วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

นิพนธ์ต้นฉบับ
ORIGINAL PAPER

การแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Statens Serum Institut enteric medium

Isolation of enteropathogenic bacteria by Statens Serum Institut enteric medium

อรุณลักษณ์ ลุลิตานนท์[1], สุกัญญา ศรีกุลบุตร[2], เกษแก้ว เพียรทวีชัย[1], จุพารัตน์ ปริยชาติกุล[1], มยุรี ศรีลุนช่าง[1], พรทิพย์ ปิ่นละออ[1], อรุณนี สังกา[1], พิพัฒน์ ศรีเบญจลักษณ์[1]

บทคัดย่อ

ได้ทำการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ SSI (Statens Serum Institut) enteric medium เปรียบเทียบกับวิธีที่ปฏิบัติเป็นประจำในห้องปฏิบัติการหน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้ตัวอย่างอุจจาระหรือ rectal swab ของผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จำนวน 284 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแยกเชื้อก่อโรคทั้งหมดได้ 31 ตัวอย่าง โดยแยกได้จาก SSI enteric medium 23 ตัวอย่าง (8.1%) และแยกได้จากการปฏิบัติงานประจำในหน่วยจุลชีววิทยาคลินิก 27 ตัวอย่าง (9.5%) โดยพบทั้งเชื้อก่อโรคใน Family Enterobacteriaceae และ Family Vibrionaceae จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย McNemar Chi square พบว่าผลการศึกษาทั้ง 2 วิธีไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.1) ดังนั้นเราอาจเลือกใช้ SSI enteric medium แทนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งหลาย ๆ ชนิดได้ ซึ่งจะสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากระบบทางเดินอาหารได้ผลใกล้เคียงกัน

คำรหัส: enteropathogenic bacteria ● SSI enteric medium

[1] *ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

[2] *หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

Abstract

Isolation of Enteropathogenic bacteria by Statens Serum Institut enteric medium

Aroonlug Lulitanond[1], Sukanya Srigulbutr[2], Keskaew Pienthaweechai[1], Chularut Prariyachatigul[1], Mayuree Srilunchang[1], Porntip Pinlaor[1], Arunnee Sangka[1], Pipat Sribenjalux[1]

Enteropathogenic bacteria isolated from 284 stool or rectal swab samples using SSI (Statens Serum Institut) enteric medium were compared with those isolated from routine culture at Clinical Microbiology Laboratory, Srinagarind Hospital. The total of 31 samples were positive for enteropathogenic bacteria. It was found that 23 samples were positive by using SSI enteric medium while 27 samples were positive by conventional cultivation. The pathogenic bacteria isolated were members of both Family Enterobacteriaceae and Family Vibrionaceae. Statistic Analysis showed that two cultivation methods give similar performance. Thus we suggest that SSI enteric medium can be used as the primary and secondary media for isolation of aerobic enteropathogenic bacteria.

Key words: enteropathogenic bacteria ● SSI enteric medium

บทนำ

ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อหาสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง ห้องปฏิบัติการชันสูตรส่วนใหญ่จะใช้อาหารเพาะเชื้อหลายชนิด เพื่อให้มีโอกาสมากที่สุดในการตรวจพบเชื้อสาเหตุ[1-3] เนื่องจากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงมีหลายชนิดและอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความจำเพาะเหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียแต่ละชนิดแตกต่างกัน[4-6] SSI enteric medium (Statens Serum Institut enteric medium) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตจาก Statens Serum Institut ประเทศเดนมาร์ก เพื่อใช้ในการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากอุจจาระ อาหารเลี้ยงเชื้อนี้มีคุณสมบัติช่วยในการจำแนก (differential) และยับยั้งแบคทีเรียบางชนิด (selective) โดยแบคทีเรียก่อโรคที่นอกเหนือจาก *Campylobacter* และ Anaerobes สามารถเจริญได้ดี[7] ส่วนประกอบที่สำคัญใน SSI enteric medium คือ Pancreatic digest, Yeast extract, Tri-sodium citrate, L-Phenylalanine, L-Tryptophane, $CaCl_2$, $MgCl_2$, Lactose, Glucose, Thiosulphate, Ferric citrate, Deoxycholate, Neutral red, Glycerophosphate,

