

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Articles

การประเมินประสิทธิภาพการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและการทดสอบความไว
ของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ในตัวอย่างจากหลอดเลือดโดยตรง

Evaluation of Bacterial Identification and Antimicrobial Susceptibility
Testing from Direct Blood Cultures

อำไพ หวังวก, วท.ม.*

Ampai Wangwok, M.Sc.*

*กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ ประเทศไทย 32000

*Department of Medical technology, Surin Hospital, Surin Province, Thailand, 32000

*Corresponding author; Email address: ampai.w@kkumail.com

Received: 25 Nov 2021. Revised: 03 Dec 2021 Accepted: 11 Apr 2022

บทคัดย่อ

- หลักการและเหตุผล** : โลหิตเป็นพิษเหตุติดเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล การวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดได้รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ จึงมีความสำคัญต่อการรักษารวมทั้งลดอัตราการตายผู้ป่วยและการเสียชีวิตของผู้ป่วย
- วัตถุประสงค์** : เพื่อประเมินประสิทธิภาพการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ในตัวอย่างจากหลอดเลือดโดยตรงด้วยเครื่องอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในโรงพยาบาลสุรินทร์
- วิธีการศึกษา** : การศึกษานี้ใช้ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลสุรินทร์ ที่มีผลบวกจากการเพาะเชื้อในเลือด จำนวน 98 ตัวอย่าง ทำการจำแนกชนิดเชื้อและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ โดยใช้ตัวอย่างจากหลอดเลือดโดยตรงเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ใช้โคโลนีของเชื้อ
- ผลการศึกษา** : พบว่าการทดสอบการบ่งชี้ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย โดยการเตรียมตัวอย่างจากหลอดเลือดโดยตรง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมตัวอย่างตามวิธีมาตรฐาน เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 66 ตัวอย่าง มีค่าความไว และค่าความเชื่อมั่น 95%CI เท่ากับร้อยละ 95.5 และร้อยละ 87.3-99.1 ตามลำดับ ขณะที่พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 32 ตัวอย่าง มีค่าความไว และค่าความเชื่อมั่น 95%CI เท่ากับร้อยละ 84.4 และร้อยละ 67.2-94.7 ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพมีค่า Essential agreement (EA) และ Categorical agreement (CA) เท่ากับร้อยละ 98 และ 96.5 ตามลำดับ และมีความผิดพลาด ร้อยละ 3.5 สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน และมีค่า EA และ CA เท่ากับร้อยละ 94 มีอัตราความผิดพลาด ร้อยละ 5.6 สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน ระยะเวลาที่ใช้ในการบ่งชี้ชนิดของเชื้อและทดสอบความไวต่อยาจากหลอดเลือดโดยตรง 10-16 ชั่วโมง และจากวิธีมาตรฐาน 34-40 ชั่วโมง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)
- สรุป** : การทดสอบการจำแนกชนิดเชื้อและการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ โดยการเตรียมตัวอย่างจากหลอดเลือดโดยตรง มีประสิทธิภาพและความไวสูง สำหรับการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งใช้ระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างจนถึงการรายงาน

ผลลดลงจากวิธีมาตรฐานถึง 24 ชั่วโมง ส่งผลให้แพทย์สามารถวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดและให้การรักษาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยได้รวดเร็วยิ่งขึ้น รวมถึงลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้

คำสำคัญ : ตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ภาวะเลือดเป็นพิษเหตุติดเชื้อ

ABSTRACT

- Backgrounds** : Bacterial sepsis is the major cause of death among hospitalized patients. Rapid and accurate laboratory diagnosis of bloodstream infections is important for patient management.
- Objectives** : To evaluate the efficiency of identification and antimicrobial susceptibility testing of bacteria from direct positive blood cultures compared to standard methods using VITEK®2 compact automation at Surin Hospital.
- Methods** : In this study, only positive samples from culture bottles of 98 blood samples from patients admitted at Surin Hospital were selected to evaluate further. Each selected blood sample was prepared by centrifugation for direct pellet collection and comparison with the corresponding standard bacterial culture. The results were analyzed with VITEK® 2 compact for identification and antibiotic susceptibility testing.
- Results** : The bacterial identification test by direct blood culture compared with the standard method revealed that 66 samples were Gram-negative bacteria. The sensitivity and 95%CI were 95.5% and 87.3-99.1% respectively. In comparison 32 samples were Gram-positive bacteria. The sensitivity and 95%CI were 84.4% and 67.2-94.7%, respectively. The antimicrobial susceptibility test was performed. The Essential agreement (EA) and Categorical agreement (CA) were 98% and 96.5%, respectively, with an error of 3.5% for Gram-negative bacteria. EA and CA of Gram-positive bacteria were 94% with an error rate of 5.6% compared to the standard method. The duration time required for identification and susceptibility testing by direct blood culture was 10-16 hours, and the standard method was 34-40 hours. The results found that using direct blood culture spent a significant shorter time than using standard method ($p < 0.0001$).
- Conclusions** : The identification and antimicrobial susceptibility test from direct blood culture were more effective and higher sensitivity for Gram-negative bacteria diagnosis. This method has a reduced sample preparation to report time of 10-24 hours compared to the standard method. As a result, doctors are able to diagnose bloodstream infections and provide appropriate treatment for patients more quickly, as well as decrease in patient mortality.
- Keywords** : Direct blood culture, Bacterial identification, Antibiotic susceptibility testing, Bacterial sepsis.

