

## นิพนธ์ต้นฉบับ

# การตรวจยืนยันการค้นหาเชื้อราฉวยโอกาส *Penicillium marneffei* และ *Cryptococcus neoformans* ในผู้ติดเชื้อและผู้ป่วยเอดส์ในเขตภาคเหนือตอนบน ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

เจียรนัย ชันติพิงศ์\* พรทิพย์ เข้มเงิน\* วิรัช นิรารุทธ์\* สมชาย กาญจนปราการ\*\* และ สุวดี ขมบาล\*\*\*

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์** เพื่อตรวจยืนยันโรคติดเชื้อราฉวยโอกาส Penicillosis และ Cryptococcosis ในผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์และเพื่อหาแนวทางในการเสริมสร้างศักยภาพเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการในเขตภาคเหนือตอนบนในการตรวจหาเชื้อราฉวยโอกาสในผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์

**วัสดุและวิธีการ** สุ่มเก็บสิ่งส่งตรวจได้แก่ Hemoculture, Bone marrow, CSF, Sputum จากผู้ติดเชื้อและผู้ป่วยเอดส์ที่สงสัยว่าจะเป็นโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสภายใต้โครงการ NAPHA จำนวน 95 ราย นำสิ่งส่งตรวจทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar จากนั้นนำโคโลนีของเชื้อมาทำการพิสูจน์ชนิดโดยอาศัยปฏิบัติการทางชีวเคมี

**ผลการศึกษา** ร้อยละ 97.85 ของโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือตอนบนใช้วิธีการย้อมเบื่องต้น (slide examination) เพื่อประกอบการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสในผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์ ทั้งนี้ผลจากการย้อมนั้นไม่สามารถบอกชนิดของเชื้อราเป็น species ได้ พบว่าจากสิ่งส่งตรวจที่ได้รับการตรวจหาเชื้อราฉวยโอกาสทั้งสิ้น 95 ราย มีทั้งกลุ่มที่มีผลการย้อมเบื่องต้นที่พบและไม่พบ yeast cells, hyphae และมีผลการอ่านจากเครื่องเพาะเชื้อแบบอัตโนมัติเป็น culture positive แต่ย้อม AFB แล้วให้ผล negative โดยส่งมาจากโรงพยาบาลชุมชน 68 ราย โรงพยาบาลศูนย์/ทั่วไป 27 ราย เหตุผลในการส่งมาตรวจยืนยันเพื่อค้นหาการติดเชื้อ MAC ร้อยละ 38.9 เชื้อราฉวยโอกาสร้อยละ 61.05 ผลจากการเพาะเลี้ยงพบว่ามีการติดเชื้อ *Penicillium marneffei* 31 ราย (32.63%) *Cryptococcus neoformans* 5 ราย (5.26%) *Candida albicans* 3 ราย (3.15%)

**สรุป** จากอัตราการติดเชื้อราฉวยโอกาสดังกล่าวที่พบในสิ่งส่งตรวจโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อจะเห็นได้ว่าการตรวจค้นหาโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นวิธีการที่สามารถค้นหาและบอกชนิดของเชื้อราฉวยโอกาสได้ดี (ในขณะที่ผลการอ่านจากเครื่องอัตโนมัติไม่สามารถบอกได้) อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวินิจฉัยการติดเชื้อราฉวยโอกาสโดยที่วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเทคนิคที่โรงพยาบาลสามารถดำเนินการได้เอง หากมีความพร้อมทางด้านเครื่องมือที่ safety เช่น Laminar flow และเจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการได้รับการพัฒนาศักยภาพให้สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อราได้ และสำหรับโรงพยาบาลที่ยังไม่มีความพร้อม ควรจะมีการพัฒนาให้มีเครือข่ายและจัดระบบการส่งต่อเพื่อการส่งตรวจที่มีประสิทธิภาพ วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2549; 39: 84-87.

