

ปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ที่ส่งผลต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960

Pre-analytical factors affecting detection time of *Mycobacterium tuberculosis* culture using BACTEC MGIT 960

อนุกุล บุญคง วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), น.บ., ทพ.ม.

Anugoon Bunkhong B.S. (Medical Technology),
LL.B., M.MT.

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3
จังหวัดนครสวรรค์ กรมควบคุมโรค

Office of Disease Prevention and Control Region 3,
Nakhon Sawan, Department of Disease Control

Received: April 01, 2019

Revised: June 18, 2019

Accepted: July 01, 2019

บทคัดย่อ

วัณโรคเป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* เป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญทั่วโลก ปัจจุบันการเพาะเชื้อยังคงเป็นวิธีมาตรฐานการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยควรคำนึงถึงขั้นตอนก่อนการตรวจวิเคราะห์ซึ่งมีปัจจัยที่มีผลต่อความถูกต้อง และแม่นยำของผลการตรวจ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อโดยเครื่อง BACTEC MGIT 960 เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลังจากตัวอย่างเสมหะที่ส่งตรวจเพาะเชื้อ ในปีงบประมาณ 2560 ณ ห้องปฏิบัติการวัณโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ จากข้อมูลตัวอย่างเสมหะ 177 ตัวอย่าง พบว่าปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ด้านปริมาตรมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.3 ml พบตัวอย่างเสมหะที่มีปริมาตรน้อยกว่า 5 ml ร้อยละ 65.0 ตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่มีคุณภาพพบร้อยละ 63.3 ผลการตรวจ Acid-fast bacilli (AFB) มีผลบวกและลบร้อยละ 91.0 และ 9.0 ตามลำดับ ในด้านระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ เฉลี่ยเท่ากับ 5.0 วัน ตัวอย่างส่วนใหญ่ร้อยละ 69.5 มีอายุมากกว่า 3 วัน การขนส่งตัวอย่างส่วนใหญ่ใช้รถโรงพยาบาลร้อยละ 89.3 สำหรับการแช่เย็นตัวอย่างระหว่างการขนส่งพบว่าการแช่เย็นและไม่แช่เย็นร้อยละ 55.9 และ 44.1 ตามลำดับ ผลเปรียบเทียบเพื่อประเมินความสัมพันธ์ของปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคโดยการเพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 พบว่ามีเพียงปัจจัยด้านผล AFB เท่านั้นที่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค (P -value < 0.001) ส่วนปัจจัยอื่นที่เหลือไม่พบความสัมพันธ์แต่อย่างใด โดยสรุปปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่มีผลต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อ ได้แก่ ปริมาตรเสมหะไม่น้อยกว่า 2 ml ตัวอย่างเสมหะที่มีอายุไม่เกิน 7 วัน การส่งโดยรถโรงพยาบาลและทางไปรษณีย์ และการแช่เย็นตัวอย่าง ทั้งนี้การกำหนดแนวทางส่งตรวจตัวอย่างเสมหะเพาะเชื้อวัณโรคยังคงจำเป็นต้องควบคุมปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ซึ่งมีความสำคัญต่อความเหมาะสมของตัวอย่างที่จะนำมาทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามควรมีความเหมาะสมกับบริบทของแต่ละพื้นที่ด้วยเช่นกัน

Abstract

Tuberculosis (TB) is a contagious bacterial infection caused by *Mycobacterium tuberculosis*, which is a global public health problem. Cultivation is still a gold standard method for TB diagnosis. This method should be considered in pre-analytical phase that affects on the result accuracy and precision. The aim of the current study was to evaluate pre-analytical factors whether affect detection time of *M. tuberculosis* culture using BACTEC MGIT 960. The data of the mycobacterial cultures from sputum samples were retrospectively reviewed from the records of TB laboratory of the Office of Disease Prevention and Control 3rd, Nakhon Sawan for the fiscal year 2017. Of 177 sputum sample data, pre-analytical factors showed that the average of volume was 4.3 ml and 65.0% of all samples had sputum volumes less than 5 ml. The low-quality samples was 63.3%. The positive and negative AFB results were 91.0% and 9.0%, respectively. The average time of the intervals that the samples were from collection to cultivation was 5.0 days and the samples were 69.5% for more than 3 days of the interval time. 89.3% of the samples were transported by hospital vehicles. For the sample storage during transportation, the refrigerated samples were 55.9% while 44.1% of the samples had no refrigeration. Comparison between pre-analytical factors and the detection time of *M. tuberculosis* culture by BACTEC MGIT 960 showed that only AFB results were related to the detection time with statistical significance (P -value < 0.001) whereas other factors had no relation. In conclusion, the pre-analytical factors that did not have any effect on the detection time of TB culture were at least 2 ml of the sputum volume, the sputum storage up to 7 days, the sputum transportation by the hospital vehicles and postal services and refrigeration during transportation. The guideline to develop the sputum culture for *M. tuberculosis* should still control pre-analytical factors that affect the sample quality before delivering to culture in a laboratory, however the guideline should be appropriate for each area condition.