หลักการและเหตุผล

การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดเป็นสาเหตุอันดับต้นๆ ของการเจ็บป่วยและเสียชีวิตของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ข้อมูลการติดเชื้อในกระแสเลือดในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ.2560-2561 พบสูงถึง 175,000 รายต่อปี และเสียชีวิตถึง 45,000 รายต่อปี ปัจจุบันอัตราการตายของผู้ป่วยที่มีภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดยังคงสูง⁽¹⁾ การสำรวจและรวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยในโรงพยาบาลสุรินทร์ที่ได้เข้ารับการรักษาด้วยภาวะเลือดเป็นพิษเหตุติดเชื้อ (Sepsis) และภาวะช็อกเหตุติดเชื้อ (Septic shock) จำนวน 787 ราย พบว่ามีอัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 45.5 ของผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดเป็นพิษเหตุติดเชื้อ การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อเพาะหาเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ จึงมีความสำคัญที่จะทำให้แพทย์วินิจฉัยได้ถูกต้อง รวดเร็ว ซึ่งจะมีผลต่อการให้การรักษานผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดเป็นพิษเหตุติดเชื้อที่เหมาะสมและทันต่อการรักษา

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาใช้การทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานในการบ่งชี้ชนิดเชื้อจุลชีพ (bacterial identification) และการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ (antibiotic susceptibility testing) ซึ่งสิ่งส่งตรวจจำเป็นต้องผ่านการเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อและบ่มเพาะเชื้อในเวลา อุณหภูมิ และสภาวะที่เหมาะสมอย่างน้อย 18 ชั่วโมง จึงนำโคโลนีมาทดสอบด้วยเครื่องอัตโนมัติเพื่อจำแนกชนิดและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ รวมระยะเวลาขั้นตอนบ่มเพาะเชื้อจนถึงรายงานผลการเพาะเชื้อน้อยที่สุด 24 ชั่วโมง และการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพน้อยที่สุด 28 ชั่วโมง^(2, 3) ความถูกต้อง (Accuracy) และความรวดเร็ว (Rapidity) ในการรายงานผลการเพาะเชื้อมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะของแพทย์ผู้ทำการรักษา เพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง (Broad-spectrum antibiotics) ซึ่งจะทำให้เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะสูงขึ้น^(4, 5)

การศึกษาที่ผ่านมา⁽⁶⁻¹⁰⁾ ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพจากการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง (Direct blood culture) โดยไม่ต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งให้ได้โคโลนีของเชื้อก่อนทำการทดสอบบ่งชี้ชนิดเชื้อจุลชีพ และการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2

Compact (BioMérieux, Inc., NC, USA) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในโรงพยาบาลส่วนมาก อีกทั้งมีความน่าเชื่อถือในการจำแนกชนิดแบคทีเรียและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ ทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวก^(9,11,12) พบว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างนี้มีประสิทธิภาพอย่างมาก ในการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ แต่ยังมีปัญหาในการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก โดยเฉพาะเชื้อกลุ่ม Staphylococcus และ Enterococcus ถึงอย่างไรก็ตามวิธีการเตรียมตัวอย่างนี้ช่วยลดระยะเวลาในการรายงานผลจากห้องปฏิบัติการได้มาก อีกทั้งยังมีความไวและความถูกต้องค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเชื้อตามวิธีมาตรฐาน ดังนั้นผู้วิจัยสนใจที่จะนำวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงมาทำการวิเคราะห์การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ในผู้ป่วยโรงพยาบาลสุรินทร์ เพื่อศึกษาผลการทดสอบว่ามีความไวและความถูกต้องใกล้เคียงกับการเพาะเชื้อตามวิธีมาตรฐานของทางห้องปฏิบัติการหรือไม่ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาวิธีการจำแนกชนิด และการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินประสิทธิภาพการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ในตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงด้วยเครื่องอัตโนมัติเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในโรงพยาบาลสุรินทร์

วัสดุและวิธีการกลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้เป็นรูปแบบ Diagnostic accuracy research เปรียบเทียบระหว่างวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงกับการเพาะเชื้อตามวิธีมาตรฐานเป็นวิธีอ้างอิง โดยใช้ตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง (Blood culture bottle) ชนิด BacT/Alert® PF plus และ BacT/Alert® FA plus ในโรงพยาบาลสุรินทร์ ที่มีผลเพาะเชื้อเป็นบวก จำนวน 98 ตัวอย่าง จากผู้ป่วยที่ไม่ซ้ำรายกันและติดเชื้อ