**คำสำคัญ :** *Penicillium marneffei*, *Cryptococcus neoformans*, เขตภาคเหนือตอนบน

\* สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่

\*\* โรงพยาบาลศรีสวาลัย จ.แม่ฮ่องสอน

\*\*\* โรงพยาบาลนครพิงค์ จ.เชียงใหม่

**Abstract : Confirmation test to identify *Penicillium marneffeii* and *Cryptococcus neoformans* in people with HIV and AIDS patients in the upper northern region by culture****Jiaranai Khantipongse\***, **Pornthip Khemngern\***, **Wirat Nirarut\***, **Somchai Kanchanaprakarn\*\*** and **Suwalee Chomban\*\*\***

**Objective:** To conduct the confirmation test of *Penicillium marneffeii* and *Cryptococcus neoformans* in people with HIV and AIDS patients and to find out certain measures that enhance the potential of laboratory staff in the upper north region in identifying the opportunistic fungi that exist in people with HIV and AIDS patients.

**Material and method:** Collect the samples of the 95 cases of people with HIV and AIDS patients in the NAPHA Project who are suspected to be infected by the opportunistic fungi. Culture by feeding on Sabouraud Dextrose agar and then identify the fungi's colony by biochemical reaction.

**Results:** 97.85% of hospitals in the upper northern region use slide examination to support the fungi examination in people with HIV and AIDS patients. Yet, the results cannot identify the species of the opportunistic fungi. It has been discovered that 95 samples can both find and cannot find yeast cells, hyphae, and show the result in the automatic reading machine as culture positive, but the result from the AFB (Acid Fast Bacilli) examination turns out to be negative. The samples were collected from 68 community hospitals and 27 center hospitals. 38.9% were sent for the confirming test examining MAC and 61.05% for the fungi infection. The result from the culture method shows that 31 cases (32.63%) are infected by *Penicillium marneffeii*. 5 cases (5.26%) are infected by *Cryptococcus neoformans*, and 3 cases (3.15%) are infected by *Candida Albicans*.

**Conclusion:** From the rate of fungi infection found in the samples, the examination through the culture method is the best method in finding and identifying the opportunistic fungi [whereas the automatic reading machine cannot give the correct result]. This discovery will be beneficial in examining the opportunistic fungi infection. The culture method can be conducted by hospitals if there are safe instruments such as Laminar flow, and the laboratory staffs have been trained to perform the culture method effectively. As for the hospitals that are not yet ready, there should be development in the related network and a system set up to further or forward the samples more effectively. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2006; 39: 84-87.*

**Keywords:** *Penicillium marneffeii*, *Cryptococcus neoformans*, upper northern region

---

\* Disease Prevention and Control Office 10, Chiang Mai

\*\* Srisungwan Hospital

\*\*\* Nakormping Hospital

## บทนำ

ในการดูแลผู้ติดเชื้อเอชไอวี ไม่มีอาการ มีอาการ และผู้ป่วยโรคเอดส์ประกอบไปด้วยการให้บริการปรึกษาและแนะนำการดูแลสุขภาพ และส่งต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง, การประเมินสภาวะทางคลินิกและการชันสูตร, การป้องกันโรคติดเชื้อฉวยโอกาส ปฐมภูมิ การพิจารณาใช้ยาต้านไวรัสเอดส์และการติดตามการดูแลต่อเนื่อง สำหรับการป้องกันโรคติดเชื้อฉวยโอกาสปฐมภูมินั้นจะได้รับการป้องกันด้วยยา และในส่วนของ การรักษาโรคติดเชื้อฉวยโอกาส สถานบริการให้การรักษา หรือส่งต่อตามศักยภาพและพิจารณาการให้ยาป้องกันทุติยภูมิ เพื่อป้องกันการกลับเป็นซ้ำของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสนั้นๆ แม้ค่ายาอาจจะมีแนวโน้มลดลงแต่ผู้ป่วยยังต้องมีภาระค่าใช้จ่ายและได้รับผลกระทบจากฤทธิ์ข้างเคียงของยามากมาย ดังนั้น การค้นคว้าศึกษาเพื่อหาวิธีการรักษาให้หายขาดได้ เป็นเรื่องสำคัญ การติดเชื้อบางชนิดอาจไม่ต้องใช้ยารักษา และบางครั้งการตรวจพบการดำเนินไปของโรคอย่างชัดเจนอาจต้องใช้เวลาเป็นปี เช่น การติดเชื้อราซึ่งหากพบรอยโรคที่ปอด หรือพบว่ามีการแพร่ของโรค ผู้ป่วยจะได้รับการให้ยา antifungal และการรักษาด้วยยา antifungal ส่วนใหญ่จะใช้เวลายาวนาน