คำสำคัญ

ปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์

เชื้อวัณโรค

เครื่อง BACTEC MGIT 960

Keywords

Pre-analytical factor

Mycobacterium tuberculosis

BACTEC MGIT 960 instrument

บทนำ

ในปี พ.ศ. 2560 องค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ได้ประมาณการว่ามีอุบัติการณ์ผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ทั่วโลกประมาณ 10 ล้านราย โดยผู้เสียชีวิตจากวัณโรคถึง 1.3 ล้านราย⁽¹⁾ สำหรับประเทศไทยนั้นองค์การอนามัยโลก ได้จัดให้เป็น 1 ใน 14 ประเทศที่พบปัญหาของวัณโรค วัณโรคดื้อยาหลายขนาน และวัณโรคที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวีสูง มีอุบัติการณ์ผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ 156 รายต่อแสนประชากร มีผู้ป่วยวัณโรคดื้อยา Rifampicin และ MDR-TB อยู่ 2,700 ราย ซึ่งพบถึงร้อยละ 24 ในกลุ่มผู้ป่วยที่เคยรักษาวัณโรคมาก่อน (Previously treated case)⁽¹⁾

ยุทธศาสตร์ยุติวัณโรค (End TB strategy) ขององค์การอนามัยโลกมีเป้าหมายแรกคือ ลดอุบัติการณ์ วัณโรคให้ต่ำกว่า 10 รายต่อแสนประชากร ภายในปี พ.ศ. 2578 ประเด็นสำคัญ คือ เร่งรัดค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคและผู้ป่วยวัณโรคให้ครอบคลุมเพื่อลดการแพร่กระจายเชื้อ อีกทั้งการรักษาผู้ป่วยได้เร็ว ในระยะแรกของโรคจะช่วยลดความเสี่ยงในการเสียชีวิตของผู้ป่วยลงได้ ซึ่งนอกจากการใช้ภาพถ่ายรังสีทรวงอก (Chest X-ray) ยังมีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีทางอณูชีววิทยา (Molecular biology) มาช่วยดังเช่น เครื่อง GeneXpert แม้ว่าจะมีความรวดเร็ว แต่วิธีนี้ยังมีขีดจำกัด (Limit of detection: LOD) ในการตรวจ โดยวิธีมาตรฐาน (Gold standard) ที่ยังคงใช้อยู่ ได้แก่ การเพาะเชื้อ (Culture) ซึ่งตรวจพบเชื้อวัณโรคได้ที่ระดับ 10-100 CFU/ml⁽²⁾ จึงยังคงมีความสำคัญต่อการใช้ตรวจวิเคราะห์วัณโรค โดยเฉพาะกรณีที่ผลภาพถ่ายรังสีทรวงอกผิดปกติ

เข้าได้กับวัณโรค แต่ผลตรวจ GeneXpert ไม่พบเชื้อวัณโรค หรือการตรวจไม่สามารถแปลผลได้ (Invalid) นอกจากนี้วิธีการเพาะเชื้อยังสามารถบ่งบอกการมีชีวิตของเชื้อ ซึ่งใช้ติดตามการรักษาได้

ในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเสมหะ คุณภาพเสมหะ การเก็บรักษาตัวอย่างก่อนนำส่ง และขั้นตอนการนำส่งตัวอย่างเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการวัณโรค นั้น เป็นกระบวนการก่อนการตรวจวิเคราะห์ (Pre-analytical phase) ซึ่งในหลักการตรวจทางห้องปฏิบัติการถือว่ามีความสำคัญยิ่ง เพราะกระบวนการนี้เป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องดำเนินการให้ได้ตัวอย่างที่เหมาะสม สำหรับกระบวนการตรวจวิเคราะห์ (Analytical phase) เพราะจะส่งผลโดยตรงต่อความถูกต้องแม่นยำของผลการตรวจที่ได้ สำหรับงานวิจัยที่มีการศึกษาปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์กับการตรวจพบเชื้อวัณโรคนั้นมีเพียงส่วนน้อย แต่สำหรับปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ที่ส่งผลต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคนั้นกลับไม่มีการศึกษาเลย อีกทั้งการวิจัยที่ผ่านมาไม่ครอบคลุมปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์หลักทั้งหมด งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นศึกษาปัจจัยแบบแยกส่วน เช่น ปริมาตร และคุณภาพเสมหะ^(3,4,5) นอกจากนี้ปัจจัยบางด้านยังไม่พบการศึกษา เช่น วิธีการขนส่ง และการแช่เย็นระหว่างการขนส่ง ในการพัฒนาระบบคุณภาพทางห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องกำหนดแนวทางการส่งต่อตัวอย่างของผู้รับบริการได้อย่างเหมาะสม และมีความยืดหยุ่นตรงตามบริบทของแต่ละโรงพยาบาลในพื้นที่ ช่วยแก้ปัญหาการส่งตัวอย่างตรวจเพาะเชื้อวัณโรคได้ โดยไม่กระทบต่อคุณภาพของผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะส่งผลดีต่อการดำเนินงานตามยุทธศาสตร์ในการป้องกันควบคุมวัณโรคให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

วัสดุและวิธีการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง ซึ่งผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค (FWA 00013622) โดยใช้ข้อมูล ตัวอย่างเสมหะไม่ซ้ำรายที่ส่งตรวจเพาะเชื้อวัณโรค แล้วให้ผลบวก (Positive) ในอาหารเหลว MGIT ที่เพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson ประเทศสหรัฐอเมริกา) เป็นวิธีเพาะเชื้อ ที่ได้รับรองจากองค์การอนามัยโลก โดยเครื่อง BACTEC MGIT 960 เป็นเครื่องเพาะเชื้อวัณโรค อัตโนมัต มีหลักการ คือ ใช้ออกซิเจนติดกับสารเรืองแสง (Oxygen-quenched fluorochrome) เคลือบไว้ ที่ก้นหลอดอาหารเหลว ออกซิเจนจะยับยั้งการเรืองแสงของสารเรืองแสง เมื่อมีเชื้อเจริญออกซิเจนถูกนำไปใช้ ทำให้สารเรืองแสงเกิดเรืองแสงขึ้นซึ่งเครื่องจะรายงานผลเป็นบวก ทั้งนี้ข้อมูลในการวิจัยได้มาจากแบบฟอร์มนำส่งตัวอย่างตรวจทางห้องปฏิบัติการ วัณโรค และทะเบียนข้อมูลผลการเพาะเชื้อวัณโรค ของห้องปฏิบัติการวัณโรค กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ในปีงบประมาณ 2560 จำนวนขนาดตัวอย่างโดยใช้สูตรของ Taro Yamane⁽⁶⁾ ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 177 ตัวอย่าง ซึ่งทำการสุ่มอย่างเป็นระบบ (Systematic random sampling) จากตัวอย่างเพาะเชื้อวัณโรคที่ให้ผลบวก ด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 ทั้งหมด 317 ตัวอย่าง

1. การเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลจากแบบฟอร์มนำส่งตัวอย่างตรวจทางห้องปฏิบัติการวัณโรค ดำเนินการเก็บข้อมูลปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ 4 ด้าน ได้แก่

1) ปริมาตรตัวอย่างเสมหะ โดยทำการบันทึกปริมาตรเสมหะในหน่วยมิลลิลิตร (ml)

2) ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ โดยคำนวณจากวันที่เก็บตัวอย่างจนถึงวันที่ทำการเพาะเชื้อ ใช้หน่วยเป็น “วัน”

3) การขนส่งตัวอย่าง ทำการบันทึกวิธีการขนส่งตัวอย่างซึ่งมี 2 แบบ ได้แก่ขนส่งโดยตรงของโรงพยาบาล และการส่งทางไปรษณีย์

4) การแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง ทำการบันทึกว่าตัวอย่างที่นำมาศึกษาได้แช่เย็นระหว่างขนส่งจากหน่วยส่งตรวจมาที่ห้องปฏิบัติการวัณโรคหรือไม่ หากมีการแช่เย็นให้บันทึกว่า “แช่เย็น” ถ้าไม่มีการแช่เย็นให้บันทึกว่า “ไม่ได้แช่เย็น”

ข้อมูลจากทะเบียนข้อมูลผลการเพาะเชื้อวัณโรค ดำเนินการเก็บข้อมูลปัจจัยก่อนการวิเคราะห์ 2 ด้าน ได้แก่

1) คุณภาพตัวอย่างเสมหะ บันทึกผลการตรวจคุณภาพเสมหะซึ่งได้จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ใช้เลนส์ใกล้วัตถุ Low power objective lens (LPF) หรือกำลังขยาย 10X ตรวจคุณภาพเสมหะว่าดีหรือไม่ดี โดยใช้เกณฑ์ของ Van Scoy ที่ White blood cell (WBC) มากกว่า 25 cell/LPF และเกณฑ์ของ Geckler ที่ Squamous epithelial cell (SEC) น้อยกว่า 25 cell/LPF บ่งบอกว่าเสมหะมีคุณภาพดี มีความเหมาะสมตามการศึกษาของ Umesh และคณะ⁽⁷⁾ ซึ่งจะช่วยเพิ่มความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ AFB ได้สูงขึ้น