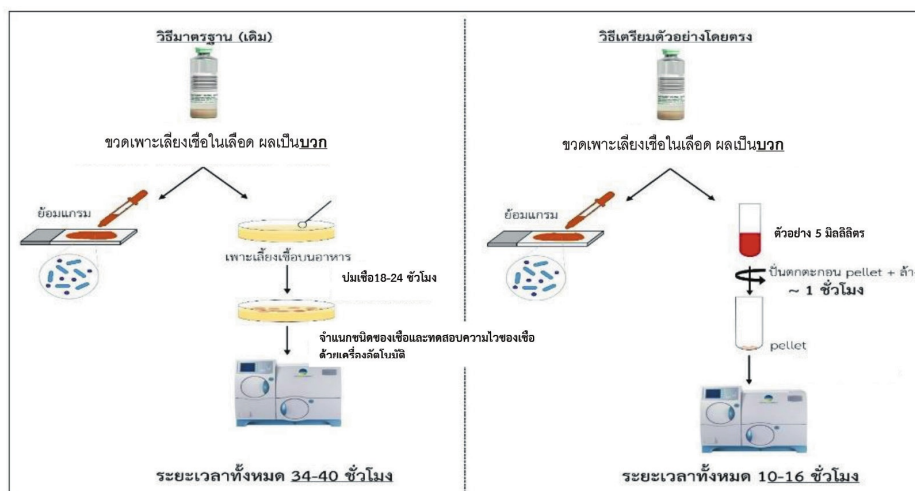
แบคทีเรียเพียงชนิดเดียว (Monomicrobial infection) เท่านั้น โดยไม่ได้นำตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบมาทำการศึกษาในครั้งนี้ การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมในมนุษย์ของโรงพยาบาลสุรินทร์ เลขที่ 84/2564 ลงวันที่ 7 ธันวาคม พ.ศ.2564

การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพด้วยวิธีมาตรฐาน

นำตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อที่เป็นผลบวกด้วยเครื่อง BacT/Alert® PF plus และ BacT/Alert® FA plus ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรีย ทำการดูดตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อมาทำการสเมียร์ลงบนสไลด์เพื่อย้อมสีแกรมและเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood agar, Chocolate agar และ Eosin methylene blue (EMB) agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี 5%CO₂ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง^(2, 3) จากนั้นนำโคโลนีของเชื้อมาละลายใน 0.45% นอร์มัลซาลิน (normal saline solution/NSS) ในหลอดปราศจากเชื้อขนาด 12x75 มิลลิเมตร ปรับให้ได้ความขุ่นที่ 0.5-0.63 McFarland⁽⁶⁾ ด้วยเครื่อง Densichek Plus (บริษัท BioMérieux จำกัด ประเทศฝรั่งเศส) เพื่อทำการทดสอบการจำแนกชนิดและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 Compact

การเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง

ดูดตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อที่ให้ผลบวกจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง BacT/Alert® PF plus และ BacT/Alert® FA plus ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ในหลอดปราศจากเชื้อขนาด 12x75 มิลลิเมตร และปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวเหนือตะกอน (Supernatant) ทั้ง 1 มิลลิตร แล้วดูดเฉพาะส่วนตะกอน (Pellet) สีขาวทั้งหมดใส่ลงในหลอดปราศจากเชื้อ ขนาด 12x75 มิลลิเมตร จากนั้นปั่นล้างตะกอน 3 ครั้ง ด้วย 0.45% นอร์มัลซาลิน ปริมาตร 3 มิลลิตร ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm เป็นเวลานาน 3 นาที เมื่อปั่นล้างครบ 3 ครั้ง เทส่วนใสทิ้ง นำตะกอนมาปรับความขุ่นที่ 0.5-0.63 McFarland⁽⁶⁾ ด้วยเครื่อง Densichek Plus เพื่อเตรียมการทดสอบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยเครื่องอัตโนมัติต่อไป ดังแสดงแผนภาพเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างตามวิธีมาตรฐานกับวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง (ภาพที่1)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเลี้ยงเชื้อในเลือดที่ให้ผลเป็นบวกตามวิธีมาตรฐาน เปรียบเทียบกับวิธีเตรียมตัวอย่างโดยตรง

การจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK® 2 compact

นำตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากการเพาะเชื้อในเลือด ทั้งหมด 98 ตัวอย่าง โดยการเตรียมตัวอย่างโดยตรงเพื่อทดสอบการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK® 2 compact (BioMérieux, Inc., NC, USA) ซึ่งใช้หลักการ Colorimetric method ที่ผ่านการอนุมัติจาก US/FDA สามารถใช้ในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการร่วมกับแผ่นทดสอบการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย (Identification card) และแผ่นทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Susceptibility card) และเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีมาตรฐานซึ่งต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อให้ได้โคโลนีก่อนทดสอบการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ด้วยเครื่องอัตโนมัติเดียวกัน จากนั้นทำการวิเคราะห์และประมวลผลด้วย VITEK® 2 software ซึ่งสามารถวิเคราะห์ผลการทดสอบการจำแนกชนิดเชื้อในเวลาที่ต่ำสุด 3 ชั่วโมง และความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ในเวลาที่ต่ำสุด 4 ชั่วโมง โดยมีระบบการวิเคราะห์และประมวลผลจาก AES software เพื่อให้การทดสอบถูกต้องเป็นไปตามมาตรฐาน CLSI และ US/FDA⁽¹³⁾