[1] *Department of Clinical Microbiology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University*

[2] *Clinical Microbiology Laboratory, Srinagarind Hospital, Faculty of Medicine, Khon Kaen University*

Dodecyl benzolsulphonate และ Agar โคโลนี (colony) ที่พบบน SSI enteric medium นอกจากจะแสดงความแตกต่างจากการใช้และไม่ใช้ Lactose แล้ว แบคทีเรียแต่ละชนิดยังมีลักษณะเฉพาะแตกต่างกัน ได้แก่ โคโลนีของ *Salmonella* จะมีลักษณะโค้งนูนตรงกลางมีสีดำจากการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ ปรากฏเป็นลักษณะ metallic sheen ซึ่ง *Proteus* และ *Citrobacter* จะไม่พบลักษณะ metallic sheen เช่นนี้ *Yersinia enterocolitica* มีโคโลนีใสกลมนูนขนาดเล็ก คล้ายไข่มุก *Proteus vulgaris* มีโคโลนีแบนใส ตรงกลางมีสีเทาดำซึ่งเกิดจากการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ และอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณใต้โคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เนื่องจากปฏิกิริยาของ Phenylalanine deaminase การ swarm ของ *Proteus* จะถูกยับยั้ง โคโลนีของ *Shigella sonnei* มีลักษณะใส ค่อนข้างแบน ขอบไม่เรียบ *Vibrio cholera* มีโคโลนีกลมค่อนข้างแบน สีน้ำตาลแดงโปร่งแสง ส่วน *Aeromonas* มีโคโลนีกลม ค่อนข้างแบน สีน้ำตาลแดงทึบแสง เป็นต้น ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ของ SSI enteric medium กลุ่มผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากอุจจาระโดยใช้ SSI enteric medium เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้โดยทั่วไปในห้องปฏิบัติการหน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ (routine) ซึ่งใช้ MacConkey agar และ SS agar เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการลดภาระการเตรียมและใช้อาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

สิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ อุจจาระ และ rectal swab ของผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนพฤษภาคม 2543 จำนวน 284 ตัวอย่าง

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ห้องปฏิบัติการหน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ ใช้เพาะแยกเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ MacConkey agar, SS agar, TCBS agar, Selenite F broth และ Alkaline peptone water

2. SSI enteric medium เตรียมโดยชั่งผงอาหารเลี้ยงเชื้อ 41 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้เข้ากัน เติม 5 N NaOH 2.5 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดจนวุ้นละลายโดยสมบูรณ์แล้วทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงถึงประมาณ 45°C นำมาเทในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ รอให้แข็งแล้วเก็บในตู้เย็น

วิธีการ

นำสิ่งส่งตรวจมาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ได้แก่ MacConkey agar, SS agar, SSI enteric medium และ enrichment broth คือ Selenite F broth หากแพทย์วินิจฉัยว่าเป็น diarrhea จะลง TCBS และ Alkaline peptone water เพิ่มเติม อบอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดที่ 37°C นาน 18-24 ชั่วโมง เพาะเชื้อจาก Selenite F broth ลงบน SS agar และ SSI enteric medium ส่วน Alkaline peptone water เพาะลงบน TCBS agar เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว นำโคโลนีที่พบทุกแบบมาพิสูจน์ชนิดโดยทดสอบทางชีวเคมีตามวิธีสากลต่อไป[8,9]

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างที่ศึกษาจำนวน 284 ตัวอย่าง พบแบคทีเรียที่เป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารทั้งหมด 31 ตัวอย่าง ซึ่งพบจาก SSI enteric medium 23 สายพันธุ์จาก 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8.1 โดยพบจากจานเพาะเชื้อปฐมภูมิ 18 ตัวอย่าง และจากวิธี routine ของโรงพยาบาลศรีนครินทร์ พบแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 27 สายพันธุ์ จาก 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.5 โดยพบจาก

