การเพาะเชื้อหาแบคทีเรียชนิด anaerobe จากบั๊สสาวะ

นราทร ธรรมบุตร*
กิตติมา นวลศรี*

ศึกษาการเพาะเชื้อแบคทีเรียชนิด anaerobe จากบั๊สสาวะ พบว่าบั๊สสาวะผู้ป่วยโรคทางเดินบั๊สสาวะอักเสบนั้นมีแบคทีเรียชนิด aenaerobe ปนอยู่ถึงร้อยละ 18.6 การเพาะเชื้อหาแบคทีเรียชนิด aerobe โดยวิธีธรรมดาจะเพาะเชื้อขึ้นเพียงร้อยละ 46.33 แต่เมื่อใช้ thioglycollate broth ช่วยในการเพาะเชื้อจะพบได้ทั้งแบคทีเรียชนิด aerobe และ anaerobe เพิ่มขึ้นอีกเป็นร้อยละ 79.63 จึงควรนำ thioglycollate broth มาใช้เป็นสิ่งช่วยในการเพาะเชื้อ

ปัจจุบันวิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียชนิด aerobe จากบั๊สสาวะมีความก้าวหน้ามาก การเก็บบั๊สสาวะที่ถูกวิธี ส่งตรวจภายในเวลาที่กำหนด และการนับจำนวนแบคทีเรียโดยวิธี calibrated platinum loop[4] ทำให้ได้ประสิทธิภาพในการเพาะเชื้อมากยิ่งขึ้น แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้ผู้ตรวจไม่ได้ให้ความสนใจต่อแบคทีเรียชนิด anaerobe ที่อาจปนอยู่ร่วมกันในบั๊สสาวะเพียงพอโดยเฉพาะเกิดเป็นปัญหาต่อแพทย์ผู้ให้การดูแลรักษาผู้ป่วยโรคทางเดินบั๊สสาวะอักเสบซึ่งได้รับผลการเพาะเชื้อจากบั๊สสาวะว่า "เพาะเชื้อไม่ขึ้น" ควรจะได้รับยาปฏิชีวนะชนิดใดที่เหมาะสม

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์คือ

1. ศึกษาหาแบคทีเรียชนิด anaerobe ว่ามีหรือไม่ในบั๊สสาวะที่ส่งตรวจเพาะเชื้อตามปกติ