การวิเคราะห์ผล

ผลการทดสอบการจำแนกชนิดแบคทีเรียจากการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธี คือการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงและการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีมาตรฐาน จากตัวอย่างทั้งหมด 98 ตัวอย่างจะถูกนำมาวิเคราะห์หาค่าความไว (Sensitivity) และค่าความเชื่อมั่น 95%CI (95% confidence interval) และผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ทำการวิเคราะห์ผลโดยเทียบค่า Essential agreement (EA), Categorical agreement (CA), Minor discrepancy, Major discrepancy และ Very major discrepancy^(14, 15) ซึ่งค่าดังกล่าวนี้เป็นเกณฑ์การยอมรับผลการทดสอบจากเครื่องมืออัตโนมัติตามมาตรฐาน CLSI และ US/FDA ให้สามารถใช้ร่วมในการวินิจฉัยโรค และทำการศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาในการทดสอบการจำแนกชนิด

ของเชื้อแบคทีเรียและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพทางสถิติด้วย Unpaired t-test มีระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 (p-value<0.05)

ผลการวิจัย

ตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อที่ให้ผลบวกด้วยเครื่อง BacT/Alert® PF plus และ BacT/Alert® FA plus ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรีย ทั้งหมด 98 ตัวอย่าง เมื่อเตรียมตัวอย่างตามวิธีมาตรฐานเพื่อทดสอบการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Vitek® 2 compact พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 66 ตัวอย่าง แบ่งเป็นกลุ่ม Enterobacteriaceae จำนวน 55 ตัวอย่าง เป็นกลุ่ม non-fermentative gram negative bacilli จำนวน 11 ตัวอย่าง เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 32 ตัวอย่าง และเมื่อเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงเพื่อทดสอบการจำแนกชนิดของและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK® 2 compact พบว่าให้ผลเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 63 ตัวอย่าง แบ่งเป็นกลุ่ม Enterobacteriaceae จำนวน 54 ตัวอย่าง เป็นกลุ่ม non-fermentative gram negative bacilli จำนวน 9 ตัวอย่าง เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 27 ตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ถึงระดับจิ้นส์และสปีชีส์ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 66 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบได้ค่าความไวร้อยละ 95.5 และค่าความเชื่อมั่น 95%CI เท่ากับร้อยละ 87.3-99.1 ซึ่งมีระดับความเชื่อมั่นสูง โดยกลุ่ม Enterobacteriaceae มีความไวเท่ากับร้อยละ 98.2 และค่าความเชื่อมั่น 95%CI เท่ากับร้อยละ 90.3-100.0 ให้ระดับความเชื่อมั่นสูง และกลุ่ม non-fermentation gram negative bacilli มีความไวเท่ากับร้อยละ 81.8 และค่าความเชื่อมั่น 95%CI เท่ากับร้อยละ 48.2-97.7 มีระดับความเชื่อมั่นปานกลาง เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 32 ตัวอย่าง มีค่าความไวเท่ากับร้อยละ 84.4 และค่าความเชื่อมั่น 95%CI เท่ากับร้อยละ 67.2-94.7 ให้ระดับความเชื่อมั่นสูง เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก จากวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

สายพันธุ์แบคทีเรีย (n=จำนวน)	วิธีมาตรฐาน (n)	วิธีโดยตรง (n)	ความไว (%)	95% CI (%)
แกรมลบ				
Enterobacterales	55	54	98.2%	90.3-100.0
<i>Escherichia coli</i>	30	29		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	17	17		
<i>Providencia stuartii</i>	1	1		
<i>Citrobacter koseri</i>	1	1		
<i>Aeromonas</i> spp.	1	1		
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2		
<i>Salmonella</i> spp.	1	1		
<i>Morganella morganii</i> spp. <i>morganii</i>	1	1		
<i>Vibrio cholerae</i>	1	1		
Non-fermentation Gram negative bacteria	11	9	81.8%	48.2-97.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2		
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	6	5		
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	2		
<i>Pasteurella multocida</i>	1	0		
จำนวนทั้งหมด	66	63	95.5%	87.3-99.1
แกรมบวก				
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	4		
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7	7		
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1		
<i>Coagulase negative Staphylococcus</i> (CNS) (Ex. <i>S. epidermidis</i>)	13	11		
จำนวนทั้งหมด	32	27	84.4%	67.2-94.7

ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ 15 ชนิด ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 compact โดยการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธีพบว่า ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ให้ค่า EA และ CA เท่ากับร้อยละ 100 ในการทดสอบกับยา Levofloxacin และยา Ceftriaxone และมากกว่าร้อยละ 90 ในยาต้านจุลชีพอีก 12 ชนิด พบว่า

ค่าเฉลี่ยของ EA และ CA เท่ากับร้อยละ 98 และ 96.5 ตามลำดับ และมีค่า Minor discrepancy, Major discrepancy และ Very major discrepancy เท่ากับ ร้อยละ 1.8 ร้อยละ 0.2 และร้อยละ 1.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพระหว่างวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือด โดยตรงกับวิธีมาตรฐานสำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK® 2 compact (AST-N 288 cards)

