

การประเมินไข่ขาวของไข่ไก่เพื่อตรึงเสมียร์เสมหะเข้มข้นสำหรับตรวจเชื้อแบคทีเรียทงกรด
ด้วยกล้องจุลทรรศน์

Evaluation of hen's egg white for fixation of concentrated sputum smears
for acid-fast bacilli microscopy

อนุกุล บุญคง

Anugoon Bunkhong

วีรลักษณ์ สายต่างใจ

Veeralak Saytangjai

สมวรรณ แก้วแสงทองเจริญ

Sommawan Kaewsangthongcharoen

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ กรมควบคุมโรค

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

Received: November 10, 2022 | Revised: November 16, 2023 | Accepted: November 28, 2023

บทคัดย่อ

การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียทงกรด (Acid-fast bacilli : AFB) ด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อวินิจฉัยวัณโรค สามารถเพิ่มความไวในการตรวจพบเชื้อ AFB โดยการทำเสมียร์เสมหะเข้มข้น อย่างไรก็ตามวิธีนี้พบปัญหาเรื่องการหลุดลอก นำมาสู่การวิจัยเชิงทดลองในครั้งนี้ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพไข่ขาวของไข่ไก่ในการตรึงเสมียร์เสมหะเข้มข้นสำหรับการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตัวอย่างเสมหะเข้มข้น 280 ตัวอย่าง ถูกนำมาใช้เปรียบเทียบการสเมียร์เสมหะแบบธรรมดากับการสเมียร์เสมหะแบบใช้ไข่ขาวตรึงเสมียร์ ผลพบการหลุดลอกของสเมียร์แบบธรรมดาร์้อยละ 26.1 ในขณะที่สเมียร์ที่ตรึงด้วยไข่ขาวไม่พบการหลุดลอก (P -value < 0.001) สำหรับผลการตรวจ AFB พบว่าสเมียร์ที่ตรึงด้วยไข่ขาวให้ผลบวกร้อยละ 50.0 สูงกว่าสเมียร์แบบธรรมดาที่ให้ผลบวกร้อยละ 38.2 (P -value = 0.005) ในส่วนของการทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาไข่ขาวที่อายุ ≤ 30 วัน, อายุ 31-60 วัน และอายุ 61-90 วัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในผลการตรวจ AFB ของสเมียร์เสมหะเข้มข้น (P -value = 0.986) ดังนั้นการใช้ไข่ขาวตรึงเสมียร์เสมหะเข้มข้นจึงมีประโยชน์ในการป้องกันการหลุดลอกของรอยสเมียร์ เพิ่มอัตราผลบวกของ AFB และช่วยลดต้นทุนในการทำเสมียร์ซ้ำ อีกทั้งไข่ไก่นั้นมีราคาถูกและไข่ขาวสามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อย 3 เดือน จึงเหมาะสำหรับนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการวัณโรค

ติดต่อผู้พิมพ์: อนุกุล บุญคง

อีเมล: ulnuka@hotmail.com

Abstract

Laboratory diagnostic method of acid-fast bacilli (AFB) using smear microscopy for tuberculosis (TB) diagnosis can be increased the sensitivity by sputum concentration technique. The concentrated sputum smear may be peeled off that is a weak point of this technique. Thus this experimental study was aimed to evaluate the using of hen's egg white for fixation of concentrated sputum smears for AFB examination. 280 concentrated sputum samples were used for comparing

between unfixed smear and egg white-fixed smear techniques. The unfixed smear technique had 26.1% of peeling, while egg white-fixed smear technique had no peeling (P -value < 0.001). For positive rate of AFB examination, egg white-fixed smear technique yielded 50.0%, whereas unfixed smear technique yielded 38.2% (P -value = 0.005). The storage time testing of egg white at ≤ 30 days, 31-60 days and 61-90 days had no statistically significant difference in AFB results of concentrated smear (P -value = 0.986). Therefore, fixation of concentrated sputum smear with egg white is useful for preventing the peeling of smear, increasing AFB-positive rate and saving the cost of smear in no repeating. Because hen's egg is not expensive and egg white can be stored for at least 3 months, this smear fixation technique is so suitable for TB laboratory.

Correspondence: Anugoon Bunkhong

E-mail: ulnuka@hotmail.com

คำสำคัญ	Keywords
เชื้อแบคทีเรียทนกรด	<i>Acid-fast bacilli</i>
เสมียร์เสมหะเข้มข้น	<i>Concentrated sputum smear</i>

บทนำ

วัณโรค (Tuberculosis: TB) เกิดจากกลุ่มเชื้อมัคโคแบคทีเรียที่มีชื่อว่า *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC หรือ MTC) ซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก โดยรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ในปี พ.ศ. 2564 มีอุบัติการณ์ผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ทั่วโลกประมาณ 6.4 ล้านราย และมีผู้เสียชีวิตจากวัณโรคถึง 1.4 ล้านรายสำหรับประเทศไทยนั้นองค์การอนามัยโลกได้จัดให้เป็น 1 ใน 12 ประเทศที่พบปัญหาทั้งวัณโรค และวัณโรคที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวี (TB/HIV) สูง⁽¹⁾ โดยมีอุบัติการณ์ผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ 103,000 ราย และมีผู้เสียชีวิตจากวัณโรค 9,600 ราย⁽²⁾

วัณโรคปอด (Pulmonary TB) เป็นวัณโรคที่พบในสัดส่วนสูงกว่าวัณโรคที่อวัยวะอื่นทั้งหมด^(3,4) และมีความสำคัญต่อการป้องกันควบคุมโรค เพราะเป็นวัณโรคที่สามารถทำให้เกิดการแพร่กระจายเชื้อผ่านทางอากาศ (Airborne transmission) จากละอองฝอยที่เกิดจากการไอ จาม ของผู้ป่วย สำหรับการวินิจฉัยวัณโรคปอดนอกจากจะใช้อาการทางคลินิกและผลภาพถ่ายรังสีทรวงอกแล้ว ยังต้องอาศัยผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยัน โดยการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่สำคัญ ได้แก่ การตรวจเสมหะหาเชื้อแบคทีเรียทนกรด (Acid-fast bacilli: AFB) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เป็นวิธีที่นิยมใช้เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และราคาถูกลงกว่าวิธีเพาะเชื้อและวิธีอณูชีววิทยา โดยการตรวจเสมหะหาเชื้อ AFB มี 2 แบบตามลักษณะการเตรียมเสมียร์ ได้แก่ การตรวจสเมียร์เสมหะโดยตรง (Direct smear) และการตรวจสเมียร์เสมหะเข้มข้น (Concentrated smear) ซึ่งข้อดีของวิธีตรวจสเมียร์เสมหะเข้มข้น คือ มีโอกาสพบเชื้อได้

