

การเปรียบเทียบผลและประเมินประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อ และพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง กับวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว

ทิพย์ภาวิรัตน์ ณ ศรีสุข วท.ม.

ชนัญตรี กำดี วท.ม.

ลัดดา รัตนวิจิตร วท.บ.

กลุ่มปฏิบัติการอ้างอิงชั้นสูงวัณโรคแห่งชาติ กองวัณโรค

กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

บทคัดย่อ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่สำคัญเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อ เป็นวิธีที่เป็นมาตรฐาน (gold standard) มีความไวและความจำเพาะสูงและบอกความมีชีวิตของเชื้อได้ การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบผลและประเมินประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture MGIT 960) จากการศึกษาพบว่าผลการเพาะเลี้ยงเชื้อมีผลผ่านเกณฑ์ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพดังนี้ สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) หรือ nontuberculous mycobacteria (NTM) ร้อยละ 16, สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ MTBC ร้อยละ 15, สัดส่วน AFB-positive ที่ตรวจพบ MTBC ด้วยการเพาะเชื้อ liquid ร้อยละ 95 และ solid culture ร้อยละ 87, Turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรค ร้อยละ 98 การเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็งและการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว จากตัวอย่างทั้งหมด 1,715 ราย พบว่ามีการรายงานผล Growth ในการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว ร้อยละ 23 (388/1,715) สูงกว่าเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (ร้อยละ 20, 349/1,715) มีการตรวจพบ MTBC ในการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลวร้อยละ 98 สูงกว่าเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง ตรวจพบ MTBC ร้อยละ 88 และสัดส่วน contaminated liquid culture พบร้อยละ 6 ต่ำกว่า solid culture พบร้อยละ 7 จากผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลวสามารถเพิ่มผลของการตรวจพบเชื้อและการตรวจหาเชื้อวัณโรคจะมีความรวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง

บทนำ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่สำคัญเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทยกำลังพัฒนาทั่วโลก¹⁻² ในประเทศไทยปัญหาการติดเชื้อวัณโรคเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญองค์การอนามัยโลกจัดให้ประเทศไทยเป็น 1 ใน 14 ประเทศของโลกที่มีภาระวัณโรค³⁻⁴ การดำเนินงานควบคุมวัณโรค

จึงเน้นที่การค้นหาผู้ป่วยให้ได้ในระยะเริ่มแรก และให้การรักษาผู้ป่วยให้หายตามกำหนดให้มากที่สุด แนวทางการวินิจฉัยวัณโรคควรเริ่มต้นด้วยขั้นตอนการตรวจคัดกรองทางคลินิกที่เหมาะสมเพื่อระบุผู้ที่น่าจะเป็นวัณโรค (presumptive TB cases) ร่วมกับการใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการในการ

ยืนยันผลการวินิจฉัย³ โดยการวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป ใช้การย้อมเสมหะด้วยกล้องจุลทรรศน์และการเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture) ซึ่งเป็นวิธีที่เป็นมาตรฐาน (gold standard)^{2,5-6} การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อ (mycobacterial culture and identification) เป็นการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูง⁷ เมื่อตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดเชื้อปนเปื้อนแล้วยังพบว่ามีเชื้อที่มีชีวิตอยู่เพียง 10-100 ตัว/มิลลิตรก็สามารถเพาะเชื้อขึ้นโดยทั่วไป การเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคสามารถทำได้ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งอาหารชนิดแข็ง (solid culture) และอาหารชนิดเหลว (liquid culture) การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง อาหารที่นิยมใช้คือ egg-based media เช่น lowenstein-jensen (L-J) และ ogawa ใช้เวลาในการเลี้ยงเชื้อ 6-8 สัปดาห์ การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว ใช้เวลาในการเลี้ยงเชื้อโดยเฉลี่ย 12-16 วัน^{5,7-8} การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลวในระบบอัตโนมัติ BACTEC MGIT 960 (mycobacterial growth indicator tubes) หลักการ คือ ตรวจวัดการลดลงของ O₂ จากการเติบโตของ เชื้อมัคโคแบคทีเรียใน MGIT medium โดยดูจากการเรืองแสงของ fluorescence indicator และแปลงเป็น growth unit^{5,7} โดยทั่วไปใช้จำแนกเชื้อเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) และ non-tuberculous mycobacteria (NTM)⁵ จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นวิธีที่เป็นมาตรฐาน (gold standard) เป็นกระบวนการสำคัญในการตรวจวินิจฉัยวัณโรค^{2,5-6} จึงได้ศึกษาผลการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรควัตถุประสงค์ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture) ในระบบอัตโนมัติ BACTEC MGIT 960 และได้มีการประเมินคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อวัณโรค เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนาหรือปรับปรุงงานการเพาะเลี้ยงเชื้อให้มีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น และลดระยะเวลาในการวินิจฉัยวัณโรค ซึ่งถือเป็นหัวใจสำคัญในการรักษาผู้ป่วย และการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคอย่างมีประสิทธิภาพ⁹⁻¹⁰