Antibiotic (n=จำนวน)	Standard method (n)	CA n(%)	EA n(%)	Minor discrepancy n(%)	Major discrepancy n(%)	Very major discrepancy n(%)
Amoxicillin/Clavulanic acid	52	50(96.2%)	51(98.1%)	1(1.9%)	0(0.0%)	1(1.9%)
Piperacillin tazobactam	64	58(90.6%)	59(92.2%)	3(4.7%)	0(0.0%)	3(4.7%)
Ceftazidime	65	63(96.9%)	64(98.5%)	1(1.5%)	0(0.0%)	1(1.5%)
Ceftriaxone	65	65(100.0%)	65(100.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Sulperazone/Sulbactam	64	61(95.3%)	63(98.4%)	2(3.1%)	0(0.0%)	1(1.6%)
Cefepime	64	60(93.8%)	60(93.8%)	2(3.1%)	0(0.0%)	2(3.1%)
Doripenem	58	56(96.6%)	56(96.6%)	1(1.7%)	0(0.0%)	1(1.7%)
Ertapenem	53	51(96.2%)	52(98.1%)	1(1.9%)	0(0.0%)	1(1.9%)
Imipenem	65	63(96.9%)	63(96.9%)	0(0.0%)	0(0.0%)	2(3.1%)
Meropenem	64	63(98.4%)	63(98.4%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(1.6%)
Amikacin	65	63(96.9%)	64(98.5%)	1(1.5%)	0(0.0%)	1(1.5%)
Ciprofloxacin	64	61(95.3%)	63(98.4%)	2(3.1%)	1(1.6%)	0(0.0%)
Levofloxacin	65	63(96.9%)	65(100.0%)	2(3.1%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Tigecycline	65	64(98.5%)	64(98.5%)	0(0.0%)	1(1.5%)	0(0.0%)
Colistin	62	61(98.4%)	61(98.4%)	1(1.6%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Total	935	902(96.5%)	913(98.0%)	17(1.8%)	2(0.2%)	14(1.5%)

ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ 17 ชนิด ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK® 2 compact โดยการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธีพบว่า ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ให้ค่า EA และ CA เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 94 โดยในการทดสอบกับยา Cefoxitin Screen, Oxacillin, Clindamycin และ Tigecycline จะให้ค่า CA เท่ากับร้อยละ 100 และการทดสอบกับยา Cefoxitin Screen และ Oxacillin จะให้ค่า EA เท่ากับร้อยละ 100 แต่พบว่าผลการทดสอบโดยวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะ

เชื้อในเลือดโดยตรงไม่ตรงกับวิธีมาตรฐานทั้งหมด ร้อยละ 6 โดยมีค่า Minor discrepancy และ Major discrepancy เท่ากับร้อยละ 1.5 และร้อยละ 2.3 ตามลำดับ โดยเฉพาะการทดสอบกับยา Erythromycin, Ciprofloxacin และ Teicoplanin ซึ่งมีค่า Very major discrepancy ร้อยละ 2.3 ซึ่งพบสูงสุดในการทดสอบกับยา Teicoplanin, Linezolid, Vancomycin, Fusidic acid, Rifampicin และ Trimethoprim/sulfa-methoxazole (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ระหว่างวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือด โดยตรงกับวิธีมาตรฐานสำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK® 2 compact (AST-P592 cards)

Antibiotic (n=จำนวน)	Standard method	CA n(%)	EA n(%)	Minor discrepancy n(%)	Major discrepancy n(%)	Very major discrepancy n(%)
Cefoxitin Screen	3	3(100.0%)	3(100.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Benzylpenicillin	24	23(95.8%)	23(95.8%)	0(0.0%)	1(4.2%)	0(0.0%)
Oxacillin	24	24(100.0%)	24(100.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Gentamicin	25	24(96.0%)	25(100.0%)	1(4.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Ciprofloxacin	25	23(92.0%)	24(96.0%)	1(4.0%)	1(4.0%)	0(0.0%)
Moxifloxacin	25	23(92.0%)	23(92.0%)	1(4.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Erythromycin	25	23(92.0%)	23(92.0%)	0(0.0%)	2(8.0%)	0(0.0%)
Clindamycin	24	24(100.0%)	23(95.8%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Linezolid	25	24(96.0%)	24(96.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(4.0%)
Teicoplanin	24	19(79.2%)	20(83.8%)	2(8.3%)	1(4.2%)	2(8.3%)
Vancomycin	24	23(95.8%)	23(95.8%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(4.2%)
Tetracycline	24	23(95.8%)	23(95.8%)	0(0.0%)	1(4.2%)	0(0.0%)
Tigecycline	25	25(100.0%)	23(92.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Fosfomycin	24	23(95.8%)	23(95.8%)	0(0.0%)	1(4.2%)	0(0.0%)
Fusidic acid	25	23(92.0%)	22(88.0%)	0(0.0%)	1(4.0%)	1(4.0%)
Rifampicin	25	23(92.0%)	23(92.0%)	1(4.0%)	0(0.0%)	1(4.0%)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	25	23(92.0%)	23(92.0%)	0(0.0%)	1(4.0%)	1(4.0%)
Total	396	373(94.0%)	372(94.0%)	6(1.5%)	9(2.3%)	7(1.8%)

เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ โดยเตรียมตัวอย่างตามวิธีมาตรฐาน และการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงเริ่มจากเครื่องอัตโนมัติ บ่งชี้ว่าตัวอย่างในขวดเพาะเชื้อมีการติดเชื้อแบคทีเรีย จนกระทั่งได้ผลการทดสอบการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ พบว่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบเพื่อจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากตัวอย่างในขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงใช้ระยะเวลา 10 - 16 ชั่วโมง ขณะที่วิธีมาตรฐานที่ใช้ระยะเวลานานถึง 34 - 40 ชั่วโมง เมื่อคำนวณทางสถิติระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)