2. ศึกษาถึงประโยชน์ของ thioglycollate broth ในการเพาะเชื้อ

วิธีการ

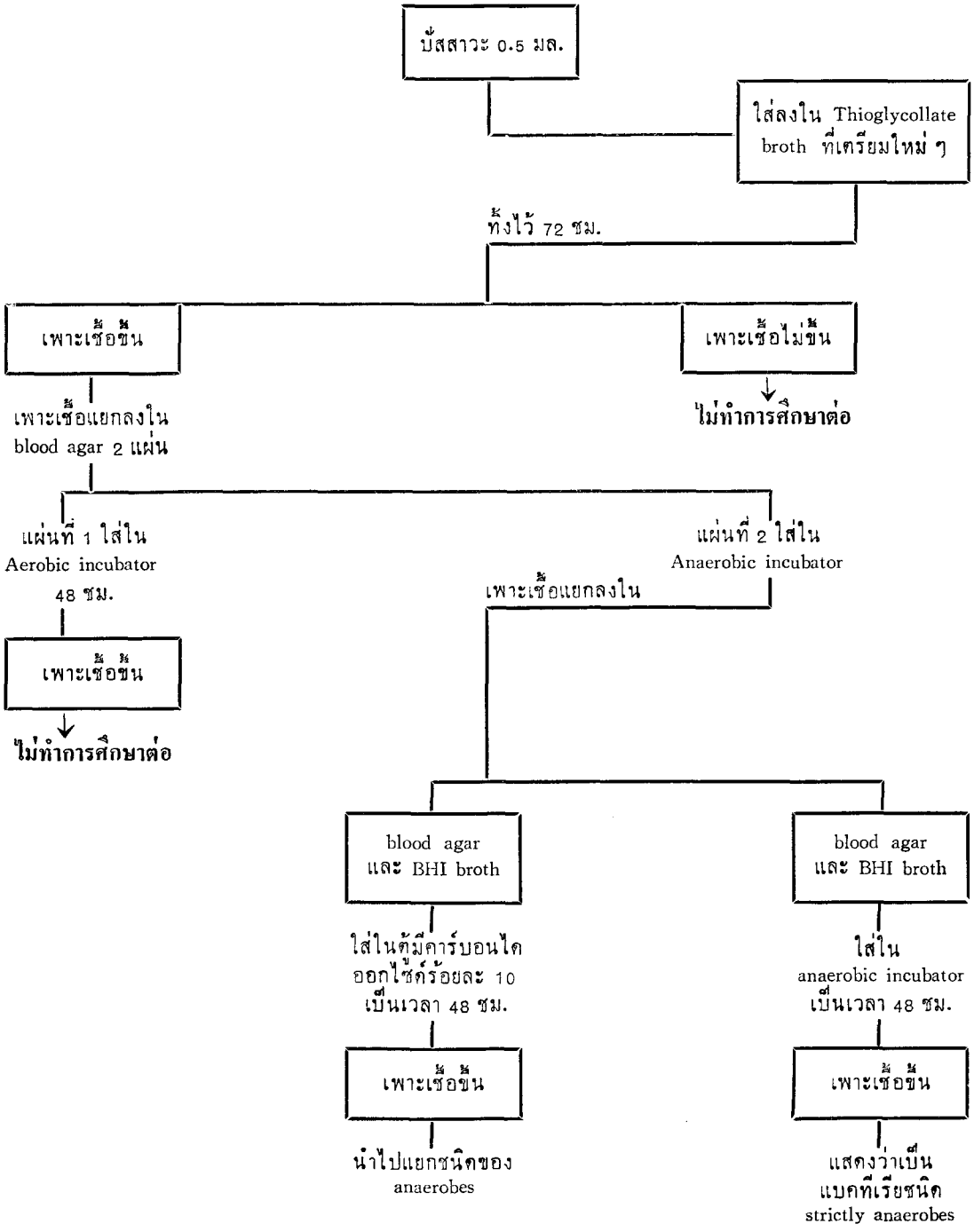
1. ใช้บั๊สสาวะที่ส่งตรวจหาแบคทีเรียชนิด aerobe โดยการเพาะเชื้อตามปกติ 0.5 มล. ใส่ลงใน thioglycollate broth ที่เตรียมใหม่ ๆ และเก็บไว้ใน anaerobic incubator ที่อุณหภูมิ 37° ซ ตรวจดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ทั้งที่เห็นด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ทุก 24 ชม.

2. ถ้าภายใน 72 ชม. พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด aerobe โดยวิธีปกติ[4] หรือไม่มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ใน thioglycollate broth ก็ไม่นำบั๊สสาวะนั้นมาทำการศึกษาต่อ

3. เมื่อมีการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย จากข้อ 1 จึงนำมาเพาะเชื้อแยกลงใน blood agar 2 แผ่น แผ่นที่ 1 เก็บไว้ในภาวะมีออกซิเจนปกติ อุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 48 ชม. แผ่นที่ 2 เก็บไว้ใน anaerobic incubator[5] นำ

*แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

รูปที่ 1 แสดงแผนภูมิการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากบั้สสาวะ



แบคทีเรียที่มีการเจริญเติบโตเฉพาะใน anaerobic incubator มาศึกษาต่อ

4. เพาะเชื้อแยกจากข้อ 3 ใน anaerobic blood agar และ BHI (Brain heart infusion) broth ที่เตรียมใหม่ ๆ 2 ชุด

ชุดแรกเก็บใน anaerobic cabinet(ประดิษฐ์ขึ้นเองในแผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย) ซึ่งมีแกสคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณร้อยละ 10 นาน 48 ชม. แล้วนำไปหาชนิดของแบคทีเรีย ถ้าพบมีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายหลัง 48 ชม. แสดงว่าแบคทีเรียเป็นชนิด anaerobe อย่างแท้จริงจะเห็นมีการเจริญเติบโตได้ในชุดที่ 2 ซึ่งเก็บไว้ใน anaerobic incubator[5,7]

แผนภูมิการเพาะเชื้อแบคทีเรียชนิด anaerobe จากปัสสาวะ แสดงในรูปที่ 1 ส่วนการวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรีย anaerobe อาศัยคุณสมบัติจากการเพาะเชื้อดังตารางที่ 1