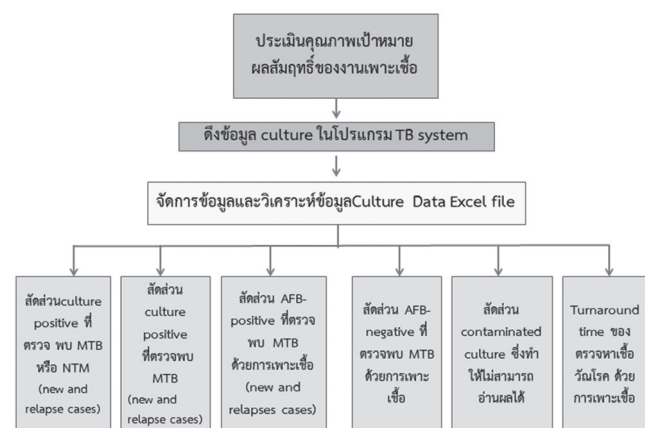
วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษาค้นคว้านี้ได้เก็บข้อมูลการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรค ทั้งการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (liquid culture) จากโปรแกรม TB System ในช่วงเดือนตุลาคม 2562 ถึง เดือนมกราคม 2564 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรม Microsoft excel 2010 โดยวิเคราะห์การประเมินคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อ และเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งและการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว รายงานผลเป็นจำนวนและร้อยละ

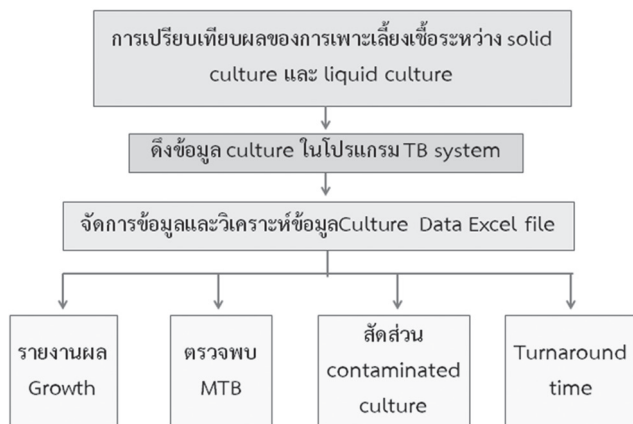
วิธีการดำเนินการ

1. การลงบันทึกข้อมูล
2. การเก็บรวบรวมข้อมูล
3. การจัดเก็บไฟล์ข้อมูล เตรียมข้อมูลในการวิเคราะห์
4. ขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล

แผนภูมิที่ 1 ขั้นตอนการวิเคราะห์และประเมินเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมาย ผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อ³



แผนภูมิที่ 2 ขั้นตอนเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อ และพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid culture) กับการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (liquid culture)^{2,11}