วิจารณ์

จากการสำรวจและรวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยใน โรงพยาบาลสุรินทร์ที่เข้ารับการรักษาและมีภาวะเลือดเป็นพิษเหตุติดเชื้อ (Sepsis) และภาวะช็อกเหตุพิษติดเชื้อ (Septic shock) จำนวน 787 ราย พบว่ามีอัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 45.5 โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็น *E. coli* และ *Klebsiella spp.* และแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็น *S. aureus* และ *Streptococcus agalactiae* ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่มีความรวดเร็วถูกต้องและแม่นยำจึงมีความสำคัญมากที่จะช่วยให้แพทย์ให้การวินิจฉัยได้รวดเร็วและให้การรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อใน

กระแสเลือดได้ถูกต้องและเหมาะสม ซึ่งจะทำให้อัตราการการเสียชีวิตของผู้ป่วยลดลงได้

ผลการศึกษาการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อที่ให้ผลบวกจำนวน 98 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นการเตรียมตัวอย่างที่ทำได้ง่าย และรวดเร็วโดยการใช้อัตราวิธีปั่นเหวี่ยงและแยกตะกอนซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน ทำให้สามารถรายงานผลการทดสอบได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมง ในขณะที่วิธีมาตรฐานสามารถรายงานผลการทดสอบได้ภายใน 24 ชั่วโมง

ผลการศึกษาการจำแนกชนิดเชื้อแกรมลบจำนวน 66 ตัวอย่าง ได้ค่าความไว เท่ากับร้อยละ 98.2 ในกลุ่ม Enterobacteriaceae (55 ตัวอย่าง) ซึ่งตรงไม่พบเชื้อ *E.coli* จำนวน 1 ตัวอย่าง สำหรับกลุ่ม non-fermentation (11 ตัวอย่าง) มีค่าความไวเท่ากับร้อยละ 81.8 และตรงไม่พบเชื้อ *A. baumannii complex* และ *P. Multocida* จำนวน 2 ตัวอย่าง อย่างไรก็ตามผลการทดสอบโดยรวมมีค่าความไว เท่ากับร้อยละ 95.5 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยตรงที่มีคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาก่อนหน้านี้^(6, 9, 16, 17) และมีค่าความเชื่อมั่น 95%CI (ร้อยละ 87.3-99.1) อยู่ในระดับความเชื่อมั่นสูง ส่วนการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 15 ชนิด มีค่า EA และ CA อยู่ระหว่างร้อยละ 92-100 ผลอยู่ระดับสูงตามเกณฑ์ FDA/CLSI⁽¹⁵⁾ ค่าผิดพลาดทั้ง Minor error, Major error และ Verymajor error มีเพียงร้อยละ 3.5 ซึ่งมีอัตราความผิดพลาดน้อยกว่าการศึกษาอื่นที่ทำการทดสอบโดยการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงด้วยขั้นตอนที่คล้ายกัน^(7, 16, 18) แต่ประสิทธิภาพยังน้อยกว่าการใช้สาร Triton ซึ่งเป็นส่วนผสมในสารละลาย จัดอยู่กลุ่มสารลดแรงตึงผิว ส่งผลให้สามารถแยก pellet ออกจากสารอื่นๆ ได้ดี โดยมีค่าความผิดพลาดร้อยละ 0.6⁽⁶⁾ จากการผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Gherardi G และ Ling TKW^(9, 19) จากข้อผิดพลาดหลักที่เกิดขึ้นทั้งการทดสอบการจำแนกชนิด

และความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง คือ การติดเชื้อมากกว่า 1 สายพันธุ์ และปริมาณหรือความเข้มข้นของเชื้อไม่เพียงพอ^(7, 8, 20-22) ซึ่งในการศึกษานี้อาจเกิดจากเชื้อที่เจริญเติบโตภายในขวดเพาะเลี้ยงเชื้อในเลือดมีปริมาณน้อยเกินไปเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงจากปริมาตรเลือด 5 มิลลิตร เพื่อเก็บ pellet อาจเกิดข้อผิดพลาดเมื่อนำไปตรวจด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 Compact ได้ ดังนั้นการทดสอบการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขวดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงร่วมกับเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 compact มีความไวสูงและระดับความเชื่อมั่นสูงเช่นเดียวกันกับการศึกษาของคณะผู้วิจัยก่อนหน้านี้^(6,9,17,19)