ผลการศึกษา

ทำการตรวจปัสสาวะจำนวน 300 ราย จากผู้ป่วยนอก และ ผู้ป่วยในจากแผนกอายุรศาสตร์และกุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ต้องการทราบชนิดของแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ 139 ราย (ร้อยละ 46.33) เพาะเชื้อขึ้นโดยวิธีปกติและเป็นแบคทีเรียชนิด aerobe ส่วนอีก 161 ราย (ร้อยละ 53.67) เพาะเชื้อไม่ขึ้น แต่เมื่อศึกษาต่อไป

ตารางที่ 1 แสดงการแยกชนิดของแบคทีเรีย anaerobe[3, 10, 11]

ชนิด	ลักษณะรูปร่าง		หมายเหตุ
	colony มองเห็นด้วยตาเปล่า	ย้อมสีดูจากกล้องจุลทรรศน์	
Bacteroides species	เล็ก, ใส	เป็นแท่ง ย้อมติดสี gram ลบ	เป็นเชื้อที่มีรูปร่างเปลี่ยนแปลงง่าย
Lactobacillus species	ลักษณะคล้ายหัวเข็มหมุด	เป็น bacilli ไม่มี spore ย้อมติดสี gram บวก	ก. เชื้อเจริญเติบโตดีใน blood agar plate ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 10 เท่านั้น ข. Catalase test ให้ผลลบ
Peptostreptococcus species	เล็ก, ใส	เป็น cocci ชนิด long chain ย้อมติดสี gram บวก	ก. เชื้อเจริญเติบโตดี ใน anaerobic incubator ข. Catalase test ให้ผลทั้งบวกและลบ
Clostridial species	ลักษณะต่าง ๆ ไม่แน่นอน	เป็นแท่ง ย้อมติดสี gram บวก	ใช้ปฏิกริยาทางชีวเคมีในการแยกถึง genus ของแบคทีเรีย

ตารางที่ 2 แสดงผลของการเพาะเชื้อจากบั้สสาวะ

จำนวนบั้สสาวะ (ราย)	เพาะเชื้อ aerobe ขึ้น	บั้สสาวะที่รายงานว่า "เพาะเชื้อไม่ขึ้น"		
		เพาะเชื้อใน thioglycollate broth		บั้สสาวะที่ปราศจากเชื้อแบคทีเรีย
		เพาะเชื้อ aerobe ขึ้น	เพาะเชื้อ anaerobe ขึ้น	
300	139	70	30	62
ร้อยละของจำนวนบั้สสาวะทั้งหมด	46.33	14.7	18.6	20.33

โดยการเพาะเชื้อใน thioglycollate broth พบว่า 100 ราย (ร้อยละ 62.1) เพาะเชื้อขึ้น ส่วนอีก 61 รายเพาะเชื้อไม่ขึ้น ซึ่งแสดงว่าบั้สสาวะนั้นปราศจากเชื้อแบคทีเรียจริง ๆ ดังตารางที่ 2 ในจำนวนบั้สสาวะ 100 รายนั้น สามารถแยกได้ว่าเป็นเชื้อ aerobe 70 ราย และ anaerobe 30 ราย ซึ่งแยกชนิดที่ตรวจพบแสดงในตารางที่ 3 และ 4 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงชนิดของเชื้อแบคทีเรีย aerobe ที่พบโดยการเพาะใน thioglycollate broth

ชนิด	จำนวน (ราย)
α – hemolytic streptococcus	30
Staphylococcus epidermidis	15
Pseudomonas aeruginosa	9
Proteus species	8
β – hemolytic streptococcus	5
Other gram negative bacilli	5
Diplococcus pneumoniae	4
Yeast	3

ตารางที่ 4 แสดงชนิดของแบคทีเรีย anaerobe ที่พบโดยการเพาะเชื้อใน thioglycollate broth

ชนิด	จำนวน (ราย)
Lacto-bacillus	8
Peptococcus	6
Peptostreptococcus	5
Bacteroides and peptostreptococcus	4
Clostridium perfringens	4
Clostridium sporogenes	3