จากรายงานจำนวนผู้ป่วยเอดส์ จำแนกตามวินิจฉัยพบโรคติดเชื้อฉวยโอกาสระหว่างเดือนกันยายน 2527 – 31 กรกฎาคม 2547 พบโรคติดเชื้อฉวยโอกาส Cryptococcosis 40,361 ราย คิดเป็น 14.6% และ ติดเชื้อ *Penicillium marneffeii* 6,323 รายหรือ 2.29%<sup>1</sup> ดังนั้น การตรวจหาโรคติดเชื้อฉวยโอกาสดังกล่าวทางห้องปฏิบัติการจึงเป็นเรื่องสำคัญ

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 มีหน้าที่ ศึกษา วิเคราะห์ วิจัย พัฒนางานองค์ความรู้และเทคโนโลยีการเฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมโรคและภัยที่คุกคามสุขภาพของประชาชนจึงได้จัดทำโครงการตรวจยืนยันการค้นหามหาเชื้อราฉวยโอกาส *Penicillium marneffeii* และ *Cryptococcus neoformans* ในผู้ติดเชื้อและผู้ป่วยเอดส์ในเขตภาคเหนือตอนบน ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

## วิธีการ

### 1 การสุ่มเก็บตัวอย่างและข้อมูล

เป็นการสุ่มเก็บสิ่งส่งตรวจจากผู้ติดเชื้อและผู้ป่วยเอดส์ที่สงสัยว่าจะเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสภายใต้โครงการ NAPHA แบบเฉพาะเจาะจง จำนวน 95 ราย

### 2 พื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง

สุ่มโรงพยาบาลแบบเฉพาะเจาะจงคือ โรงพยาบาลที่มีความพร้อมทางด้านทีมแพทย์ เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง จำนวน 10 โรงพยาบาลในโครงการ NAPHA ในพื้นที่รับผิดชอบเขต 10 (เขตภาคเหนือตอนบน)

### 3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

(1) การเก็บตัวอย่าง: เจาะเลือดผู้ป่วยเพื่อตรวจหาเชื้อราฉวยโอกาสลงในขวด hemoculture นำส่งยังงานชันสูตรกลางเพื่อการป้องกัน ควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่

(2) การตรวจพิสูจน์ชนิดเชื้อรา: นำสิ่งส่งตรวจทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar จากนั้นนำโคโลนีของเชื้อมาทำการพิสูจน์ชนิดโดยอาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมี

การตรวจหา *Cryptococcus neoformans* ทางห้องปฏิบัติการ

John W King (2002) พบว่าการตรวจหา *Cryptococcus neoformans* ใน CSF ของผู้ป่วย cryptococcal meningitis ด้วยวิธี India ink preparation จะพบตัวเชื้อ cryptococci 25-50% สำหรับการวินิจฉัยจะใช้ผลจากการ culture เป็นหลัก โดยใช้อาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) ที่อุณหภูมิ 20-37°C ลักษณะ colony เรียบ นูน มีสีเหลืองหรือเทา ส่วนใหญ่ nonpathogenic cryptococcus จะไม่ขึ้นที่ 37°C ในการแยกออกจาก nonpathogenic strains ได้แก่ความสามารถในการ produce melanin โดยใช้ caffeic agar