สำหรับการจำแนกชนิดของเชื้อแกรมบวก 32 ตัวอย่าง มีค่าความไวเท่ากับวิธีมาตรฐาน ร้อยละ 100 ในเชื้อ *E. faecalis* (1 ตัวอย่าง), *S. epidermidis* (4 ตัวอย่าง) และ *S. haemolyticus* (7ตัวอย่าง) ขณะที่เชื้อ *S. aureus* (6 ตัวอย่าง) มีค่าความไวเพียงร้อยละ 50 (ตรงไม่พบจำนวน 3 ตัวอย่าง) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานซึ่งเหมือนกับการศึกษาของ Lupetti A⁽²⁰⁾ และ Gherardi G⁽⁹⁾ และเชื้อ CNS (13 ตัวอย่าง) ที่พบว่าปัญหาหลัก คือปริมาณหรือความเข้มข้นของเชื้อไม่เพียงพอ จึงทำให้การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียเกิดผิดพลาดขึ้น^(9, 20) ตรงกันข้ามกับการศึกษาของ Bazzi, AM และคณะ⁽⁶⁾ ได้ผลการทดสอบมีความไวร้อยละ 100 แต่ผลโดยรวมกับเชื้อแกรมบวกสายพันธุ์อื่นๆ มีค่าความไวอัตราความผิดพลาดไม่แตกต่างกัน^(6, 20) ส่วนผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกพบว่า Cefoxitin Screen, Oxacillin, Clindamycin และ Tigecycline มีค่า CA เท่ากับร้อยละ 100 ให้ผลประสิทธิภาพที่ดีเช่นเดียวกับการศึกษาอื่น^(6, 9, 20) ยกเว้นยา Teicoplanin ที่มีค่า EA และ CA น้อยกว่าการทดสอบของยาชนิดอื่น จากผลการศึกษาที่ผ่านมาแสดงถึงความน่าเชื่อถือในระดับต่ำเมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก^(9, 17, 18) อย่างไรก็ตามในการ

ศึกษาต่อไป การเพิ่มจำนวนตัวอย่างในการทดสอบเชื้อแกรมบวกสำหรับวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงนี้โดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* อาจทำให้เพิ่มความไวและความแม่นยำในการทดสอบกับเชื้อแกรมบวกมากยิ่งขึ้น และอาจเพิ่มความชุ่นของเชื้อมากกว่า 0.5 Mc Farland⁽⁹⁾ เพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 Compact

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของความจำเพาะ (Specificity) สำหรับวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงในการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 compact เนื่องจากไม่ได้นำตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบจากขูดเพาะเชื้อ จึงยังไม่สามารถระบุได้ว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยตรงนี้มีความจำเพาะมากเพียงใด อย่างไรก็ตามการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงนี้สามารถตรวจหาเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดี ซึ่งในการศึกษาต่อไป ควรมีการหาค่าความจำเพาะของการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ เพื่อความแม่นยำและความถูกต้องสำหรับการวินิจฉัยให้เพิ่มมากยิ่งขึ้น

การศึกษานี้พบว่าระยะเวลาการทดสอบการจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจากวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงในการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 compact หลังตรวจพบสัญญาณการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในขูดเพาะเลี้ยงเชื้อจากเลือดจนได้ผลการทดสอบแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ พบว่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบเพื่อจำแนกชนิดและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงใช้เวลา 10 - 16 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ใช้เวลานานถึง 34 - 40 ชั่วโมง ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรง แทนการเพาะเชื้อเพื่อให้ได้โคโลนีก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 compact สามารถลดระยะเวลาการทดสอบได้ถึง 24 ชั่วโมง ซึ่งถือว่าลดลงหนึ่งเท่าของเวลาที่ใช้ทดสอบตามขั้นตอนมาตรฐาน^(18, 20, 23-25) ทำให้ห้องปฏิบัติการสามารถรายงานผลการเพาะเชื้อได้รวดเร็วขึ้น ซึ่งจะช่วยให้แพทย์ผู้ทำการรักษาสามารถวินิจฉัยโรคได้รวดเร็วและเลือกใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างเหมาะสม ช่วยลดการดื้อยาของเชื้อ รวมทั้งลดอัตราการเสียชีวิตและลดค่าใช้จ่ายของผู้ป่วยลงได้