มากกว่าวิธีตรวจโดยตรง^(5,6) เพราะใช้การปั่นตกตะกอนเสมหะก่อนนำมาทำสเมียร์ วิธีนี้นิยมตรวจในห้องปฏิบัติการที่มีการเพาะเชื้อวัณโรค

แม้ว่าวิธีการตรวจสเมียร์เสมหะเข้มข้นจะมีอัตราผลบวกที่สูงกว่าการตรวจสเมียร์เสมหะโดยตรง แต่ในกระบวนการเตรียมนั้นกลับพบปัญหาการหลุดลอกของสเมียร์เสมหะขณะทำการย้อมสี AFB เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นต้องใช้น้ำยาย่อยสลายเมือก (Mucus) ในเสมหะแล้วปั่นตกตะกอน ซึ่งทำให้ตัวอย่างที่นำมาสเมียร์บนแผ่นกระจกสไลด์ไม่มีเมือกที่คอยยึดเกาะกับแผ่นกระจก เมื่อนำไปย้อมสีจึงเกิดการหลุดลอกของสเมียร์ ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการตรวจพบเชื้อ AFB ในปัจจุบันมีการใช้สารช่วยทำการตรึง (Fixation) สเมียร์เสมหะชั้น เช่น โปรตีน Albumin ที่ซื้อจากบริษัท ได้แก่ Bovine serum albumin (BSA) มาทำการตรึงสเมียร์ AFB⁽⁷⁾ ทั้งนี้เพราะโปรตีน Albumin มีคุณสมบัติช่วยยึดเกาะพื้นผิวได้ดี แต่เนื่องจาก BSA ที่ซื้อจากบริษัทมีราคาค่อนข้างแพง คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดว่าจะหาสามารถใช้โปรตีน Albumin จากแหล่งอื่นที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นย่อมดีกว่าการซื้อ BSA ของบริษัทต่างชาติ เพราะจะมีราคาที่ถูกลง โดยคณะผู้วิจัยคิดว่าโปรตีน Albumin ที่เป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้น คือ ไชขาว ทั้งนี้เพราะไชขาวจากไขไก่ มีลักษณะใส โดยไชขาวของไขไก่มีโปรตีน Albumin ประเภท Ovalbumin และ Conalbumin เป็นองค์ประกอบรวมกันอยู่สูง^(8,9) อีกทั้งปกติไขไก่จะถูกใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อวัณโรคในงานประจำ ทำให้สะดวกที่จะนำมาใช้ในการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้น และที่ผ่านมายังไม่พบการวิจัยที่นำไชขาวมาใช้ในการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้น นำมาสู่วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อประเมินประสิทธิภาพไชขาวของไขไก่ในการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นสำหรับการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา และประเมินระยะเวลาการเก็บรักษาไชขาวสำหรับนำมาใช้เตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้น

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. กลุ่มตัวอย่าง

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental study) ซึ่งผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการทางจริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค (FWA 00013622) โดยตัวอย่างที่ใช้วิจัยเป็นตัวอย่างเสมหะเข้มข้นที่เหลือจากการทดสอบและรอการทำลายของปีงบประมาณ 2560 ซึ่งเก็บแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ณ ห้องปฏิบัติการวัณโรค กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ การคำนวณขนาดตัวอย่างใช้สูตรของ Taro Yamane ดังนี้

$$n = \frac{N}{1+Ne^2}$$

ในปีงบประมาณ 2560 มีตัวอย่างเสมหะเข้มข้นที่เหลือจากการทดสอบทั้งหมด คือ $N = 927$ ตัวอย่าง และกำหนดระดับความคลาดเคลื่อน คือ $e = 0.05$ สามารถคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการ

วิจัยได้ จำนวน 280 ตัวอย่าง ทำการสุ่มด้วยวิธีการสุ่มอย่างเป็นระบบ (Systematic random sampling) จากตัวอย่างทั้งหมด โดยสุ่มตัวอย่างที่ผล AFB เป็นลบ (Negative) จำนวน 140 ตัวอย่าง และผล AFB เป็นบวก (Positive) จำนวน 140 ตัวอย่าง

2. ขั้นตอนการทดสอบ

2.1 การเตรียมไข่ขาวของไข่ไก่

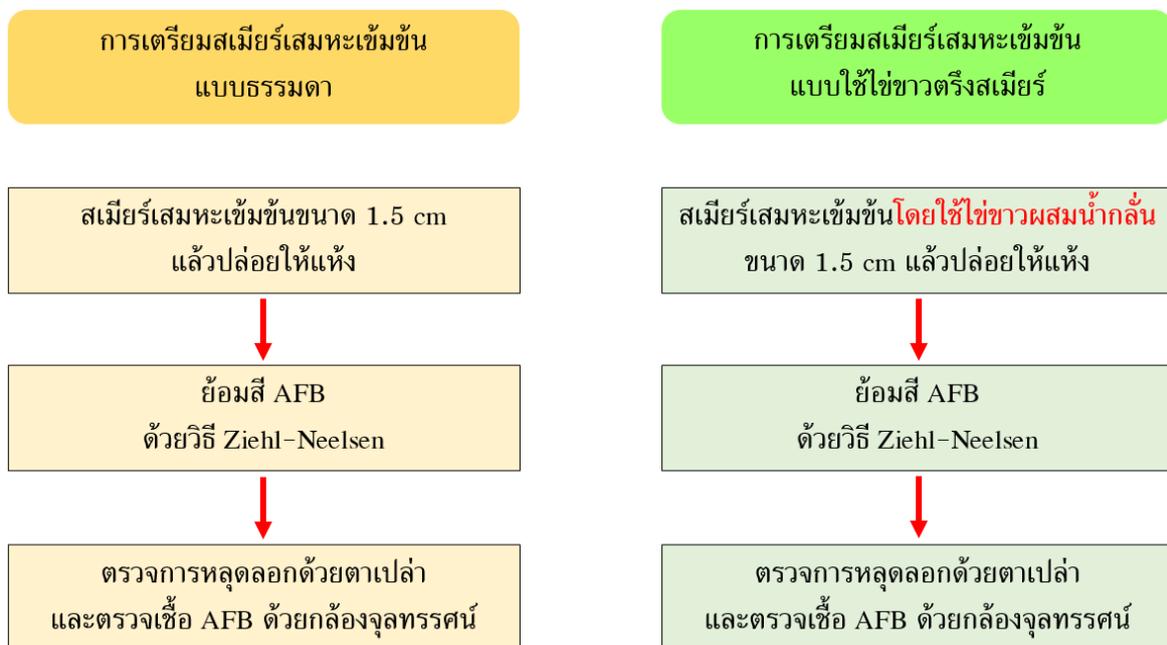
ทำการเตรียมไข่ขาวจำนวน 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งใช้ไข่ไก่ 1 ฟอง เพื่อให้ได้ไข่ขาวที่มีอายุ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ อายุ ≤ 30 วัน, 31-60 วัน และ 61-90 วัน เริ่มจากนำไข่ไก่อายุไม่เกิน 7 วัน มาล้างทำความสะอาดเปลือกด้วยน้ำประปา 1 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำสบู่ 1 ครั้ง จากนั้นล้างซ้ำด้วยน้ำประปาอีก 1 ครั้ง เมื่อเปลือกไข่นำมาเช็ดด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% ทิ้งไว้ให้เปลือกแห้ง จากนั้นตอกไข่ใส่ปีกเกอร์ แล้วใช้ Sterile plastic pipette ขนาด 1 ml ดูดเอาเฉพาะไข่ขาวใส่หลอดพลาสติกฝาเกลียว ขนาด 50 ml ปิดฝาให้แน่น แล้วนำไข่ขาวไปแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บไว้สำหรับทำการทดลองขั้นต่อไป