ผลการศึกษา

การประเมินคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อ พบว่าสัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) หรือ nontuberculous mycobacteria (NTM) (new and relapse cases) พบร้อยละ 16, สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ MTB (new and relapses cases) พบร้อยละ 15, สัดส่วน AFB-positive ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ (new and relapses cases) liquid พบร้อยละ 95, solid culture พบร้อยละ 87, สัดส่วน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ พบร้อยละ 6, สัดส่วน contaminated culture ซึ่งทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้ liquid culture พบร้อยละ 6 และ solid culture พบร้อยละ 7 และ turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรค สามารถรายงานผลได้ตามเวลาที่กำหนดไว้ ร้อยละ 98 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อโรค³

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (การเพาะเชื้อ)	คำอธิบาย	ที่ทำได้ (case)	ร้อยละ ที่ทำได้	เป้าหมาย ผลสัมฤทธิ์ ของงาน
สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ MTB หรือ NTM (new and relapse cases)	จำนวน culture positive ที่ตรวจพบ MTB หรือ NTM / จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่ส่งเพาะเชื้อ	ผู้ป่วยกองวัณโรค 81/501	16	ร้อยละ 15 - 20
สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ MTB (new and relapses cases)	จำนวน culture positive ที่ตรวจพบ MTB / จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่ส่งเพาะเชื้อ	ผู้ป่วยกองวัณโรค 77/501	15	ร้อยละ 10 - 15
สัดส่วน AFB-positive ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ (new and relapses cases)	จำนวนของ AFB-positive ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ / จำนวน AFB-positive ทั้งหมดที่ส่งเพาะเชื้อ	33/35 liquid 41/47 solid	95 liquid 87 solid	ร้อยละ 95 - 98 (liquid) ร้อยละ 85 - 90 (solid)
สัดส่วน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ	จำนวน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ / จำนวน AFB-negative ทั้งหมดที่ส่งเพาะเชื้อ	27/475	6	ร้อยละ 20 - 30
สัดส่วน contaminated culture ซึ่งทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้	จำนวนตัวอย่างที่ส่งเพาะเชื้อที่ถูกกำจัด เนื่องจาก การปนเปื้อน ในกระบวนการเพาะเชื้อ / จำนวนตัวอย่างที่ส่งเพาะเชื้อทั้งหมด	99/1,737 413/5,619	6 (liquid) 7 (solid)	ร้อยละ 8 - 10 (liquid) ร้อยละ 3 - 5 (solid)
Turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรค ด้วยการเพาะเชื้อ	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของระยะเวลาในการรายงานผล นับจากวันที่รับตัวอย่าง	2945/2996	98	Solid media: กรณีเฝ้าสัปดาห์ 3 สัปดาห์กรณี เฝ้าสัปดาห์ 4 - 8 สัปดาห์ Liquid media: กรณีเฝ้าสัปดาห์ 8 - 10 วัน กรณีเฝ้าสัปดาห์ 2 - 6 สัปดาห์

ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารแข็ง (solid culture) จากตัวอย่างทั้งหมด 1,715 ราย พบว่ามีการรายงานผล Growth 346 ราย (ร้อยละ 20) รายงานผล No Growth 1,265 ราย (ร้อยละ 73) สัดส่วน contaminated culture ร้อยละ 7 มีการตรวจพบ MTBC 329 ราย (ร้อยละ 95) และ ตรวจพบ NTM 17 ราย (ร้อยละ 5) (ตารางที่ 2)

ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคด้วยอาหารเหลว (Liquid culture MGIT 960) จากตัวอย่างทั้งหมด 1,715 ราย พบว่า มีการรายงานผล Growth 387 ราย (ร้อยละ 23) รายงานผล No Growth 1,223 ราย (ร้อยละ 71) สัดส่วน contaminated culture ร้อยละ 6 มีการตรวจพบ MTBC 366 ราย (ร้อยละ 95) และ ตรวจพบ NTM 21 ราย (ร้อยละ 5) (ตารางที่ 3)

ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรค ร่วมกันระหว่างวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture) จากตัวอย่างทั้งหมด 1,715 ราย พบว่ามีการรายงานผล Growth 396 ราย (ร้อยละ 23) รายงานผล No Growth 1,237 ราย (ร้อยละ 72) สัดส่วน contaminated culture ร้อยละ 5 มีการตรวจพบ MTBC 375 ราย (ร้อยละ 95) และ ตรวจพบ NTM 21 ราย (ร้อยละ 5) (ตารางที่ 4)

การเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหาร แข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture) จากตัวอย่างทั้งหมด 1,715 ราย พบว่ามีการ รายงานผล Growth ในการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว 387 ราย (ร้อยละ 23) สูงกว่าเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อ ด้วยอาหารแข็ง 346 ราย (ร้อยละ 20) จากผลการเพาะเชื้อ Growth ในการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว มีการตรวจพบ MTBC 366 ราย (ร้อยละ 98) สูงกว่าเทียบกับการเพาะ เลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็งตรวจพบ MTBC 329 ราย (ร้อยละ 88) (รูปที่ 1) และสัดส่วน contaminated culture ซึ่งทำให้ไม่ สามารถอ่านผลได้ liquid culture ที่พบร้อยละ 6 ซึ่งน้อยกว่า

solid culture พบร้อยละ 7 (รูปที่ 2) และ Turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหาร เหลว (liquid culture) ค่าเฉลี่ยประมาณ 1-2 สัปดาห์ จะมีความรวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) ที่มีค่าเฉลี่ยประมาณ 4-6 สัปดาห์ (รูปที่ 3)

จากตัวอย่างที่เป็น MTBC ทั้งหมด 375 ราย พบว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) สามารถ ตรวจพบ MTBC ได้จำนวน 329 ราย (ร้อยละ 88) แต่ ไม่สามารถตรวจพบ MTBC ได้ มีจำนวน 46 ราย (ร้อยละ 12) เนื่องจากเพาะเลี้ยงเชื้อไม่ขึ้น ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อ ด้วยอาหารเหลว (liquid culture) พบว่า สามารถตรวจพบ MTBC ได้จำนวน 366 ราย (ร้อยละ 98) แต่ไม่สามารถตรวจพบ MTBC มีจำนวน 9 ราย (ร้อยละ 2) เนื่องจากเพาะเลี้ยงเชื้อ ไม่ขึ้น (รูปที่ 4)

ตารางที่ 2 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อ วัณโรคด้วยอาหารแข็ง (solid culture)

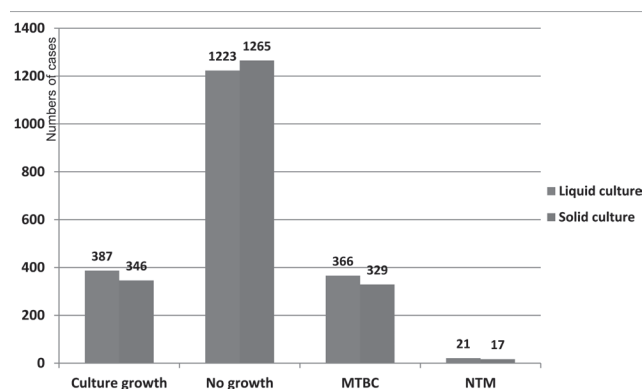
Solid culture			MTBC 329 (95%)
	Growth	346 (20%)	NTM 17 (5%)
	No growth	1,265 (73%)	
	Contaminate	C1=177, C2=85 (7%) % contaminate = (C1 +C2/ จำนวนขวดทั้งหมด) x 100 = (177 +85 /3430) x 100 = 7 %	
	Total	1,715 (100 %)	

ตารางที่ 3 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อ วัณโรคด้วยอาหารเหลว (liquid culture)