สรุป

วิธีการเตรียมตัวอย่างจากขูดเพาะเชื้อในเลือดโดยตรงแทนการเพาะเชื้อจากขูดเพาะเชื้อเพื่อให้ได้โคโลนีก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ VITEK®2 compact มีความไวและความเชื่อมั่นอยู่ในระดับสูงในการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และสามารถลดระยะเวลาการทดสอบลงได้ 24 ชั่วโมง ทำให้ห้องปฏิบัติการสามารถรายงานผลการเพาะเชื้อได้รวดเร็วขึ้น ส่งผลให้แพทย์สามารถทำการรักษาและวินิจฉัยโรคได้อย่างถูกต้อง รวดเร็วลดภาระค่าใช้จ่ายและลดอัตราการเสียชีวิตจากภาวะโลหิตเป็นพิษได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลสุรินทร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ ที่ได้อำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลต่างๆ สำหรับงานวิจัย และขอขอบคุณบริษัทคิวไบโอซายน์ จำกัด ที่สนับสนุนอุปกรณ์ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. คณะกรรมการพัฒนาระบบบริการสุขภาพ (Service Plan) สาขาอายุรกรรม. คู่มือสำหรับประชาชน "รู้เท่าทัน เชื้อพิษ ป้องกัน รู้ทัน รักษาไว". นนทบุรี: กองบริหาร การสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข; 2562.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and Procedures for Blood Culture: Approved Guideline. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
3. สุวรรณ ตระกูลสมบูรณ์, วิภา ตรีรัตน์วีรพงษ์, ฉันทนา อรัญญะ. การเพาะเชื้อจากเลือด. ใน: มัลลั ยวรจิตร, วันทนา ปวีณกิตติพร, สุวรรณ ตระกูล สมบูรณ์, สุรางค์ เดชศิริเลิศ, บรรณาธิการ. คู่มือ ปฏิบัติงานแบบที่เรียบง่ายสำหรับโรงพยาบาลศูนย์ และโรงพยาบาลทั่วไป 2561. นนทบุรี: กรม วิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2561: 54-60.
4. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol* 2003;41(1):495-7. doi: 10.1128/JCM.41.1.495-497.2003.
5. Rizoli SB, Marshall JC. Saturday night fever: finding and controlling the source of sepsis in critical illness. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(3):137-44. doi: 10.1016/s1473-3099(02) 00220-7.
6. Bazzi AM, Rabaan AA, Fawarah MM, Al-Taw fiq JA. Direct identification and susceptibility testing of positive blood cultures using high speed cold centrifugation and Vitek II system. *J Infect Public Health* 2017;10(3):299-307. doi: 10.1016/j.jiph.2016.05.012.
7. de Cueto M, Ceballos E, Martinez-Martinez L, Perea EJ, Pascual A. Use of positive blood cultures for direct identification and susceptibility testing with the vitek 2 system. *J Clin Microbiol* 2004;42(8):3734-8. doi: 10. 1128/JCM.42.8.3734-3738.2004.
8. Fontanals D, Salceda F, Hernández J, Sanfeliu I, Torra M. Evaluation of wider system for direct identification and antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood culture bottles. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21(9):693-5. doi: 10.1007/s10096- 002-0791-4.
9. Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, Pompilio A, Di Bonaventura G, Crea F, et al. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;72(1):20-31. doi: 10.1016/j.diagmicrobio. 2011.09.015.
10. Hansen DS, Jensen AG, Nørskov-Lauritsen N, Skov R, Bruun B. Direct identification and susceptibility testing of enteric bacilli from positive blood cultures using VITEK (GNI+/ GNS-GA). *Clin Microbiol Infect* 2002;8(1): 38-44. doi: 10.1046/j.1469-0691.2002.00372.x.
11. Machen A, Drake T, Wang YF. Same day identification and full panel antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood culture bottles made possible by a combined lysis-filtration method with MALDI-TOF VITEK mass spectrometry and the VITEK2 system. *PLoS One* 2014;9(2): e87870. doi: 10.1371/journal.pone.0087870.
12. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest* 2000;118(1):146-55. doi: 10. 1378/chest.118.1.146.
13. bioMérieux SA. Vitek 2TM Product Information. North Carolina: bioMérieux, Inc.; 2016.

14. Clark RB, Lewinski MA, Loeffelholz MJ, Tibbetts RJ. 31A Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory. 1st.ed. Washington, DC: ASM Press; 2009.
15. Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. CLSI Methods Development and Standardization Working Group Best Practices for Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Tests. *J Clin Microbiol* 2018; 56(4):e01934-17. doi: 10.1128/JCM.01934-17.
16. Nimer NA, Al-Saa'da RJ, Abuelaish O. Accuracy of the VITEK[®] 2 system for a rapid and direct identification and susceptibility testing of Gram-negative rods and Gram-positive cocci in blood samples. *East Mediterr Health J* 2016;22(3):193-200. doi: 10.26719/2016.22.3.193.
17. Kong H, Zhang S, Chen X, Zhang W, Yang Q, Fu Y, et al. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing directly from blood cultures of gram-negative and gram-positive isolates. *Clin Lab* 2013;59 (11-12):1305-10. doi: 10.7754/clin.lab.2013.121132.
18. Chen JR, Lee SY, Yang BH, Lu JJ. Rapid identification and susceptibility testing using the VITEK 2 system using culture fluids from positive BacT/ALERT blood cultures. *J Microbiol Immunol Infect* 2008;41(3):259-64.
19. Ling TK, Liu ZK, Cheng AF. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2003;41(10):4705-7. doi: 10.1128/JCM.41.10.4705-4707.2003.
20. Lupetti A, Barnini S, Castagna B, Capria AL, Nibbering PH. Rapid identification and antimicrobial susceptibility profiling of Gram-positive cocci in blood cultures with the Vitek 2 system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29(1):89-95. doi: 10.1007/s10096-009-0825-2
21. Waites KB, Brookings ES, Moser SA, Zimmer BL. Direct bacterial identification from positive BacT/Alert blood cultures using MicroScan overnight and rapid panels. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;32(1):21-6. doi: 10.1016/s0732-8893(98)00058-3.
22. Waites KB, Brookings ES, Moser SA, Zimmer BL. Direct susceptibility testing with positive BacT/Alert blood cultures by using MicroScan overnight and rapid panels. *J Clin Microbiol* 1998;36(7):2052-6. doi: 10.1128/JCM.36.7.2052-2056.1998.
23. Prod'homme G, Durussel C, Greub G. A simple blood-culture bacterial pellet preparation for faster accurate direct bacterial identification and antibiotic susceptibility testing with the VITEK 2 system. *J Med Microbiol* 2013;62 (Pt 5):773-7. doi: 10.1099/jmm.0.049361-0.
24. Barry J, Brown A, Ensor V, Lakhani U, Petts D, Warren C, et al. Comparative evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System (AES) in five UK hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2003;51(5):1191-202. doi: 10.1093/jac/dkg234.
25. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol*. 1999;37(5):1415-8. doi: 10.1128/JCM.37.5.1415-1418.1999.