2) ผล AFB ของตัวอย่างเสมหะ
บันทึกผลการตรวจ AFB จากการทำสเมียร์เสมหะ
โดยตรง แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งใช้เกณฑ์
รายงานผลการตรวจตามเกณฑ์ของ WHO/IUATLD
grading scale^(8,9)

สำหรับข้อมูลระยะเวลาการตรวจพบเชื้อ
วัณโรคจากการเพาะเชื้อในอาหารเหลว MGIT โดย
เครื่อง BACTEC MGIT 960 นั้นเป็นช่วงระยะเวลา
ที่นับตั้งแต่วันที่เพาะเชื้อด้วยอาหารเหลว MGIT และ
นำเข้าเครื่อง BACTEC MGIT 960 จนถึงวันที่เครื่อง
รายงานผลบวกจากการตรวจพบเชื้อวัณโรค โดย
ทำการบันทึกข้อมูลจากทะเบียนข้อมูลผลการเพาะ
เชื้อวัณโรคเช่นเดียวกัน และใช้หน่วยเป็น “วัน”

2. การเปรียบเทียบปัจจัยก่อนการตรวจ วิเคราะห์กับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค

ทำการจำแนกสัดส่วนผลของปัจจัยก่อนการ
ตรวจวิเคราะห์แต่ละด้าน รวมทั้งจำแนกระยะเวลาการ
ตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อในอาหารเหลว
MGIT ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกันทาง
สถิติดังนี้

1) ปริมาตรตัวอย่างเสมหะ จำแนก
ตัวอย่างเสมหะออกเป็น 2 กลุ่ม ตามปริมาตร ได้แก่
ตัวอย่างเสมหะที่มีปริมาตร < 5 ml และตัวอย่าง
เสมหะที่มีปริมาตร ≤ 5 ml

2) คุณภาพตัวอย่างเสมหะ กำหนด
ให้ตัวอย่างเสมหะที่มี WBC > 25 cell/LPF และ SEC
< 25 cell/LPF เป็นตัวอย่างที่มีคุณภาพ “เหมาะสม”
และตัวอย่างเสมหะที่มี WBC ≤ 25 cell/LPF หรือ
SEC ≤ 25 cell/LPF เป็นตัวอย่างที่มีคุณภาพ
“ไม่เหมาะสม”

3) ผล AFB ของตัวอย่างเสมหะ ใช้
การจำแนกตามระดับการรายงานผลของ WHO/
IUATLD เป็น 4 ระดับ ได้แก่ Negative, Scanty,
1+, 2+ และ 3+

4) ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึง
เพาะเชื้อ จำแนกตัวอย่างเสมหะออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม
ระยะเวลาเก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ ได้แก่ ตัวอย่าง
เสมหะที่มีระยะเวลาเก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ ≤ 3
วัน และตัวอย่างเสมหะที่มีระยะเวลาเก็บตัวอย่าง
จนถึงเพาะเชื้อ 4-7 วัน โดยแบ่งตามระยะเวลาที่
กำหนดในแนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย
พ.ศ. 2561 ซึ่งระบุไว้ให้ส่งตัวอย่างเสมหะไปยังห้อง
ปฏิบัติการไม่เกิน 3 วัน⁽¹⁰⁾

5) การขนส่งตัวอย่าง จำแนก
ตัวอย่างเสมหะออกเป็น 2 กลุ่ม ตามวิธีการขนส่ง
ได้แก่ ขนส่งด้วย “รถพยาบาล” และ “ไปรษณีย์”

6) การแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง
จำแนกกลุ่มตัวอย่างเสมหะออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่
“แช่เย็น” และ “ไม่ได้แช่เย็น”

สำหรับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค
จากการเพาะเชื้อในอาหารเหลว MGIT นั้น จำแนก
ออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ตัวอย่างเสมหะที่ตรวจพบเชื้อ
วัณโรค ≤ 14 วัน และตัวอย่างเสมหะที่ตรวจพบเชื้อ
วัณโรค > 14 วัน ซึ่งแบ่งตามการศึกษาของ Ogwang
และคณะ⁽¹¹⁾ ซึ่งพบว่าตัวอย่างเสมหะที่ส่งตรวจ
วินิจฉัยวัณโรคโดยการเพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC
MGIT 960 ให้ผลบวกร้อยละ 90.3 ของตัวอย่างพบ
เชื้อวัณโรคทั้งหมด ภายในระยะเวลา ≤ 14 วัน

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษา

หลังจากทำการเก็บรวบรวม จำแนก และตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเป็นที่เรียบร้อยแล้วจะนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ดังนี้

1) สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่ามัธยฐาน (Median) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) ใช้บรรยายลักษณะทั่วไปของข้อมูล