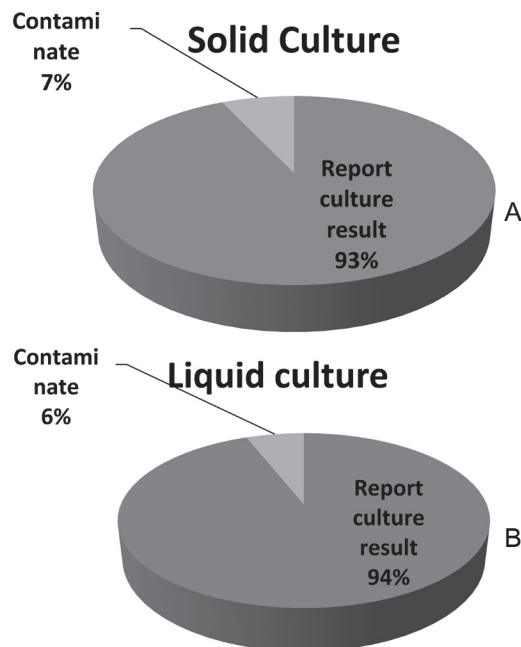
Liquid culture (MGIT 960)			MTBC 366 (95%)
	Growth	387 (23%)	NTM 21 (5%)
	No growth	1,223 (71%)	
	Contaminate	105 (6%) % contaminate = (105/1715) x100 = 6 %	
	Total	1,715 (100 %)	

ตารางที่ 4. ผลการเพาะเลี้ยงวัณโรคร่วมกันระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture)

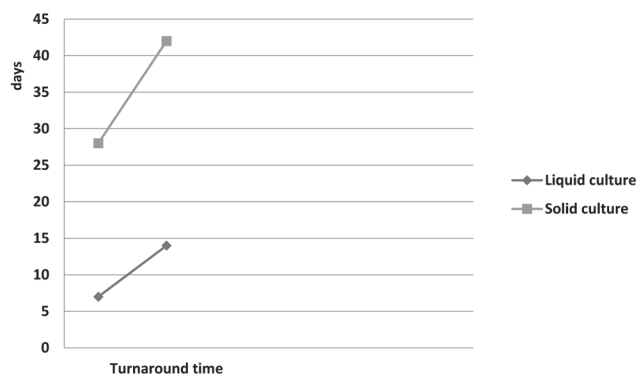
Solid culture and Liquid culture (MGIT)	Growth	396 (23%)	MTBC 375 (95%)
	No growth	1,237 (72%)	NTM 21 (5%)
	Contaminate	82 (5%)	
	Total	1,715 (100%)	



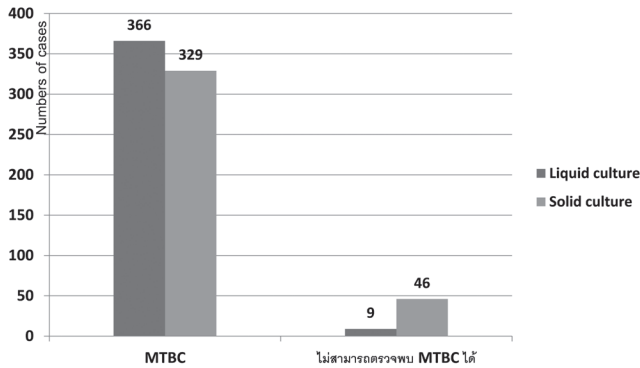
รูปที่ 1. เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture)



รูปที่ 2. เปรียบเทียบสัดส่วน contaminated culture ระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) (A) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture) (B)



รูปที่ 3. เปรียบเทียบ turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture)



รูปที่ 4. เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ตรวจพบ MTBC ระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว (liquid culture)