การตรวจหา *Penicillium marneffeii* ทางห้องปฏิบัติการ

ลักษณะของ *P. marneffeii* บนอาหารวุ้น (SDA) ที่อุณหภูมิ 25 -28°C เป็น mold ที่มีลักษณะในกล้องจุลทรรศน์ คล้ายเพนนิซิลีียมทั่วไป เชื้อ *P. marneffeii* มีลักษณะแตกต่างจากเชื้อ *Penicillium species* อื่นๆ คือเชื้อเป็นราสองรูป การเพาะเชื้อบน SDA เชื้อจะให้โคโลนีสีเขียวอมเหลือง และสร้างสีแดงกระจายลงในอาหาร เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะ

คล้ายนิ้วมือ (phialide) ที่อุณหภูมิ 37°C บน brain heart infusion agar เชื้อจะเจริญให้โคโลนีคล้ายยีสต์สีน้ำตาลอมแดง เซลล์รูปกลมรี มีผนังแบ่งสอง (binary fission)<sup>2</sup>

### ผลการศึกษา

ร้อยละ 97.85 ของโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือตอนบนใช้วิธีการย้อมเบื้องต้น (slide examination) เพื่อประกอบการวินิจฉัยโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสในผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์ ทั้งนี้ผลจากการย้อมนั้นไม่สามารถบอกรายชื่อของเชื้อราเป็น species ได้

จากการดำเนินโครงการทดสอบประสิทธิภาพที่ใช้รักษาโรค Penicillosis และ Cryptococcosis ในปีงบประมาณ 2548 ที่ผ่านมา พบว่าจากสิ่งส่งตรวจที่ได้รับการตรวจหาเชื้อราฉวยโอกาสทั้งสิ้น 95 ราย ได้แก่ Hemoculture , Bone marrow , CSF , Sputum มีทั้งกลุ่มที่มีผลการย้อมเบื้องต้นที่พบและไม่พบ yeast cells, hyphae และมีผลการอ่านจากเครื่องเพาะเชื้อแบบอัตโนมัติเป็น culture positive แต่ย้อม AFB แล้วให้ผล negative โดยส่งมาจากโรงพยาบาลชุมชน 68 ราย โรงพยาบาลศูนย์ทั่วไป 27 ราย เหตุผลในการส่งมาตรวจยืนยันเพื่อค้นหาการติดเชื้อ MAC ร้อยละ 38.9 เชื้อราฉวยโอกาสร้อยละ 61.05 ผลจากการเพาะเลี้ยงพบว่ามีการ

ติดเชื้อ *Penicillium marneffeii* 31 ราย (32.63 %) *Cryptococcus neoformans* 5 ราย (5.26%) *Candida albicans* 3 ราย (3.15%)

### บทวิจารณ์

วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเทคนิคที่โรงพยาบาลสามารถดำเนินการได้เอง หากมีความพร้อมทางด้านเครื่องมือที่ safety เช่น Laminar flow และเจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการได้รับการพัฒนาศักยภาพให้สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อราได้ และสำหรับโรงพยาบาลที่ยังไม่มีความพร้อม ควรจะมีการพัฒนาให้มีเครือข่ายและจัดระบบการส่งต่อเพื่อการส่งตรวจที่มีประสิทธิภาพ

### เอกสารอ้างอิง

1. รายงานสถานการณ์ทางสังคม ปีที่ 1 ฉบับที่ 3 เมษายน – มิถุนายน 2547 กระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์
2. Vanittanakom N, Mekaprateep M, Khumwan C, et al. Morphological characterization and pleo Morphism of *Penicillium marneffeii* clinical isolates, Chiang Mai Medical Bulletin 1993;32 (3, Suppl): 50.