2) สถิติเชิงอนุมาน ได้แก่ Chi square test และ Fisher's exact test ใช้ในการทดสอบสมมติฐานทางสถิติเปรียบเทียบค่าสัดส่วนข้อมูลของปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ในแต่ละด้าน ได้แก่ ปริมาตรตัวอย่างเสมหะ, คุณภาพตัวอย่างเสมหะ, ผล AFB ของตัวอย่างเสมหะ, ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ, การขนส่งตัวอย่าง และการแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง เปรียบเทียบกับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อในอาหารเหลว MGIT

1. ลักษณะทั่วไปของปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์

จากกลุ่มตัวอย่างเสมหะที่ส่งตรวจเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการวัณโรค 177 ตัวอย่าง พบว่าข้อมูลลักษณะทั่วไปในด้านปริมาตรนั้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.3 ml ตัวอย่างส่วนใหญ่ที่ส่งตรวจมีปริมาตรเสมหะน้อยกว่า 5 ml (ร้อยละ 65.0) โดยปริมาตรน้อยที่สุดอยู่ที่ 2 ml สำหรับด้านคุณภาพพบตัวอย่างมีคุณภาพไม่เหมาะสมถึง 112 ตัวอย่าง (ร้อยละ 63.3) ผลการตรวจ AFB ส่วนใหญ่ให้ผลบวก 161 ตัวอย่าง (ร้อยละ 91.0) โดยพบตัวอย่างให้ผล 3+ มากที่สุดร้อยละ 45.2 ในด้านระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.0 วัน ส่วนใหญ่มากกว่า 3 วัน โดยพบ 123 ตัวอย่าง (ร้อยละ 69.5) โดยระยะเวลาสูงสุดอยู่ที่ 7 วัน สำหรับการขนส่งตัวอย่างพบว่าการส่งด้วยรถโรงพยาบาลมากถึง 158 ตัวอย่าง (ร้อยละ 89.3) ส่วนการแช่เย็นตัวอย่างพบตัวอย่างที่แช่เย็น และไม่แช่เย็น จำนวน 99 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.9) และ 78 ตัวอย่าง (ร้อยละ 44.1) ตามลำดับรายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะทั่วไปของปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ของตัวอย่างเสมหะ (N = 177)

ปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์	จำนวน	ร้อยละ
1. ปริมาตร		
< 5 ml	115	65.0
≥ 5 ml	62	35.0
Mean (Standard deviation)	4.3 (4.2)	
Median (Minimum – Maximum)	3.0 (2.0 – 40.0)	
2. คุณภาพตัวอย่าง		
เหมาะสม	65	36.7
ไม่เหมาะสม	112	63.3
3. ผล AFB		
Negative	16	9.0
Scanty	18	10.2
1+	27	15.3
2+	36	20.3
3+	80	45.2
4. ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ		
≤ 3 วัน	54	30.5
4–7 วัน	123	69.5
Mean (Standard deviation)	5.0 (2.1)	
Median (Minimum – Maximum)	5.0 (0 – 7)	
5. การขนส่งตัวอย่าง		
รถพยาบาล	158	89.3
ไปรษณีย์	19	10.7
6. การแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง		
แช่เย็น	99	55.9
ไม่ได้แช่เย็น	78	44.1

2. ระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค หลังทำการเพาะเชื้อ

ผลการเพาะเชื้อตัวอย่างเสมหะด้วยเครื่อง
เพาะเชื้ออัตโนมัติ BACTEC MGIT 960 พบว่ามีค่า
เฉลี่ยของระยะเวลาตรวจพบเชื้อวัณโรคหลังทำการ

เพาะเชื้อเท่ากับ 10.3 วัน โดยมีค่ามัธยฐานเท่ากับ
9.0 วัน ระยะเวลาพบเชื้อเร็วสุดอยู่ที่ 2 วัน และช้าสุด
อยู่ที่ 33 วัน ส่วนใหญ่การตรวจพบเชื้อในระยะเวลา
น้อยกว่าหรือเท่ากับ 14 วัน จำนวน 144 ตัวอย่าง
(ร้อยละ 81.4) รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 (N = 177)

ระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค	จำนวน	ร้อยละ
≤ 14 วัน	144	81.4
> 14 วัน	33	18.6
Mean (Standard deviation)	10.3 (5.9)	
Median (Minimum – Maximum)	9.0 (2 – 33)	

3. การเปรียบเทียบปัจจัยก่อนการตรวจ วิเคราะห์กับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจาก การเพาะเชื้อโดยเครื่อง BACTEC MGIT 960

ผลการเปรียบเทียบปัจจัยก่อนการตรวจ
วิเคราะห์กับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค พบว่า
มีเพียงปัจจัยเดียวได้แก่ ผลของระดับการตรวจพบ
เชื้อ AFB ที่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการตรวจพบ
เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value < 0.001)
โดยหากวิเคราะห์ผล AFB เฉพาะผลลบ (Negative)