วิจารณ์

มีผู้รายงานว่าแบคทีเรียชนิด anaerobe เป็นสาเหตุของภาวะติดเชื้อในระบบต่าง ๆ เช่น บาดทะพิษ ลิ้นหัวใจอักเสบ ฝีในปอดที่มีกลิ่นเหม็น (Putrid lung abscess) เยื่อบุช่องท้องอักเสบ กระดูกอักเสบ ถุงน้ำดีอักเสบ โพรงมดลูกอักเสบ ฝีในอุ้งเชิงกราน โรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ[3] เป็นต้น นอกจากนี้แบคทีเรีย anaerobe ชนิด Clostridium perfringens ทำให้เกิดบาดทะพิษร่วมกับโรคกรวยไตอักเสบ[8] และสาเหตุของโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบบางรายเกิดจากเชื้อ anaerobe เท่านั้น[6] เช่น จากเชื้อ bacteroides กับ anaerobic streptococci[1, 9]

จากการศึกษานี้จะเห็นว่าเมื่อเพาะเชื้อจากปัสสาวะ โดยการหาเฉพาะแบคทีเรีย aerobe โดยวิธีธรรมดาพบว่าเพียงร้อยละ 46.33 เท่านั้นที่เพาะเชื้อขึ้น ส่วนอีกร้อยละ 53.67 ทางห้องปฏิบัติการจะรายงานว่า "เพาะเชื้อไม่ขึ้น" ซึ่งเป็นปัญหาแก่แพทย์ผู้รักษาผู้ป่วยที่ยังมีอาการและอาการแสดงของโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบอยู่แต่กลับเพาะเชื้อไม่ขึ้น ถ้านำ thioglycollate broth มาช่วยในการเพาะเชื้อจะเห็นว่าปัสสาวะที่รายงานว่า "เพาะเชื้อไม่ขึ้น" นั้น ร้อยละ 62.1 สามารถเพาะเชื้อขึ้นเป็นชนิด anaerobe 30 ราย หรือร้อยละ 18.6 ของจำนวนปัสสาวะทั้งหมดและอีก 70 รายยังพบเชื้อชนิด aerobe ซึ่งไม่สามารถพบได้จากการเพาะเชื้อโดยวิธีธรรมดา

Thioglycollate broth เป็นสิ่งที่มีประโยชน์มากในการเพาะเชื้อทั้งชนิด aerobe และ anaerobe ประกอบกับราคาไม่แพง จึงควรนำมาพิจารณาใช้ในการเพาะเชื้อเพื่อช่วยลดอัตราการรายงานว่า "เพาะเชื้อไม่ขึ้น" ทั้งในด้าน aerobe และ anaerobe แก่แพทย์ผู้ให้การดูแลรักษาผู้ป่วยต่อไป.

เอกสารอ้างอิง

1. Beigelman PM, Rantz LA : Clinical significance of bacteroides. Arch Intern Med 84 : 605–31, 49
2. Braude AI, Goldsand G : Anaerobic infections Dis – A – Month, 66
3. Breed RS, Murray EGD, Smith NR : Bergey's manual of determinative bacteriology. 7th ed. Baltimore, William and Wilkins, 1957 pp. 474, 533, 542, 666
4. Dhamabutra N : Enumeration and bacterial identification of pathogens in urinary tract infection. Chula Hosp Med Bull 13 : 230–3, 70
5. Dhamabutra N, Tongkoom P, Vipaprasit D : Isolation of anaerobic bacteria from clinical samples. Chula Hosp Med Bull 17 : 130 – 5, 72
6. Headington JT, Beyerlein B : Anaerobic bacteria in routine urine culture. J Clin Pathol 19 : 573–6, 66
7. McMinn MT, Crawford JJ : Recovery of anaerobic microorganisms from clinical specimens in PRAS – media VS recovery by routine clinical laboratory methods. Appl Microbiol 19 : 207 – 13, 70
8. McHenry MC, Martin WJ, Hargraves MM, et al : Bacteremia due to clostridium perfringens complicating leukemia : report of a case with associated clostridial pyelonephritis. Proc Mayo Clin 38 : 23 – 31, 63
9. McVay LV Jr, Sprunt DH : Bacteroides infections. Ann Intern Med 36 : 56–76, 52
10. Smith L, Holdeman LV : The pathogenic anaerobic bacteria. Philadelphia, Charles C. Thomas, pp. 10 – 15
11. Wilson GS, Miles AA : Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunology. 5th ed. vol.1. Baltimore, William and Wilkins, 1964 pp. 1007 – 1009