2.2 การทดสอบอัตราส่วน (Ratio) ระหว่างไข่ขาวและน้ำกลั่น และปริมาตร (Volume) ของไข่ขาวที่เหมาะสมสำหรับเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้น

เนื่องจากยังไม่พบรายงานการวิจัยที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ AFB ดังนั้น จำเป็นต้องทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาอัตราส่วนระหว่างไข่ขาวและน้ำกลั่นและปริมาตรของไข่ขาวที่เหมาะสมโดยใช้ตัวอย่างเสมหะเข้มข้น จำนวน 10 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่ผล AFB เป็นลบ จำนวน 5 ตัวอย่าง และบวก จำนวน 5 ตัวอย่าง ในการทดสอบ เริ่มจากนำไข่ขาวที่แช่เย็นไว้อายุ ≤ 30 วัน ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างไข่ขาวและน้ำกลั่น 3 อัตราส่วน ได้แก่ 1:1, 1:4 และ 1:9 ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน นำตัวอย่างเสมหะเข้มข้นมาทำสเมียร์โดยใช้ไข่ขาวแต่ละอัตราส่วน จำนวน 4 ปริมาตร ได้แก่ 5, 10, 15 และ 20 μl โดยใช้ Auto pipette แบบปรับปริมาตรได้ดูดไข่ขาวตามลำดับอัตราส่วนระหว่างไข่ขาวและน้ำกลั่น และลำดับปริมาตรหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วใช้ Sterile plastic pipette ขนาด 1 ml ดูดตัวอย่างเสมหะเข้มข้นหยดบนแผ่นกระจกสไลด์ 1 หยด ต่อ 1 จุดที่หยดไข่ขาวไปก่อนหน้า ผสมตัวอย่างเสมหะและไข่ขาวให้เข้ากัน ทำสเมียร์เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 cm ทำเช่นนี้จนครบทุกตัวอย่างเสมหะและครบทุกอัตราส่วนและทุกปริมาตรของไข่ขาว ทิ้งให้แห้ง แล้วนำไปย้อมสี AFB ด้วยวิธี Ziehl-Neelsen ทำการตรวจสอบด้วยตาเปล่าเพื่อประเมินการหลุดลอกของสเมียร์ หากหลุดลอกเกิน 1 ใน 3 ของรอยสเมียร์ ให้ถือว่าสเมียร์นั้นมีการหลุดลอก แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อประเมินการติดสีของพื้นหลัง (Background) แบ่งออกเป็นติดสีไม่ดี ได้แก่ แดง กับแดงอมม่วง และติดสีดี ได้แก่ น้ำเงิน จากนั้นทำการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายรวม 1,000 เท่า จำนวนวงกลิ้งในการตรวจและการรายงานผล AFB ดำเนินการตามแนวทางขององค์การอนามัยโลก⁽¹⁰⁾

2.3 การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา กับแบบที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์

การทดสอบเพื่อประเมินประสิทธิภาพของไข่ขาวในการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นเปรียบเทียบกับวิธีธรรมดาที่ใช้อยู่เดิมซึ่งไม่มีการตรึงสเมียร์ โดยใช้ไข่ขาวแห้งเย็นไว้อายุ ≤ 30 วัน และใช้อัตราส่วนและปริมาตรไข่ขาวที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองข้อ 2.2 และใช้จำนวนตัวอย่างเสมหะเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 280 ตัวอย่าง เริ่มจากใช้ Sterile plastic pipette ขนาด 1 ml ดูดตัวอย่างเสมหะเข้มข้นหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์จำนวน 2 จุด จากนั้น สเมียร์เสมหะเข้มข้นหยดแรกเป็นวงกลมขนาดประมาณ 1.5 cm แล้วใช้ Auto pipette ดูดไข่ขาวผสมกับสเมียร์เสมหะเข้มข้นหยดที่สอง สเมียร์เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 cm ทิ้งให้แห้งแล้วนำไปย้อมสี AFB ด้วยวิธี Ziehl-Neelsen ทำการตรวจสอบการหลุดลอกด้วยตาเปล่า และตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.2 (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 เปรียบเทียบขั้นตอนการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดากับแบบที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์

2.4 การประเมินช่วงเวลาการเก็บรักษาไข่ขาวสำหรับการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้น

ทำการทดสอบเพื่อประเมินระยะเวลาการเก็บรักษาไข่ขาวที่เตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหาช่วงอายุที่เหมาะสมที่ไข่ขาวยังคงมีประสิทธิภาพในการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้น โดยศึกษาอายุของไข่ขาว 3 ช่วง ได้แก่ อายุ ≤ 30 วัน, 31-60 วัน และ 61-90 วัน และใช้จำนวนตัวอย่างเสมหะเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 280 ตัวอย่าง เริ่มจากใช้ Auto pipette ดูดไข่ขาวอายุ ≤ 30 วัน, 31-60 และ 61-90 วัน ที่เตรียมไว้ตามอัตราส่วนและปริมาตรที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองข้อ 2.2 หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ จากนั้นใช้ Sterile plastic pipette ขนาด 1 ml ดูดตัวอย่าง

เสมหะเข้มข้นหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ตามจำนวนจุดของไข่ขาว จุดละ 1 หยด ผสมตัวอย่างเสมหะเข้มข้นกับไข่ขาวให้เข้ากัน เสมียร์เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5 cm ทิ้งให้แห้งแล้วนำไปย้อมสี AFB ด้วยวิธี Ziehl-Neelsen ทำการตรวจสอบการหลุดลอกด้วยตาเปล่า และตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.2