และผลบวก (Positive) โดยไม่แยกระดับการตรวจ
พบเชื้อของผลบวกเปรียบเทียบกับระยะเวลาการ
ตรวจพบเชื้อก็ยังคงพบความสัมพันธ์ทางสถิติเช่น
เดียวกัน (P -value < 0.001) ส่วนปัจจัยที่เหลืออีก
5 ด้าน ได้แก่ ปริมาตรตัวอย่างเสมหะ, คุณภาพ
ตัวอย่างเสมหะ, ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะ
เชื้อ, การขนส่งตัวอย่าง และการแช่เย็นตัวอย่าง
ระหว่างขนส่ง ไม่พบความสัมพันธ์กับระยะเวลาการ
ตรวจพบเชื้อวัณโรคแต่อย่างใด รายละเอียดดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์กับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากการเพาะเชื้อโดยเครื่อง BACTEC MGIT 960 (N = 177)

ปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์ ของตัวอย่างเสมหะ	จำนวน ทั้งหมด	จำนวนตามระยะเวลาพบเชื้อ (ร้อยละ)		P-value
		≤ 14 วัน	> 14 วัน	
1. ปริมาตร				
< 5 ml	115	93 (80.9)	22 (19.1)	0.821
≤ 5 ml	62	51 (82.3)	11 (17.7)	
2. คุณภาพ				
เหมาะสม	65	55 (84.6)	10 (15.4)	0.396
ไม่เหมาะสม	112	89 (79.5)	23 (20.5)	
3. ผล AFB				
Negative	16	7 (43.8)	9 (56.2)	<0.001
Scanty	18	13 (72.2)	5 (27.8)	
1+	27	14 (51.9)	13 (48.1)	
2+	36	34 (94.4)	2 (5.6)	
3+	80	76 (95.0)	4 (5.0)	
Negative	16	7 (43.8)	9 (56.2)	<0.001
Positive	161	137 (85.1)	24 (14.9)	
4. ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ				
≤ 3 วัน	54	46 (85.2)	8 (14.8)	0.386
> 3 วัน	123	98 (79.7)	25 (20.3)	
5. การขนส่งตัวอย่าง				
รถโรงพยาบาล	158	129 (81.6)	29 (18.4)	0.758
ไปรษณีย์	19	15 (78.9)	4 (21.1)	
6. การแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง				
แช่เย็น	99	79 (79.8)	20 (20.2)	0.549
ไม่ได้แช่เย็น	78	65 (83.3)	13 (16.7)	

วิจารณ์และสรุปผล

ลักษณะทั่วไปของปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์จากตัวอย่างเสมหะทั้งสิ้น 177 ตัวอย่างนั้นพบว่าปริมาตรตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่น้อยกว่า 5 ml โดยพบตัวอย่างที่มีปริมาณมากกว่าหรือเท่ากับ 5 ml ร้อยละ 35.0 แต่อย่างไรก็ตามผลที่ได้ยังคงสูงกว่าการศึกษาของ Yoon และคณะ⁽¹²⁾ ที่ศึกษาตัวอย่างเสมหะผู้ป่วย 492 ราย พบว่ามีตัวอย่างที่มีปริมาณมากกว่าหรือเท่ากับ 5 ml เพียงร้อยละ 3.5 บ่งบอกว่าแม้ผู้ป่วยจะมีผลการตรวจภาพถ่ายรังสีทรวงอกและอาการทางคลินิกที่สำคัญคือ ไอเรื้อรังเกิน 2 สัปดาห์ เข้าได้กับวัณโรค แต่ในการเก็บเสมหะให้ได้ปริมาณเหมาะสมยังคงเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก และอีกประการคือการละลายโดยเจ้าหน้าที่ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องให้คำแนะนำการเก็บตัวอย่างกับผู้ป่วย เพราะนอกจากวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้เสมหะในปริมาณที่เหมาะสมแล้ว อีกหนึ่งข้อสำคัญคือคุณภาพที่จะได้ตามมา โดยในการศึกษานี้พบว่าตัวอย่างที่มีคุณภาพไม่เหมาะสมถึงร้อยละ 63.3 ตามเกณฑ์การพิจารณาโดยใช้จำนวน WBC ร่วมกับ SEC แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเกณฑ์ประเมินคุณภาพเสมหะที่ใช้ในงานเพาะเชื้อแบคทีเรียทั่วไปไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้กับการเพาะเชื้อวัณโรค⁽⁵⁾ และไม่คุ้มค่าในการประเมินคุณภาพเสมหะสำหรับเพาะเชื้อวัณโรค⁽¹³⁾ สำหรับผล AFB ของตัวอย่างเสมหะ พบว่าส่วนใหญ่มีผล AFB เป็นลบถึงร้อยละ 91.0 ในขณะที่พบตัวอย่างผล AFB เป็นลบเพียงร้อยละ 9.0 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ให้ผล AFB เป็นลบมีโอกาสให้ผลบวกจากการเพาะเชื้อน้อยเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ให้ผล AFB เป็นบวก สอดคล้องกับการศึกษาของ Pang และคณะ⁽¹⁴⁾ ที่พบว่าอัตราการให้ผลบวกจากการเพาะเชื้อในตัวอย่าง AFB ลบ เท่ากับร้อยละ 11.9 สำหรับ