จานเพาะเชื้อปฐมภูมิ 24 ตัวอย่าง ชนิดและจำนวนสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่พบจากแต่ละวิธีได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

เมื่อเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อทั้ง 2 วิธี พบว่าสิ่งส่งตรวจที่พบแบคทีเรียก่อโรคจากทั้งสองวิธีมี 19 ตัวอย่าง พบแบคทีเรียก่อโรคเฉพาะจากวิธี routine 8 ตัวอย่าง พบเฉพาะจาก SSI enteric medium 4 ตัวอย่าง และได้ผลลบจากทั้งสองวิธี จำนวน 253 ตัวอย่าง

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการใช้ SSI enteric medium เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารจากสิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินอาหารของผู้ป่วย สามารถแยกเชื้อก่อโรคได้ทั้ง Family Enterobacteriaceae และ Family Vibrionaceae รวมร้อยละ 8.1 ส่วนการเพาะแยกเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อปกติจะได้ผลร้อยละ 9.5 ซึ่งแบคทีเรียก่อโรคที่แยกได้จาก SSI enteric medium มีจำนวนน้อยกว่าวิธีปกตินั้นเป็นผลที่พบในระยะแรกของการศึกษา เนื่องจากผู้ศึกษายังไม่มีความชำนาญในการเตรียมอาหาร SSI enteric medium ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ในระยะแรกอ่อนกว่าปกติ และมีผิวหน้าเปียก จึงแยกเชื้อได้ไม่ดีนัก

เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วย McNemar Chi square ได้ค่า P>0.1 แสดง

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารที่แยกได้จาก SSI enteric medium และวิธี Routine

แบคทีเรีย (N)	จำนวนสายพันธุ์ที่แยกได้ (A)		
	เฉพาะ SSI enteric medium	เฉพาะวิธี Routine	พบจากทั้งสองวิธี
Aeromonas hydrophila (3)	1 (1)	0	2(2)
Aeromonas caviae (2)	0	0	2(1)
Aeromonas sobria (3)	0	1(1)	2(2)
Vibrio parahaemolylicus (2)	1(1)	0	1(1)
Plesiomonas shigelloides (7)	0	4(4)	3(3)
Edwardsiella tarda (2)	0	1(1)	1(1)
Shigella flexneri (1)	0	1(1)	0
Shigella sonnei (2)	0	1(1)	1(1)
Salmonella (9)	2(0)	0	7(5)
รวม (31)	**4(2)**	**8(8)**	**19(16)**

(N) หมายถึง จำนวนสายพันธุ์ที่พบทั้งหมด

(A) หมายถึง จำนวนสายพันธุ์ที่แยกได้จากจานเพาะเชื้อปฐมภูมิ

ว่าการเพาะแยกเชื้อด้วยวิธีทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากการศึกษานี้มีความจำกัดของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้สามารถศึกษาตัวอย่างได้เพียง 284 ตัวอย่าง พบเชื้อก่อโรคเพียง 31 ตัวอย่าง ผลที่ได้จึงไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจน หากทำการศึกษาจำนวนตัวอย่างที่มากพอจะช่วยให้สรุปผลได้ชัดเจนกว่านี้ อย่างไรก็ตามจากผลที่ได้พอจะบอกได้ว่า SSI enteric medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถใช้แยกแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่างๆ ทั้งจาก Family Enterobacteriaceae และ Family Vibrionaceae ได้ดีเท่าๆกับวิธีที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อหลายๆชนิด ดังนั้นเราอาจเลือกใช้ SSI enteric medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งชนิดเดียวแทนอาหารเลี้ยงเชื้อปกติที่ใช้อยู่ในห้องปฏิบัติการทั่วๆ ไป ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้ตั้งแต่ 3 ชนิดขึ้นไป โดยประสิทธิภาพในการแยกเชื้อก่อโรคไม่มีความแตกต่างจากวิธี routine เช่นเดียวกับรายงานของ Brom และคณะ[7] ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพของ SSI enteric medium ในการแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้ออื่นๆ เช่น XLD, HE agar, SS agar โดยใช้ตัวอย่างอุจจาระที่เติมแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่างๆ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ SSI enteric medium สามารถแยกเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารร้อยละ 99 ส่วน XLD, HE และ SS agar มีประสิทธิภาพลดลงตามลำดับคือ ร้อยละ 92, 88 และ 82 ตามลำดับ

