ในอาหารเหลวร้อยละ 21.34 และการเพาะเชื้อร่วมกันทั้ง 2 วิธี พบเชื้อวัณโรคร้อยละ 23.09 ทั้งนี้เนื่องจากมาจากตัวอย่างที่ส่งมาตรวจที่ สคร.5 ราชบุรี ส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างของผู้ป่วยที่วินิจฉัยแล้วว่าเป็นวัณโรคหรืออยู่ระหว่างการรักษาวัณโรค จึงมีอัตราการตรวจพบเชื้อวัณโรคสูงกว่าและการศึกษานี้พบเชื้อ nontuberculous mycobacteria (NTM) ร้อยละ 6.13 โดยเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของปิยะดาและคณะ ซึ่งทำการศึกษาในเขตภาคเหนือตอนบนในปี 2552 พบเชื้อ NTM ร้อยละ 8 ซึ่งสูงกว่าการศึกษาในครั้งนี้เล็กน้อยทั้งนี้อาจเนื่องจากการศึกษาของปิยะดา ตรวจหาเชื้อ NTM ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาซึ่งมีความไวสูงกว่า สำหรับ Contaminate rate เมื่อพิจารณาจากตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อ ซึ่งกำหนดไว้ที่ร้อยละ 8-10 สำหรับการเพาะเชื้อด้วยอาหารเหลว และ ร้อยละ 3-5 สำหรับการเพาะเชื้อด้วยอาหารแข็ง สำหรับการศึกษานี้พบว่าในอาหารเหลวพบอัตรา Contaminate ร้อยละ 5.89 และในอาหารแข็งพบร้อยละ 2.41 พบว่าต่ำกว่าเป้าหมาย ซึ่งอาจจะต้องมีการทบทวนเรื่องกระบวนการลดการปนเปื้อน เวลาที่ใช้ในการ Decontamination นานเกินไปอาจทำให้เชื้อวัณโรคบางส่วนถูกทำลาย หรือการใช้สาร malachite green เข้มข้นมากเกินไปในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อพิจารณาชนิดของเชื้อวัณโรคตามการดูตัวอย่างเชื้อวัณโรคส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยส่วนมากอัตราการพบเชื้อในอาหารเหลวสูงกว่าในอาหารแข็งเล็กน้อย ยกเว้นเชื้อวัณโรคชนิดที่ไม่ต่อต่อยา INH แต่ต่อต่อยา RIF (SR) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรคเพียงร้อยละ 47.06 ในขณะที่เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวพบเชื้อร้อยละ 100 ส่วนในกลุ่มที่ต่อต่อยาทั้งสองชนิด (RR) เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งพบเชื้อวัณโรค ร้อยละ 84.04 สูงกว่าในอาหารเหลวซึ่งพบเชื้อวัณโรคร้อยละ 81.91 ยังไม่มีการศึกษาปัจจัยที่มีผลกับการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรคที่อยู่ในอาหารแข็งและอาหารเหลวในการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าชนิดของการดูตัวอย่างเชื้อวัณโรคมีความสามารถในการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็งและอาหารเหลวควบคู่กันทั้งสองวิธีทำให้เพิ่มโอกาสในการพบเชื้อวัณโรคมากขึ้น เนื่องจากเชื้อวัณโรคบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารแข็งและบางชนิดเจริญเติบโตในอาหารเหลว ดังนั้นการเพาะเชื้อ ร่วมกันทั้งสองวิธีจะทำให้เพิ่มโอกาสการพบเชื้อทำให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยได้แม่นยำและความถูกต้องมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยให้ผู้ป่วยมีโอกาสในการรักษาหายมากขึ้นและลดการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรคได้อีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง

1. สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ. 2564 กรุงเทพมหานคร: กองวัณโรค กรมควบคุมโรค; 2564.
2. ทิพย์ภรณ์ ณ ศรีสุข (2022) การเปรียบเทียบผลและประเมินประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งกับวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว วารสารวัณโรค โรคทรวงอกและเวชบำบัดวิกฤต 101-119
3. H P Chien 1, M C Yu, M H Wu, T P Lin, K T Luh Comparison of the BACTEC MGIT 960 with Löwenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from clinical specimens 2000 ;4 (9) : 866-70 unpagged
4. J J Lee 1, J Suo, C B Lin, J D Wang, T Y Lin, Y C Tsai. Comparative evaluation of the BACTEC MGIT 960 system with solid medium for isolation of mycobacteria. 2003; 7 (6) : 569-74 unpagged