ระยะเวลาการเก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อซึ่งส่วนใหญ่ร้อยละ 69.5 เก็บไว้นานมากกว่า 3 วัน บ่งบอกถึงความพร้อมของโรงพยาบาลผู้รับบริการส่งตรวจเสมหะที่เป็นปัญหาเกี่ยวเนื่องโดยตรงกับการขนส่งตัวอย่าง ทั้งนี้หากทำการขนส่งโดยตรงโรงพยาบาลซึ่งในการศึกษานี้พบมากที่สุดถึงร้อยละ 89.3 จำเป็นต้องมีขั้นตอนการขออนุญาตใช้รถ โดยต้องใช้เวลาและอาจจะต้องรอหากไม่มีรถว่างทำให้ไม่สามารถจัดส่งได้ทันที หรือหากเป็นการส่งตัวอย่างตรวจทางไปรษณีย์จะต้องมีขั้นตอนการเตรียมบรรจุตัวอย่างใส่ภาชนะและหีบห่อที่แน่นหนา และการขนส่งทางไปรษณีย์นั้นแม้จะเป็นแบบ EMS ก็ต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 2 วัน จึงจะส่งถึงห้องปฏิบัติการวัณโรค ทำให้ระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างจนถึงดำเนินการเพาะเชื้อขยายออกไปมากกว่า 3 วัน สำหรับการแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง พบว่ามีการแช่เย็นร้อยละ 55.9 แสดงว่าผู้ส่งตรวจส่วนหนึ่งมีความตระหนักในการรักษาสภาพตัวอย่างให้เหมาะสมกับการตรวจวิเคราะห์ สำหรับตัวอย่างที่ไม่ได้แช่เย็นที่พบร้อยละ 44.1 นั้น อาจเนื่องมาจากส่วนหนึ่งผู้ส่งตรวจไม่ตระหนักในการรักษาสภาพตัวอย่างให้เหมาะสม และสาเหตุอีกประการคือ บางโรงพยาบาลมีระยะทางไกลกับสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งใช้ระยะเวลาขนส่งตัวอย่างไม่เกิน 30 นาที ทำให้ผู้ส่งตรวจละเลยการแช่เย็นตัวอย่างไปเนื่องจากคิดว่าไม่มีความจำเป็น สำหรับผลการเพาะเชื้อวัณโรคด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกระยะเวลาน้อยกว่าหรือเท่ากับ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 81.4 โดยมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาตรวจพบเชื้อเท่ากับ 10.3 วัน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Pang และคณะ⁽¹⁴⁾ ที่มีค่าเฉลี่ยการตรวจพบเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960

เท่ากับ 10.1 วัน และใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Huang และคณะ⁽¹⁵⁾ พบค่าเฉลี่ยการตรวจพบเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 เท่ากับ 13.0 วัน

ปัจจัยก่อนการตรวจวิเคราะห์หานั้นพบว่า มีเพียงปัจจัยเดียวที่มีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value < 0.001) คือ ผล AFB ของตัวอย่างเสมหะ ทั้งนี้เนื่องจากระดับ AFB ย่อมบ่งบอกถึงจำนวนของเชื้อวัณโรคในตัวอย่าง ดังนั้นโดยปกติระดับ AFB ยิ่งมากแสดงว่าเชื้อในตัวอย่างย่อมมากตามไปด้วย เมื่อนำตัวอย่างไปทำการเพาะเชื้อ ยิ่งเชื้อมีปริมาณมากก็จะสามารถเพิ่มจำนวนได้มาก และถูกตรวจพบด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 ได้เร็ว ซึ่งจากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าร้อยละ 94.4 และ 95.0 ของตัวอย่างเสมหะที่ผล AFB อยู่ในระดับ 2+ และ 3+ นั้น ตรวจพบเชื้อในเวลาน้อยกว่าหรือเท่ากับ 14 วัน สำหรับปัจจัยอื่นๆ นั้นไม่พบความสัมพันธ์กับระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าปัจจัยด้านปริมาตร คุณภาพตัวอย่าง ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างจนถึงเพาะเชื้อ วิธีการขนส่ง และการแช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง ตามขอบเขตของข้อมูลในการศึกษานี้ไม่มีผลต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรคโดยการเพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960 แต่อย่างใด หรืออีกนัยหนึ่งคือปริมาตรเสมหะแม้จะอยู่ที่ระดับตั้งแต่ 2 ml ขึ้นไป ซึ่งเป็นปริมาตรต่ำสุดของตัวอย่างในการวิจัยนี้ หรือคุณภาพเสมหะที่มี WBC และ SEC จำนวนเท่าใดก็ตาม ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างเสมหะจนถึงเพาะเชื้อที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 7 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาสูงสุดของการเก็บตัวอย่างในการวิจัยนี้ การขนส่งตัวอย่างทั้งโดยรถโรงพยาบาลพยาบาลและทางไปรษณีย์ การแช่และไม่แช่เย็นตัวอย่างระหว่างขนส่ง ปัจจัยเหล่านี้ล้วนแล้ว