วิจารณ์

การประเมินคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อวัณโรค พบว่างานเพาะเชื้อที่มีผลสัมฤทธิ์ผ่านเกณฑ์ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพมีดังนี้ สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) หรือ nontuberculous mycobacteria (NTM) (new and relapse cases) พบร้อยละ 16, สัดส่วน culture positive ที่ตรวจพบ MTB (new and relapses cases) พบร้อยละ 15, สัดส่วน AFB-positive ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ (new and relapses cases) liquid พบร้อยละ 95, solid culture พบร้อยละ 87 และ Turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรค สามารถรายงานผลได้ตามเวลาที่กำหนดไว้ ร้อยละ 98 จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อมีเทคนิคการปฏิบัติที่ดี มีความสามารถในการเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญขึ้นได้และสามารถตรวจพบ MTBC หรือ NTM ได้เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อวัณโรค และสามารถรายงานผลได้รวดเร็วตามเวลาที่กำหนด³ ทำให้ผู้ป่วยได้ผลการวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็ว

ส่วนงานเพาะเชื้อที่มีผลสัมฤทธิ์ไม่ผ่านเกณฑ์ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพมีดังนี้ สัดส่วน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ พบร้อยละ 6 ค่าต่ำกว่าเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงาน สัดส่วน contaminated culture ซึ่งทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้ liquid culture พบร้อยละ 6 ต่ำกว่าเกณฑ์

ส่วน solid culture พบร้อยละ 7 สูงกว่าเกณฑ์เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงาน³

ผลการวิเคราะห์สัดส่วน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์³ แสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการมีความสามารถค้นหาผู้ป่วยวัณโรคที่มีเชื้อน้อย (AFB-negative) ได้ยังไม่ดีพอ จึงควรระวังในด้านเทคนิคขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อในตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อน้อยเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อ MTB ลดลง ในระหว่างการทำแล็บเพาะเลี้ยงเชื้อ จนไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญขึ้นได้ เช่นขั้นตอนในการ decontamination ถ้าหากใช้เวลานานเกินไปหรือเติมน้ำยา 4% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) สัดส่วนมากเกินไป การปนด้วยอุณหภูมิสูง เป็นสาเหตุที่จะทำให้เชื้อ MTB ลดลง จนไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อเจริญขึ้นได้⁶⁻⁷ ส่งผลให้สัดส่วน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์

การที่สัดส่วน contaminated culture ของ liquid culture ต่ำกว่าเกณฑ์³ มีข้อควรระวังด้านเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อ ในขั้นตอนการ decontamination ใช้เวลานานเกินไปทำให้มีโคแบคทีเรียบางส่วนถูกทำลาย และขั้นตอนการผสมสัดส่วนน้ำยา OADC enrichment (growth supplement) กับ PANTA antibiotic mixture เพื่อยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ⁶ ถ้าหากการผสมน้ำยาสัดส่วนไม่เหมาะสม มีการปรับลดปริมาณของ OADC enrichment ลง จะทำให้ความเข้มข้นของ PANTA antibiotic เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ไปยับยั้งทำลายเชื้อปนเปื้อนอื่นๆสูงขึ้น และอาจจะส่งผลให้ไปยับยั้งทำลายเชื้อมีโคแบคทีเรียได้ด้วย ส่งผลให้สัดส่วน contaminated liquid culture ลดลงได้ ส่วนผลของสัดส่วน contaminated culture ของ solid culture สูงกว่าเกณฑ์³ เกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย เช่น ด้านเทคนิคการปฏิบัติเพาะเลี้ยงเชื้อ คุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้มาตรฐาน และคุณภาพของตัวอย่างส่งตรวจไม่ดี มีเชื้อปนเปื้อนสูง (กระบวนการเก็บและการนำส่งสิ่งส่งตรวจล่าช้า, ไม่เก็บรักษาตัวอย่างสิ่งส่งตรวจไว้ในตู้เย็น หรือไม่ใช้ระบบ cold chain ในการนำส่งตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วยโดยตรง)⁷⁻⁸ ข้อควรระวังด้านเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อ ขั้นตอนที่ทำให้มีการปนเปื้อนเชื้อสูง มีดังนี้ การ decontamination ใช้เวลาน้อย