จากคุณสมบัติของ SSI enteric medium ที่แบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารชนิดต่างๆ สามารถเจริญได้ดี และแบคทีเรียหลายชนิดมีลักษณะโคโลนีจำเพาะบน SSI enteric medium ทำให้สามารถจำแนกโคโลนีของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้และแบคทีเรียก่อโรคได้ดีขึ้น จึงสามารถเลือกโคโลนีที่เหมาะสมที่สงสัยว่าจะเป็นเชื้อก่อโรคมาทำการพิสูจน์ชนิดได้ง่ายขึ้น และสามารถหลีกเลี่ยงการนำโคโลนีของเชื้อประจำถิ่นมาทดสอบทางชีวเคมี เป็นการลดเวลาและค่าใช้จ่ายในการทดสอบชีวเคมีของเชื้อประจำถิ่นบางชนิด ดังนั้น SSI enteric medium จึงอาจเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นทางเลือกใหม่ในการแยกและพิสูจน์ชนิดแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารได้ดีและรวดเร็ว ช่วยให้ประหยัดเวลาและลดภาระในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อหลายๆ ชนิด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ Mr. Aase Meyer สถาบัน Statens Serum Institut ประเทศเดนมาร์ก ที่มอบอาหารเลี้ยงเชื้อ SSI enteric medium เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 10th. ed. St. Louis: Mosby, 1998.
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th. ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1997.
3. Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF. Medical Microbiology. A guide to microbial infections: pathogenesis, immunity, laboratory diagnosis and control. 15th. ed. London: Churchill Livingstone, 1997.
4. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg' s Medical Microbiology. 21st. ed. London: Prentice Hall International, 1998.
5. Collins CH, Patricia ML, Grange JM. Microbiological method. 7th. ed. Oxford : Butterworth-Heinemann, 1995.
6. Morello JA, Mizer HE, Wilson ME, Gromats PA. Microbiology in Patient Care. 6th. ed.

Boston: WCB McGraw-Hill, 1998.

7. Brom M, Meyer AA, Gerner-smidt P, Gaarslev K, Espersen F. evaluation of Statens Serum Institut enteric medium for detection of enteric pathogens. J Clin Microbiol 1999; 37: 2312-6.
8. Balows A, Hausler WJ Jr, Herrman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. 5th. ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991.
9. Holt JG, Hrieg NR, Sneath PHA, Stanley JT, Williams ST. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

®rapidex

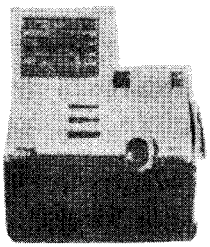
น้ำยาแช่ล้างโดยไม่ต้องขัด
สำหรับอุปกรณ์เครื่องมือ
ห้องผ่าตัด, ICU, Lab ฯลฯ

บริษัท เมด อินเตอร์ จำกัด

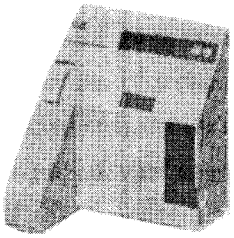
95/60 ซอยเพชรเกษม 28 ถนนเพชรเกษม แขวงปากคลอง
ภาษีเจริญ เขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ 10160
โทร. (02) 868-5038 โทรสาร. (02) 868-6061

AVL Medical Instruments

Blood Gas Analyzer



Electrolyte Analyzer

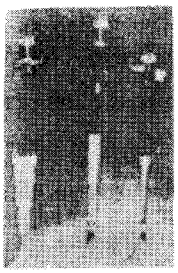


- Blood Gas Analyzer
- Mobile Blood Gas Analyzer
- Electrolyte Analyzer
- Pulse Oxymeter
- Blood Cell Counter

AUXILAB

Hematocrit Centrifuge

Auto Pipette



- Hematocrit Centrifuge
- Centrifuge
- Auto pipette
- Refractometer