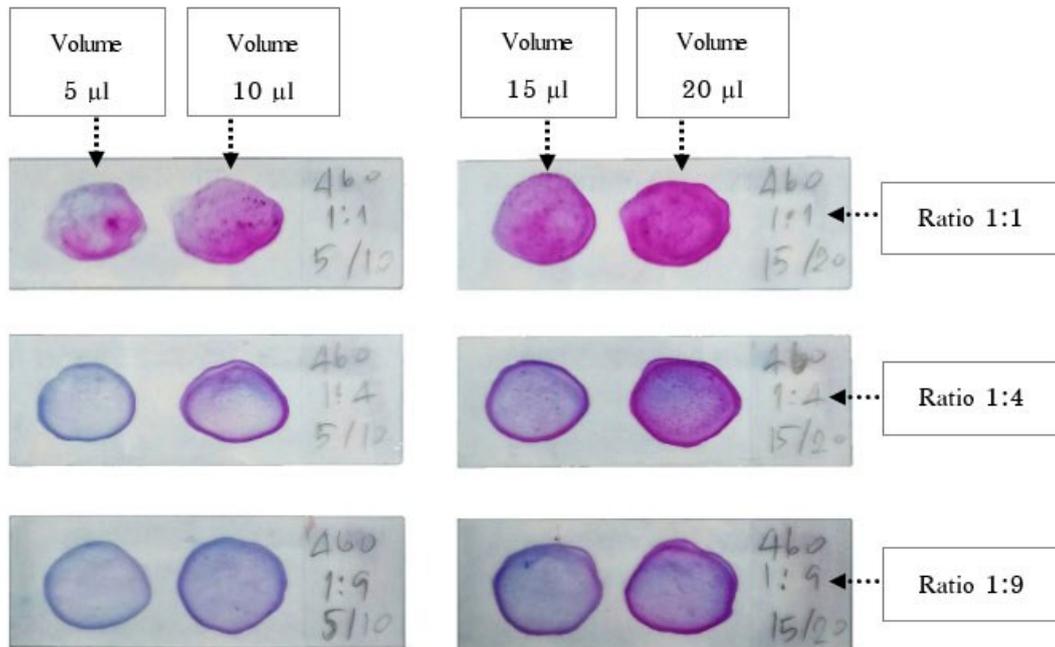
3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยค่าสถิติ โดยบรรยายลักษณะทั่วไปของข้อมูลด้วย จำนวน และค่าร้อยละ สำหรับการทดสอบสมมติฐานทางสถิติเปรียบเทียบค่าสัดส่วนของข้อมูล คือ สัดส่วนการหลุดลอกกับไม่หลุดลอกของเสมียร์เสมหะ สัดส่วนการติดสีของพื้นหลังที่ดีกับไม่ดี และสัดส่วนการตรวจพบกับไม่พบเชื้อ AFB ใช้สถิติ Chi square test และ Fisher's exact test

ผลการศึกษา

1. อัตราส่วนระหว่างไข่ขาวและน้ำกลั่น และปริมาตรของไข่ขาวที่เหมาะสมสำหรับเตรียมเสมียร์เสมหะเข้มข้น

ตัวอย่างเสมหะเข้มข้น 10 ตัวอย่าง ที่ถูกนำมาทำการเสมียร์โดยใช้ไข่ขาวผสมกับน้ำกลั่น จำนวน 3 อัตราส่วน ได้แก่ 1:1, 1:4 และ 1:9 สำหรับปริมาตรของไข่ขาวที่ใช้ทำการทดสอบในแต่ละอัตราส่วน กำหนดไว้ จำนวน 4 ปริมาตร ได้แก่ 5, 10, 15 และ 20 μ l เมื่อทำเสมียร์เสมหะแล้วทำการย้อมสี AFB (รูปที่ 2) พบว่าในด้านการหลุดลอกของเสมียร์เสมหะเข้มข้นที่ตรงด้วยไข่ขาวทุกอัตราส่วนและทุกปริมาตรไม่พบการหลุดลอกของรอยเสมียร์ โดยให้ผลตรงกันร้อยละ 100 สำหรับในด้านการติดสีของพื้นหลัง พบว่าที่อัตราส่วน 1:9 ให้การติดสีของพื้นหลังที่ดีเป็นสีน้ำเงินในสัดส่วนที่สูง โดยเฉพาะอัตราส่วนที่ 1:9 ปริมาตรที่ใช้ 5 และ 10 μ l ให้การติดสีของพื้นหลังที่ดีถึง 10 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100) สำหรับผลการตรวจเสมียร์เสมหะเข้มข้นหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าให้ผลลบ และบวกตรงกันทุกอัตราส่วน และทุกปริมาตร (ตารางที่ 1) โดยจะแตกต่างกันเพียงระดับการตรวจพบเชื้อของผลบวก (AFB grading) ซึ่งให้ผลแตกต่างกันไม่เกิน 1 ระดับ ถือว่าให้ผลการตรวจที่มีความถูกต้องตรงกัน (Correct) ตามหลักการประกันคุณภาพการตรวจเสมหะหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 2 ตัวอย่างสเมียร์เสมหะเข้มข้นหลังจากย้อมสี AFB1 ที่เตรียมโดยใช้ไข่ขาวผสมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1, 1:4 และ 1:9 ที่ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 µl

ตารางที่ 1 ผลการสเมียร์เสมหะเข้มข้นโดยใช้ไข่ขาวผสมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1, 1:4 และ 1:9 ที่ปริมาตร 5, 10, 15 และ 20 ไมโครลิตร (n= 10)

อัตราส่วน (ไข่ขาว : น้ำกลั่น)	ปริมาตร ไข่ขาวผสม น้ำกลั่น (µl)	การหลุดลอก		การติดสีของพื้นหลัง			ผล AFB				
		ลอก	ไม่ ลอก	ไม่ดี		ดี น้ำเงิน	Negative	Positive			
				แดง อมม่วง	แดง			Scanty	1+	2+	3+
1:1	5	0	10	1	5	4	5	0	0	1	4
	10	0	10	6	3	1	5	0	0	1	4
	15	0	10	9	1	0	5	0	1	0	4
	20	0	10	8	1	1	5	0	1	2	2
1:4	5	0	10	0	1	9	5	0	0	1	4
	10	0	10	0	3	7	5	0	1	0	4
	15	0	10	0	8	2	5	0	0	1	4
	20	0	10	1	9	0	5	0	1	0	4
1:9	5	0	10	0	0	10	5	0	1	0	4
	10	0	10	0	0	10	5	0	1	0	4
	15	0	10	0	1	9	5	0	0	1	4
	20	0	10	0	7	3	5	0	0	1	4

การเปรียบเทียบผลการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นกับปริมาตรไข่ขาวในแต่ละอัตราส่วนพบว่าที่อัตราส่วน 1:1 ในแต่ละปริมาตรของไข่ขาวให้ผลการติดสีของพื้นหลังที่ไม่มีมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P -value = 0.126) โดยจะเห็นได้ว่าการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นส่วนใหญ่ที่อัตราส่วน

1:1 ในแต่ละปริมาตร จะให้ผลการติดสีของพื้นหลังที่ไม่ดี แต่สำหรับผลที่อัตราส่วน 1:4 และ 1:9 นั้น กลับพบว่าปริมาตรที่ใช้ส่งผลต่อความแตกต่างในการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value < 0.001) ทั้งสองอัตราส่วน จะเห็นได้ว่าที่อัตราส่วน 1:4 ปริมาตรที่ให้ผลการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ดีมากกว่าไม่ดี ได้แก่ ปริมาตร 5 และ 10 μ l สำหรับที่อัตราส่วน 1:9 นั้นปริมาตร 5, 10 และ 15 ให้ผลการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ดีมากกว่าไม่ดี (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบผลการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นกับอัตราส่วนของไขขาวในแต่ละปริมาตร พบว่าที่ปริมาตร 5, 10 และ 15 μ l มีความแตกต่างของการติดสีของพื้นหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value = 0.006, < 0.001 และ < 0.001 ตามลำดับ) สำหรับที่ปริมาตร 20 μ l ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของผลการติดสีของพื้นหลังในแต่ละอัตราส่วน (P -value = 0.286) โดยการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นส่วนใหญ่ที่ปริมาตร 20 μ l เป็นการติดสีของพื้นหลังที่ไม่ดี (ตารางที่ 3)

จากผลการทดลองที่ได้เมื่อพิจารณาจากทั้ง 3 ด้าน คือ การหลุดลอก การติดสีของพื้นหลัง และผล AFB พบว่าอัตราส่วนไขขาวผสมน้ำกลั่นที่ 1:9 ปริมาตรที่ 5 และ 10 μ l ให้ผลการทำสเมียร์เสมหะเข้มข้นเทียบเท่ากันและเหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ผลการติดสีของพื้นหลังที่ดีถึงร้อยละ 100 และให้ผลการตรวจ AFB ที่ถูกต้องทุกตัวอย่าง ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้เลือกอัตราส่วนไขขาวผสมน้ำกลั่นที่ 1:9 ที่ปริมาตร 5 μ l มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากเป็นอัตราส่วนและเป็นปริมาตร ที่ใช้ปริมาณไขขาวน้อยที่สุด โดยไม่มีการหลุดลอก อีกทั้งยังให้การติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ดี และให้ผลการตรวจ AFB ที่ถูกต้อง

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบผลการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นตามปริมาตรไขขาวผสมน้ำกลั่น 5, 10, 15 และ 20 μ l ในแต่ละอัตราส่วน (n= 10)

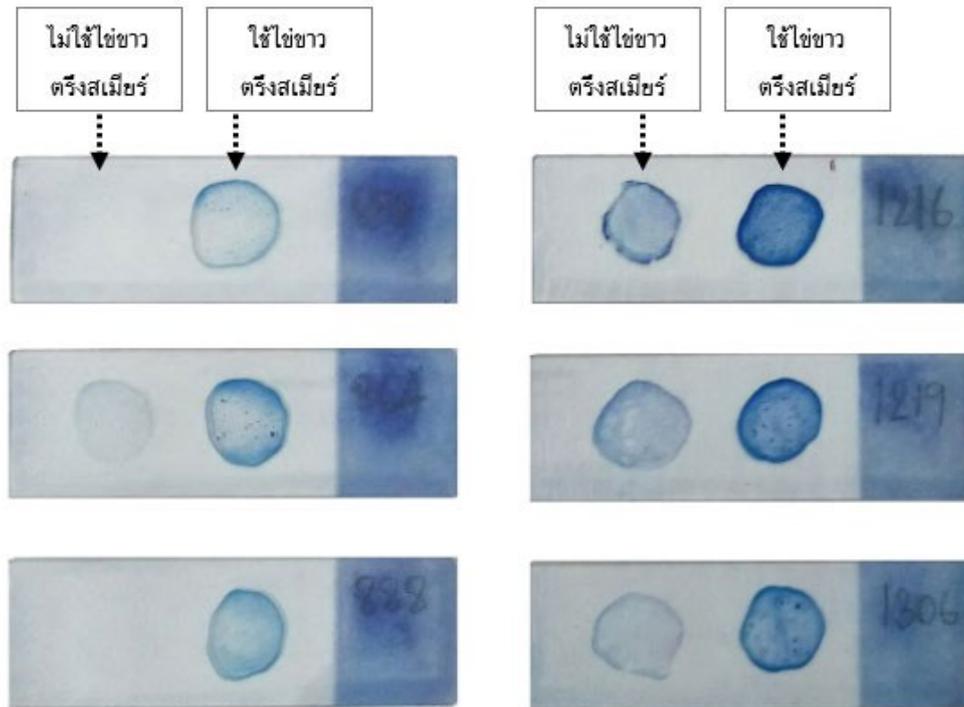
อัตราส่วน (ไขขาว : น้ำกลั่น)	ปริมาตรไขขาว ผสมน้ำกลั่น (μ l)	การติดสีของพื้นหลัง		Fisher's exact test	P-value
		ไม่ดี	ดี		
1:1	5	6	4	5.560	0.126
	10	9	1		
	15	10	0		
	20	9	1		
1:4	5	1	9	22.268	<0.001
	10	3	7		
	15	8	2		
	20	10	0		
1:9	5	0	10	16.599	<0.001
	10	0	10		
	15	1	9		
	20	7	3		

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบผลการติดสีของพื้นหลังสเมียร์เสมหะเข้มข้นตามอัตราส่วนของไขขาวผสมน้ำกลั่นที่ 1:1, 1:4 และ 1:9 ในแต่ละปริมาตร (n= 10)

ปริมาตรไขขาว ผสมน้ำกลั่น (μ l)	อัตราส่วน (ไขขาว : น้ำกลั่น)	การติดสีของพื้นหลัง		Fisher's exact test	P-value
		ไม่ดี	ดี		
5	1:1	6	4	10.013	0.006
	1:4	1	9		
	1:9	0	10		
10	1:1	9	1	18.043	<0.001
	1:4	3	7		
	1:9	0	10		
15	1:1	10	0	19.151	<0.001
	1:4	8	2		
	1:9	1	9		
20	1:1	9	1	3.391	0.286
	1:4	10	0		
	1:9	7	3		

2. ผลเปรียบเทียบวิธีการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา กับแบบที่ใช้ไขขาวตรึงสเมียร์

สำหรับจำนวนตัวอย่างเสมหะเข้มข้นที่จะนำไปใช้ทำการทดลองเปรียบเทียบวิธีการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา กับแบบที่ใช้ไขขาวตรึงสเมียร์ และการประเมินช่วงเวลาการเก็บรักษาไขขาวสำหรับการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้น มีจำนวนทั้งสิ้น 280 ตัวอย่าง จากการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นด้วยวิธีธรรมดาที่ปฏิบัติในงานประจำ และวิธีที่ใช้ไขขาวอายุ ≤ 30 วัน ที่อัตราส่วน 1:9 ที่ปริมาตร 5 μ l พบว่าวิธีที่ใช้ไขขาวตรึงสเมียร์มีการหลุดลอกน้อยกว่า และติดสีน้ำเงินที่เข้มกว่าสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ตัวอย่างสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดาที่ไม่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ และแบบที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์

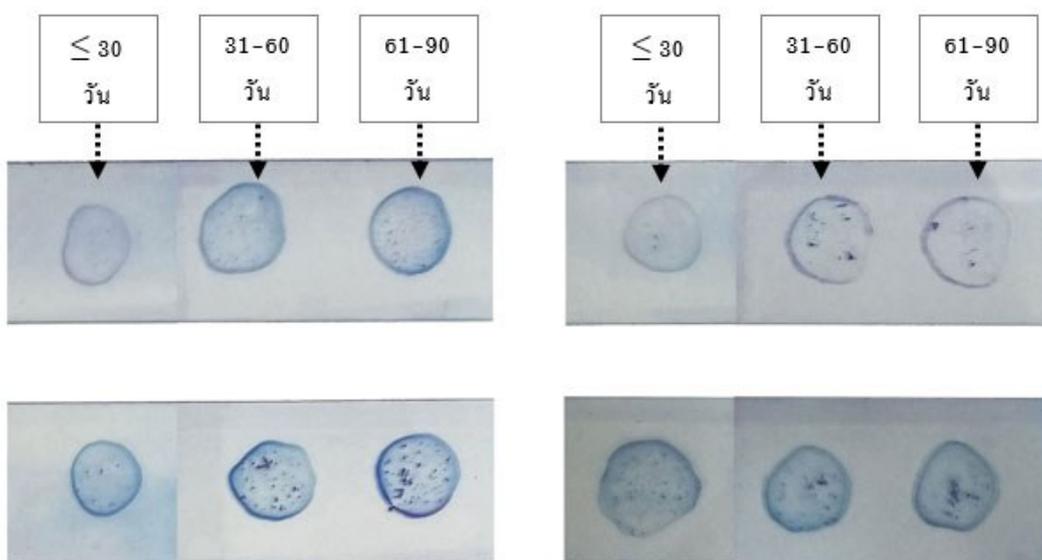
ในการเปรียบเทียบผลการสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดาที่ไม่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ และแบบที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์พบว่าด้านการหลุดลอกนั้น มีความแตกต่างกันระหว่างสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ไม่ใช้ไข่ขาวและใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P -value < 0.001) โดยสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ไม่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์มีการหลุดลอกร้อยละ 26.1 ในขณะที่สเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ไม่พบการหลุดลอกแต่อย่างใด สำหรับผล AFB₁ นั้น พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน (P -value = 0.005) โดยสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ให้สัดส่วนผลบวกที่สูงกว่าสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา ซึ่งสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดาให้ผลลบ จำนวน 173 ตัวอย่าง สูงกว่าผลบวกที่มี จำนวน 107 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 61.8 และ 38.2 ตามลำดับ ในขณะที่สเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ให้ผลลบและผลบวกเท่ากัน จำนวน 140 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50.0 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบผลการสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดาที่ไม่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ และแบบที่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์ (n= 280)

รายการประเมิน	ผล	วิธีเตรียมสเมียร์		Chi square test	P-value
		ไม่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์	ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์		
การหลุดลอก	ลอก	73	0	83.943	<0.001
	ไม่ลอก	207	280		
ผล AFB	Negative	173	140	7.888	0.005
	Positive	107	140		
	Scanty	32	38		
	1+	41	33		
	2+	19	37		
	3+	15	32		

3. ผลการประเมินช่วงเวลาการเก็บรักษาไข่ขาวสำหรับการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้น

การประเมินช่วงเวลาการเก็บรักษาไข่ขาวสำหรับนำมาใช้ในการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้น เมื่อประเมินด้วยตาเปล่า สเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวอายุ ≤ 30 วัน, อายุ 31-60 วัน และอายุ 61-90 วัน ตรึงสเมียร์ พบว่าให้การติดสีของพื้นหลังสเมียร์ที่ตีเหมือนกันทั้งสามช่วงอายุ (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 ตัวอย่างสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวอายุ ≤ 30 วัน, ไข่ขาวอายุ 31-60 วัน และไข่ขาวอายุ 61-90 วัน ตรึงสเมียร์

ในด้านการหลุดลอกของรอยสเมียร์ สำหรับสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวทั้งสามช่วงอายุมาตรฐานสเมียร์นั้น ไม่พบการหลุดลอกของรอยสเมียร์แต่อย่างใด โดยให้ผลไม่หลุดลอกร้อยละ 100 สำหรับผล AFB นั้น พบว่าแตกต่างกันเล็กน้อย โดยสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวอายุ ≤ 30 วัน ให้ผลบวกสูงสุดจำนวน 140 ตัวอย่าง (ร้อยละ 50.0) รองลงมาเป็นสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวอายุ 61-90 วัน ให้ผลบวกจำนวน 139 ตัวอย่าง (ร้อยละ 49.6) และสุดท้ายคือ สเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวอายุ 31-60 วัน ให้ผลบวกจำนวน 138 ตัวอย่าง (ร้อยละ 49.3) ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผล AFB ของสเมียร์เสมหะเข้มข้นโดยใช้ไข่ขาวสามช่วงอายุ (ตารางที่ 5) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P -value = 0.986)

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบผล AFB ระหว่างสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาวอายุ ≤ 30 วัน, ไข่ขาวอายุ 31-60 วัน และไข่ขาวอายุ 61-90 วัน ตรึงสเมียร์ (n= 280)

ช่วงอายุของไข่ขาว ที่ใช้เตรียมสเมียร์	ผล AFB		Chi square test	P-value
	Negative	Positive		
≤ 30 วัน	140	140		
31-60 วัน	142	138	0.029	0.986
61-90 วัน	141	139		