เกินไป, การย่อยเมื่อละลายเสมหะด้วยสาร N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC-NaOH) ที่ไม่ดี ตัวอย่างยังมีความหนืดเหนียวข้นมาก จึงไม่สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ดีพอ, การผสมสัดส่วน 4% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) น้อยเกินไปไม่เหมาะสม ทำให้ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ยังมีเชื้อปนเปื้อนสูง, สัดส่วนการเติม Phosphate buffer 0.067 mol/l, pH 6.8 ไม่เหมาะสม และการปั่นล้างไม่หมด⁶⁻⁷ เป็นต้น

การเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (liquid culture) จะเห็นได้ว่าการรายงานผล Growth ในการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลวร้อยละ 23 สูงกว่าเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (ร้อยละ 20) การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลวมีการตรวจพบ MTBC ร้อยละ 98 สูงกว่าเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง มีการตรวจพบ MTBC ร้อยละ 88 และ turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว ค่าเฉลี่ยประมาณ 1-2 สัปดาห์ จะมีความรวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง (4-6 สัปดาห์) จากการศึกษาพบว่าการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลว มีข้อดีหลายประการ สามารถเพิ่มผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญขึ้นได้ (growth) มากกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง ร้อยละ 3 สามารถตรวจพบ MTBC ได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง ร้อยละ 10 และค่าเฉลี่ย Turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรคจะมีความรวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง^{2,11} และการเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกันทั้ง 2 วิธี สามารถตรวจพบ MTBC ได้ร้อยละ 100 จะเพิ่มโอกาสและความถูกต้องในการวินิจฉัยและลดระยะเวลาในการรอคอยผล ซึ่งมีประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคและการวางแผนการรักษาผู้ป่วยต่อไป

ผลสัดส่วน contaminated culture ของ liquid culture ร้อยละ 6 พบต่ำกว่า solid culture (ร้อยละ 7) ซึ่งตามหลักเกณฑ์มาตรฐานแล้ว สัดส่วน contaminated culture ของ liquid culture (ค่าอ้างอิงร้อยละ 8 - 10) ควรจะสูงกว่า solid culture (ค่าอ้างอิงร้อยละ 3-5)³ ดังนั้นควรจะระวังด้านเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว เนื่องจากตัวอย่างจะเพาะเลี้ยงในหลอด MGIT ซึ่งมีอาหาร Middlebrook 7H9

broth base ผสมกับ growth supplement และ PANTA antibiotic mixture⁶⁻⁷ ซึ่งถ้าสัดส่วนของ PANTA antibiotic mixture มีความเข้มข้นสูง จะทำให้มีผลไปยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ สูงขึ้น รวมถึงทำลายเชื้อ mycobacteria ได้ด้วย ทำให้สัดส่วน contaminated culture ของ liquid culture ต่ำกว่า solid culture ได้