แต่ไม่มีผลต่อระยะเวลาการตรวจพบเชื้อวัณโรค โดยการเพาะเชื้อด้วยเครื่อง BACTEC MGIT 960

ข้อเสนอแนะ

การกำหนดเกณฑ์หรือแนวทางการส่งตรวจเพาะเชื้อวัณโรคนั้น แม้จะมีแนวทางระดับประเทศให้อ้างอิงได้ แต่แนวทางเหล่านั้นมักมีลักษณะกว้าง และไม่สามารถใช้ได้กับหน่วยรับบริการทั้งหมดที่อยู่ในพื้นที่ ห้องปฏิบัติการวัณโรคจำเป็นต้องทำการศึกษาวเคราะห์ให้เป็นไปตามบริบทของพื้นที่ เพื่อให้เกิดความยืดหยุ่น สะดวกต่อผู้รับบริการ โดยที่ตัวอย่างส่งตรวจมีความเหมาะสมยอมรับได้ ไม่กระทบต่อผลการตรวจวิเคราะห์ และที่สำคัญคือ เกิดประโยชน์สูงสุดกับผู้ป่วยอย่างแท้จริง

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. Geneva: WHO; 2018.
2. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 1376–95.
3. Rashid I, Mabuza LH, Govender I, Pretorius D. Volume of sputum to detect acid-fast bacilli as a measure of quality for the diagnosis of pulmonary tuberculosis at the Dr George Mukhari Hospital, South Africa. Afr J Prim Health Care Fam Med 2011; 3: 240.
4. Warren JR, Bhattacharya M, De Almeida KN, Trakas K, Peterson LR. A minimum 5.0 ml of sputum improves the sensitivity of acid-fast

- smear for *Mycobacterium tuberculosis*. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161(5): 1559–62.
5. McCarter YS, Robinson A. Quality evaluation of sputum specimens for mycobacterial culture. Am J Clin Pathol 1996; 105: 769–73.
 6. อัจฉรวรรณ งามฤณ. อันเนื่องมาแต่สูตรของ ยามาเน่. วารสารบริหารธุรกิจ 2554; 131: 46–60.
 7. Umesh H, Nitin S. Correlation of various criteria for sputum quality with AFB smears positivity. Panacea J Med Sci 2013; 3: 30–4.
 8. World Health Organization. Laboratory services in tuberculosis control part II: microscopy. Geneva: WHO; 1998.
 9. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Technical guide: sputum examination for tuberculosis by direct microscopy in low income countries. 5th ed. Paris: IUATLD; 2000.
 10. สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค. แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ.2561. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2561.
 11. Ogwang S, Mubiri P, Bark CM, Joloba ML, Boom WH, Johnson JL. Incubation time of *Mycobacterium tuberculosis* complex sputum cultures in BACTEC MGIT 960: Four weeks of negative culture is enough for physicians to consider alternative diagnoses. Diagn Microbiol Infect Dis 2015; 83: 162–4.
 12. Yoon SH, Lee NK, Yim JJ. Impact of sputum gross appearance and volume on smear positivity of pulmonary tuberculosis: a prospective cohort study. BMC Infect Dis 2012; 12: 172.
 13. Curione CJ, JR, Kaneko GS, Voss JL, Hesse F, Smith RF. Gram stain evaluation of the quality of sputum specimens for mycobacterial culture. J Clin Microbiol 1977; 5: 381–2.
 14. Pang Y, Su B, Zheng H, Zhang Z, Ma A, Wang Y, et al. Factors associated with missed detection of *Mycobacterium tuberculosis* by automated BACTEC MGIT 960 System. Biomed Res Int 2016; 2016: 5972021.
 15. Huang TS, Chen CS, Lee SS, Huang WK, Liu YC. Comparison of the BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460TB systems for detection of mycobacteria in clinical specimens. Ann Clin Lab Sci 2001; 31: 279–83.