วิจารณ์และสรุปผล

การใช้ไข่ขาวของไข่ไก่เพื่อตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นนั้น ให้ผลที่ดีในการช่วยป้องกันการหลุดลอกของรอยสเมียร์ โดยจะเห็นได้จากผลการวิจัยที่ช่วยป้องกันการหลุดลอกได้ถึงร้อยละ 100 แต่ทั้งนี้การใช้ไข่ขาวจำเป็นต้องทำการผสมกับน้ำกลั่น และควบคุมปริมาตรที่ใช้ โดยพบว่าอัตราส่วนไข่ขาวผสมน้ำกลั่นที่ 1:9 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร มีความเหมาะสมที่สุด ทั้งนี้หากใช้อัตราส่วนที่ต่ำ หรือปริมาตรที่สูง ดังเช่นการใช้อัตราส่วนที่ 1:1 หรือปริมาตร 20 ไมโครลิตร จะส่งผลให้สเมียร์เสมหะเข้มข้นติดสีแดงอมม่วงจนถึงแดงเข้ม ส่งผลโดยตรงต่อการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากในการตรวจต้องอาศัยการติดสีแดงของเชื้อ AFB ตัดกับพื้นหลังและเชื้ออื่น ๆ ที่ติดสีน้ำเงิน หากทั่วทั้งรอยสเมียร์ติดสีแดง จะทำให้ตรวจหาเชื้อได้ยาก หรือเกิดความไม่แน่ใจว่าเป็นเชื้อ AFB หรือไม่ ส่งผลต่อการเกิดผลลบปลอม (False negative) และการอ่านระดับเชื้อที่ผิดพลาด (Quantification error) ซึ่งจะสังเกตได้จากผล AFB ในการวิจัยนี้ ที่ใช้ไข่ขาวผสมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 และปริมาตร 20 ไมโครลิตร พบว่าให้ผล AFB ระดับ 3+ จำนวน 2 ตัวอย่าง ซึ่งน้อยกว่าการใช้ไข่ขาวผสมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 ที่ปริมาตร 5, 10 และ 15 ไมโครลิตร ที่ให้ผลระดับ 3+ จำนวน 4 ตัวอย่าง

สำหรับการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดาที่ไม่ใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์นั้นพบการหลุดลอกถึงร้อยละ 26.1 และให้ผล AFB เป็นบวก เพียง 107 ตัวอย่าง โดยมีผลลบปลอมเกิดขึ้นถึง 33 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23.6 ของตัวอย่างบวกทั้งหมด 140 ตัวอย่าง ในขณะที่สเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ใช้ไข่ขาว

ตรึงสเมียร์นั้นไม่พบการหลุดลอกแต่อย่างใด และให้ผล AFB เป็นบวกและลบถูกต้องทุกตัวอย่าง ทั้งนี้สาเหตุที่สเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ไม่ได้ตรึงสเมียร์เกิดการหลุดลอก เป็นเพราะในขั้นตอนการเตรียมเสมหะเข้มข้นก่อนทำสเมียร์จำเป็นต้องใช้สารย่อยและสลายเมือกในเสมหะแล้วปั่นตกตะกอน ทำให้เมื่อนำเสมหะเข้มข้นไปสเมียร์จึงเกิดการหลุดลอกในขั้นตอนการย้อมสี AFB แต่ถ้าใช้ตัวอย่างเสมหะเข้มข้นผสมกับไขขาวแล้วทำการสเมียร์ โปรตีนในไขขาวจะช่วยยึดเกาะตัวอย่างเสมหะเข้มข้นรวมถึงตัวเชื้อ AFB ไว้กับแผ่นกระจกสไลด์ ทำให้ไม่เกิดการหลุดลอกของสเมียร์เมื่อนำไปย้อมสี ส่งผลให้ตรวจพบเชื้อ AFB ได้สูงกว่าสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่ไม่ได้ตรึงด้วยไขขาว ที่ผ่านมามีงานวิจัยการเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นเพื่อตรวจหาเชื้อ AFB โดยใช้เทคนิคตรึงสเมียร์ด้วยความร้อนประมาณ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง⁽¹¹⁾ เทคนิคนี้ต้องใช้อุปกรณ์ช่วยอุ่นสไลด์ (Slide warmer) เพิ่มเติม เพื่อให้ความร้อนช่วยตรึงสเมียร์ ในงานวิจัยของ Selvakumar และคณะ⁽¹²⁾ ซึ่งใช้สารเคมี Phenol Ammonium Sulfate (PhAS) ในการช่วยตกตะกอนเสมหะและตรึงสเมียร์เพื่อย้อมสี AFB พบว่าให้ผลบวกมากกว่าการตรวจเสมหะโดยตรงร้อยละ 2.4 และไม่พบการหลุดลอกของรอยสเมียร์ แต่เทคนิคนี้ต้องผสมสาร PhAS กับตัวอย่างเสมหะทิ้งไว้ข้ามคืนก่อนนำมาสเมียร์บนแผ่นสไลด์และย้อมสีทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการทดสอบนานขึ้น และที่สำคัญคือการใช้สารเคมีที่มี Phenol เป็นองค์ประกอบทำให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้ปฏิบัติงาน เนื่องจาก Phenol เป็นสารที่ทำให้ระคายเคือง และอาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (Mutagen) จากงานวิจัยของ Sun และคณะ⁽⁷⁾ พบว่าการใช้แสง Ultra violet (UV) และการใช้สาร Bovine serum albumin (BSA) สามารถช่วยในการตรึงสเมียร์ AFB ของตัวอย่างเชื้อมัคโคแบคทีเรียที่เพาะจากอาหารเหลวด้วยเครื่อง MGIT 960 ได้ดีขึ้นโดยช่วยป้องกันการหลุดลอก และให้ผลการตรวจ AFB ที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบการผล AFB ของสเมียร์ที่เตรียมโดยไม่ใช้แสง UV ซึ่งเทคนิคนี้ต้องให้รอยสเมียร์สัมผัสแสง UV อย่างน้อย 10 นาที ขึ้นไป ทำให้ต้องใช้เวลาดทดสอบนานขึ้น และจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์เพิ่มเติมที่เป็นแหล่งกำเนิดแสง UV หรือตู้ชีววิทย (Biological safety cabinet) ที่มีหลอด UV และในส่วนของสาร BSA ยังมีราคาแพง เพราะเป็นสารเคมีที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ในการวิจัยนี้เป็นการคิดค้นเทคนิคการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นขึ้นใหม่โดยการใช้ไขขาวของไข่ไก่ ซึ่งเป็นครั้งแรกที่มีการใช้ไขขาวตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้น ถือได้ว่าเป็นนวัตกรรมกระบวนการปฏิบัติงาน ในการใช้ไขขาวของไข่ไก่นั้น พบข้อดีหลายประการ ได้แก่ ไข่ไก่เป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูก หาได้ง่ายในท้องถิ่น ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน โดยปริมาณไขขาวของไข่ไก่เบอร์ 0 จำนวน 1 ฟอง จะมีปริมาตรรวมของไข่ประมาณ 5 ml โดยไข่ไก่ปกติจะมีไขขาวประมาณร้อยละ 58⁽¹³⁾ ดังนั้นไข่ไก่เบอร์ 0 จำนวน 1 ฟอง จะได้ไข่ขาวประมาณ 2.9 ml ซึ่งสเมียร์เสมหะเข้มข้น 1 ตัวอย่าง ใช้ไข่ขาวผสมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:9 โดยใช้ไข่ขาวผสมน้ำกลั่นเพียง 5 ไมโครลิตร ดังนั้นไข่ขาวที่ได้จากไข่ไก่เบอร์ 0 จำนวน 1 ฟอง สามารถเตรียมสเมียร์เสมหะเข้มข้นได้ถึง 5,800 ตัวอย่าง ขณะที่ราคาไข่ไก่เบอร์ 0 ฟองละประมาณ 5 บาท ซึ่งถือว่าเป็นวัตถุดิบที่ราคาถูกอย่างยิ่ง และวิธีการเตรียมไม่ยุ่งยาก สามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 90 วัน หรือ 3 เดือน โดยคุณสมบัติไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับไขขาวที่เตรียมใหม่อายุ ≤ 30 วัน ด้วยข้อดีของเทคนิคการใช้ไขขาวตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการใช้ตรึงสเมียร์เสมหะ