สรุป

การศึกษครั้งนี้ สรุปได้ว่าการประเมินคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิคและเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อวัณโรค มีประโยชน์เพื่อให้มั่นใจว่าห้องปฏิบัติการมีความสามารถและศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคทางห้องปฏิบัติการเป็นไปตามมาตรฐาน การเปรียบเทียบผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรคระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid culture) และการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (liquid culture) พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเหลวมีการตรวจพบ MTBC สูงกว่าเทียบกับการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง และค่าเฉลี่ย Turnaround time ของตรวจหาเชื้อวัณโรคจะมีความรวดเร็วกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็ง แต่การเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกันทั้ง 2 วิธี จะสามารถตรวจพบ MTBC ได้สูงที่สุด และยังสามารถลดสัดส่วน contaminated culture ที่ทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้ จากผลการศึกษานี้เป็นประโยชน์ในการพัฒนาและปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องของงานเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคในห้องปฏิบัติการให้มีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น เพิ่มความถูกต้องและรวดเร็วในการรายงานผลช่วยในการวินิจฉัยโรค วางแผนรักษาผู้ป่วยได้รวดเร็วขึ้น และการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคอย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ แพทย์หญิงผิลิน กมลวัฒน์ ผู้อำนวยการกองวัณโรค และหัวหน้ากลุ่มปฏิบัติการอ้างอิงชันสูตรวัณโรคแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนจนสำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Patrick PPJ, Carl MM, Andrew JN, *et al.* A comparison of liquid and solid culture for determining relapse and durable cure in phase III TB trials for new regimens. BMC Medicine 2017; 15:207.
2. Jahan H, Hasan K, Khanam RA, *et al.* Comparative study of solid culture and liquid culture for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. J Shaheed Suhrawardy Med Coll 2019; 11:28-31.
3. มยุรา กุสุมภ์, ศรีประพา เนตรนิยม, เพชรวรรณ พึ่งรัมย์ และคณะ. แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค (Management and practice guideline for tuberculosis laboratory). กรุงเทพฯ: กองวัณโรค กรมควบคุมโรค; 2562.
4. พงศ์เทพ ชีระวิทย์. วัณโรคปอด (Pulmonary tuberculosis). หน่วยโรคระบบทางเดินหายใจและเวชบำบัดวิกฤต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี. <https://www.rama.mahidol.ac.th/med>
5. กิตติมา บำรุงพัฒนาศิริ กลุ่มงานอายุรศาสตร์ปอด สถาบันโรคทรวงอก. Laboratory for TB diagnosis. วารสารกรมการแพทย์ 2561; 43:15-18.
6. ชญาดา สิทธิเดช ชารินเจริญ. การตรวจวินิจฉัยวัณโรคจากความรู้สู่นวัตกรรมเพื่อชุมชน: Tuberculosis diagnosis: From knowledge to innovation in public health. J Assoc Med Sci 2017; 50:1-21.
7. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union. European Centre for Disease Prevention and Control. August 2018.
8. เปี่ยมลาภ แสงสายัณห์, เจริญ ชูโชติถาวร. แนวทางการวินิจฉัยและดูแลผู้ป่วยวัณโรคในประเทศไทย (Clinical Practice Guideline of Tuberculosis Treatment in Thailand). กรุงเทพฯ: กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2561.
9. นิธิพัฒน์ เจียรกุล. เรียนรู้วัณโรค ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล. https://www.si.mahidol.ac.th/siriraj_online/thai_version/Health.
10. Framework of indicators and targets for laboratory strengthening under the End TB Strategy. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data 2016.
11. Chihota V N, Grant AD, Fielding K, *et al.* Liquid vs. solid culture for tuberculosis: performance and cost in a resource-constrained setting. Int J Tuberc Lung Dis 2010; 14:1024-31.

Abstract: Nasrisuk T, Kamdee C, Rattanaichit L. Comparison and Evaluation of Solid Culture and Liquid Culture for the Diagnosis of Tuberculosis. Thai J Tuberc Chest Dis Crit Care 2022; 41: 101-109.

National Tuberculosis Reference Laboratory, Division of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health

Tuberculosis (TB) is seriously infectious disease and effect to public health problem in Thailand and worldwide. The gold standard methods for TB diagnosis are mycobacterial culture and identification. The method has high sensitivity and specificity, and can also indicate bacterial viability. This study aimed to evaluate the quality of the technical laboratory system and the achievement of TB culture. Qualitative indicators ratio for mycobacterial culture showed that the ratio of positive culture detected mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) or nontuberculous mycobacteria (NTM) and only MTBC were 16% and 15% respectively. The ratio of AFB-positive MTBC detected by liquid culture (MGIT 960) was 95% and solid culture was 87%. Turnaround time of tuberculosis detection by culture was 98%. The comparison of TB culture and identification between solid culture and liquid culture among 1,715 specimens revealed that the percentages of mycobacterial growth by liquid culture are 23% (388/1,715). It is higher than solid culture (20%, 349/1,715). For MTBC detection, the percentage of MTBC detected by liquid culture and solid culture were 98% and 88% respectively. Interestingly, the liquid culture showed lesser contamination (6% versus 7%) for solid culture. In conclusion, liquid culture yields more positive result than solid culture and detects mycobacterium earlier.