เข้มข้น สามารถช่วยป้องกันการหลุดลอกของรอยสเมียร์ ทำให้การติดสีของพื้นหลังดีขึ้น สามารถเห็นขอบเขตของรอยสเมียร์ได้ชัดเจน ช่วยให้การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ทำได้ง่ายขึ้น อีกทั้งการใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นยังให้ผลการตรวจ AFB เป็นบวกในสัดส่วนที่สูงกว่าการสเมียร์เสมหะเข้มข้นแบบธรรมดา การเตรียมไข่ขาวสามารถทำได้ง่ายและเก็บรักษาและไว้ใช้ได้เป็นระยะเวลาานาน ดังนั้นการใช้ไข่ขาวตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นจึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ทางห้องปฏิบัติการวัณโรค ในประเทศไทย

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการใช้ไข่ขาวของไข่ไก่ในการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นเพื่อตรวจหาเชื้อ AFB สำหรับห้องปฏิบัติการวัณโรคที่มีการเตรียมตัวอย่างเสมหะเข้มข้น
2. ควรทำการวิจัยทดลองเพื่อประเมินประสิทธิภาพการตรึงสเมียร์ของไข่ขาวของไข่ไก่ในตัวอย่างเข้มข้นชนิดอื่นนอกจากเสมหะ เนื่องจากตัวอย่างชนิดอื่นที่มีปัญหาการหลุดลอกของสเมียร์ได้เช่นเดียวกัน
3. ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้เลือกไข่ไข่ประเภทอื่น เช่น ไข่เป็ด เนื่องจากไข่เป็ดนั้นได้จากการเลี้ยงตามธรรมชาติ ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนได้มากกว่าไข่ไก่ แต่อย่างไรก็ตามในการวิจัยครั้งต่อไปควรทำการวิจัยทดลองไข่ขาวของไข่เป็ดเพื่อดูประสิทธิภาพการตรึงสเมียร์เสมหะเข้มข้นเปรียบเทียบกับไข่ไก่ เพราะเป็นวัตถุดิบที่ทำได้ง่ายและมีราคาใกล้เคียงกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ที่อนุญาตให้ดำเนินการวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวัณโรค กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ และทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ซึ่งกรุณาช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2022. Geneva, Switzerland: WHO; 2022.
2. World Health Organization. Tuberculosis profile: Thailand 2021. [Internet]. [cited 2022 Nov 10]. Available from: https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&entity_type=%22country%22&lan=%22EN%22&iso2=%22TH%22

3. Pang Y, An J, Shu W, Huo F, Chu N, Gao M, et al. Epidemiology of Extrapulmonary Tuberculosis among Inpatients, China, 2008–2017. *Emerg Infect Dis* 2019; 25(3): 457–64.
4. Banta JE, Ani C, Bvute KM, Lloren JIC, Darnell TA. Pulmonary vs. extra-pulmonary tuberculosis hospitalizations in the US [1998–2014]. *J Infect Public Health* 2020; 13(1): 131–9.
5. Uddin MK, Chowdhury MR, Ahmed S, Rahman MT, Khatun R, van Leth F, et al. Comparison of direct versus concentrated smear microscopy in detection of pulmonary tuberculosis. *BMC Res Notes* 2013; 6: 291.
6. Kumar JAJU, Dhar C, Srinivasa H. Revisiting acid-fast bacilli microscopy of concentrated sputum smears as an efficient tool for the diagnosis of tuberculosis: a study from a tertiary care centre in southern India. *J Tuberc Res* 2017; 5: 146–54.
7. Sun JR, Cheng YH, Lai PY, Lee SY, Chou YC, Fu YC, et al. Ultraviolet light enhances the bovine serum albumin fixation for acid fast bacilli stain. *PLoS One*. 2014; 9(2): e89370.
8. Messier P. Protein chemistry of albumen photographs [Internet]. California. [Cited 2022 Oct 3]. Available from: <https://cool.culturalheritage.org/albumen/library/c20/messier1991a.html>
9. Hincke MT, Nys Y, Gautron J, Mann K, Rodriguez-Navarro AB, McKee MD. The eggshell: structure, composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience* 2012; 17: 1266–80.
10. World Health Organization. Laboratory services in tuberculosis control part II: microscopy. Geneva: WHO; 1998.
11. Smithwick RW, Stratigos CB. Preparation of acid-fast microscopy smears for proficiency testing and quality control. *J Clin Microbiol* 1978; 8: 110–1.
12. Selvakumar N, Rahman F, Garg R, Rajasekaran S, Mohan NS, Thyagarajan K, et al. Evaluation of the phenol ammonium sulfate sedimentation smear microscopy method for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3017–20.
13. Miguel M, Manso MA, Lopez-Fandino R, Ramos M. Comparative study of egg white proteins from different species by chromatographic and electrophoretic methods. *Eur Food Res Technol* 2005; 221: 542–6.