

การเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตาของ ผู้ป่วยที่สงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตาโดยใช้ ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กกับวิธีการเพาะเชื้อ แบบมาตรฐาน โรงพยาบาลเมตตาประชารักษ์ (วัดไร่ขิง)

วิรงค์รัตน์ บุญเรือง

กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลเมตตาประชารักษ์ (วัดไร่ขิง) นครปฐม 73210

บทคัดย่อ ภาวะติดเชื้อภายในลูกตาเป็นภาวะฉุกเฉินทางจักษุวิทยาที่อาจทำให้สูญเสียการมองเห็นอย่างถาวร การวินิจฉัยที่รวดเร็วและถูกต้องโดยการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตามีความสำคัญต่อการรักษา การเพาะเชื้อต้องการปริมาณตัวอย่างมาก ในขณะที่ปริมาณน้ำวุ้นลูกตาที่เก็บได้มีจำกัด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบเชื้อและศึกษาความสัมพันธ์ของผลการเพาะเชื้อระหว่างขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็ก (pediatric blood culture bottles: PBCB) กับการเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน (conventional culture method: CCM) และศึกษาความสัมพันธ์ของผลการย้อมสีแกรมกับผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี PBCB และ CCM ในผู้ป่วยที่สงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา จำนวน 60 ราย โดยแบ่งตัวอย่างแต่ละรายเพาะเชื้อทั้งสองวิธี ย้อมสีแกรม และตรวจหาเชื้อรา ผลการศึกษาพบว่าอัตราการตรวจพบเชื้อด้วยวิธี PBCB และ CCM เท่ากับ 15.00% และ 13.33% ตามลำดับ ทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องในระดับสูง (Cohen's Kappa = 0.795) โดยให้ผลตรงกัน 95.00% การย้อมสีแกรมให้ผลบวก 5.00% และมีความสัมพันธ์กับผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี CCM อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.002$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าทั้งสองวิธีให้อัตราการตรวจพบเชื้อที่ใกล้เคียงกันและมีความสอดคล้องสูง การใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันอาจเพิ่มอัตราการตรวจพบเชื้อซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัยและการรักษาที่ทันเวลาที่ การย้อมสีแกรมแม้มีความไวต่ำแต่เมื่อให้ผลบวกจะมีความสัมพันธ์กับผลการเพาะเชื้อควรทำควบคู่กับการเพาะเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม

คำสำคัญ: ภาวะติดเชื้อภายในลูกตา, น้ำวุ้นลูกตา, การเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน, การใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็ก, การย้อมสีแกรม

Corresponding author E-mail: wirongrud@gmail.com

Received: 10 February 2026

Revised: 8 June 2026

Accepted: 10 June 2026

บทนำ

ภาวะติดเชื้อภายในลูกตา (endophthalmitis) เป็นภาวะฉุกเฉินทางจักษุวิทยาที่เกิดการอักเสบอย่างรุนแรงของเนื้อเยื่อภายในลูกตา โดยเฉพาะบริเวณวุ้นตา (vitreous) และน้ำหล่อเลี้ยงลูกตา (aqueous humor)⁽¹⁾ ภาวะนี้มักเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา หรือไวรัส ซึ่งหากไม่ได้รับการรักษาอย่างทันท่วงทีอาจนำไปสู่การสูญเสียการมองเห็นอย่างถาวร ภาวะติดเชื้อภายในลูกตา แบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ ภาวะติดเชื้อจากภายนอก (exogenous endophthalmitis) ซึ่งเกิดจากการผ่าตัด บาดแผลที่ลูกตา หรือการฉีดยาเข้าในลูกตา และภาวะติดเชื้อจากภายใน (endogenous endophthalmitis) เกิดจากการแพร่กระจายของเชื้อโรคผ่านทางกระแสเลือด⁽²⁾ เชื้อก่อโรคที่พบในภาวะติดเชื้อภายในลูกตามีความหลากหลาย โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกพบได้ถึงร้อยละ 93 ในกรณีติดเชื้อหลังการผ่าตัด โดยเฉพาะ Coagulase-negative staphylococci (CNS) พบมากถึงร้อยละ 45 ตามด้วย *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus* spp.⁽³⁾ ในกรณีการติดเชื้อหลังการบาดเจ็บที่ลูกตามักพบเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Staphylococcus* spp.⁽⁴⁾ การวินิจฉัยและรักษาอย่างรวดเร็วมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการรักษาสายตาของผู้ป่วย โดยการตรวจทางจุลชีววิทยาเพื่อระบุชนิดของเชื้อก่อโรคจะนำไปสู่การเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมและเพิ่มโอกาสในการรักษาให้ประสบความสำเร็จ ปัจจุบันการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตา (vitreous fluid) ถือเป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด ได้แก่ blood agar, MacConkey agar, chocolate agar, thioglycolate broth และ sabouraud dextrose agar พร้อมทั้งการย้อมสีแกรม (gram stain) และตรวจหาเชื้อรา (KOH preparation) ซึ่งต้องใช้ปริมาณน้ำวุ้นลูกตาที่เพียงพอ การเก็บตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาทำได้โดยการใช้เข็ม ขนาด 18–20 gauge แทะเข้าไปในลูกตาและดูดของเหลวออกมา ปริมาณการเก็บโดยทั่วไปอยู่ที่ 0.2–0.5 มิลลิลิตร แต่บางครั้งไม่สามารถเก็บได้ตามปริมาณดังกล่าว ขึ้นอยู่กับความหนืดหรือปริมาณน้ำวุ้นลูกตาที่มีอยู่ เนื่องจากการดูดออกมามากเกินไปอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อดวงตาของผู้ป่วย

ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาวิธีการเพาะเชื้อจากของเหลวในร่างกายโดยการประยุกต์ใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือด (blood culture bottles: BCB) พบว่าสามารถเพิ่มอัตราความสำเร็จในการเพาะเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญ เช่น จาก peritoneal dialysis fluid⁽⁵⁾, pleural fluid⁽⁶⁾ และ sterile body fluid อื่นๆ⁽⁷⁾ การศึกษาของ Thariya P และคณะ⁽⁸⁾ ได้นำขวดเพาะเชื้อจากเลือดมาใช้เพาะเชื้อกับน้ำวุ้นลูกตา โดยเป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective) ผลการศึกษาพบว่าขวดเพาะเชื้อจากเลือดให้ผลบวกร้อยละ 90.1 เปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อแบบมาตรฐานที่ได้ร้อยละ 65.56 การศึกษาดังกล่าวใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับผู้ใหญ่ (adult blood culture bottles) ซึ่งต้องการปริมาณตัวอย่างมาก ในขณะที่น้ำวุ้นลูกตาที่เก็บได้มักจะมีปริมาณจำกัด เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว Tanaka T และคณะ⁽⁹⁾ ได้ทำการศึกษาโดยใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กซึ่งเหมาะสมกับปริมาณตัวอย่างที่น้อยกว่า การศึกษานี้เปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อในสองช่วงเวลา ได้แก่ เดือนมกราคม ค.ศ. 2010 ถึง ธันวาคม ค.ศ. 2011 (การเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน จำนวน 20 ราย) และเดือนมกราคม ค.ศ. 2012 ถึง ธันวาคม ค.ศ. 2015 (ขวดเพาะเชื้อสำหรับเด็ก จำนวน 34 ราย) ผลการศึกษาพบว่าขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กให้อัตราการตรวจพบเชื้อที่สูงกว่าวิธีการเพาะเชื้อแบบมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การศึกษานี้มีข้อจำกัดสำคัญ 2 ประการ คือ ประการแรกจำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มค่อนข้างน้อย (รวมเพียง 54 ราย) อาจส่งผลต่อความน่าเชื่อถือและความสามารถในการนำไปใช้กับประชากรกลุ่มใหญ่ ประการที่สองทั้งสองวิธีถูกทดสอบในช่วงเวลาที่ต่างกัน อาจมีปัจจัยรบกวนที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา เช่น ความชำนาญของบุคลากร เทคนิคในการเก็บตัวอย่าง หรือชนิดของเชื้อที่แพร่ระบาดในแต่ละช่วงเวลา นอกจากนี้มีการศึกษาของ Tan HS และคณะ⁽¹⁰⁾ ที่แสดงผลแตกต่างออกไป โดยรายงานว่าอัตราการตรวจพบเชื้อด้วยวิธีมาตรฐานสูงกว่าการเพาะเชื้อด้วยขวดเพาะเชื้อจากเลือดเล็กน้อย แม้ความแตกต่างจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าเมื่อใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันจะให้อัตราการตรวจพบเชื้อเพิ่มขึ้นได้ถึงร้อยละ 81 จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าแม้จะมีการศึกษาในต่างประเทศหลายเรื่อง

แสดงประสิทธิภาพของชุดเพาะเชื้อจากเลือดในการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตา แต่ผลการศึกษายังมีความไม่สอดคล้องกัน และสิ่งที่สำคัญ คือ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตาในประเทศไทยมีจำนวนจำกัดมากทำให้ขาดข้อมูลที่เป็นตัวแทนของประชากรไทย ซึ่งอาจมีลักษณะทางระบาดวิทยาและชนิดของเชื้อก่อโรคที่แตกต่างจากประเทศอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทยที่ใช้ชุดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็ก ซึ่งมีความเหมาะสมกับปริมาณน้ำวุ้นลูกตาที่จำกัด และยังไม่มีการศึกษาแบบ prospective study ที่เปรียบเทียบทั้งสองวิธีพร้อมกันในผู้ป่วยกลุ่มเดียวกันและช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งจะช่วยลดปัจจัยรบกวนและให้ข้อมูลที่แม่นยำมากขึ้น นอกจากนี้การเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบเชื้อแล้ว การศึกษาความสัมพันธ์ (Agreement) ระหว่างผลการเพาะเชื้อทั้งสองวิธีมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการนำไปใช้ในทางคลินิก เนื่องจากหากทั้งสองวิธีให้ผลที่สอดคล้องกันสูง แสดงว่าวิธีใดวิธีหนึ่งสามารถใช้ทดแทนกันได้โดยให้ผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งจะช่วยในการตัดสินใจเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมตามบริบทและทรัพยากรที่มีอยู่ได้ในทางตรงกันข้ามหากพบว่าทั้งสองวิธีให้ผลที่ไม่สอดคล้องกัน อาจบ่งชี้ว่าแต่ละวิธีมีข้อดีในการตรวจพบเชื้อชนิดที่ต่างกันหรือในสภาวะที่ต่างกันอาจแนะนำว่าควรใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน เพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อให้สูงที่สุด ดังการศึกษาของ Tan HS และคณะ⁽¹⁰⁾ พบว่าการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันสามารถเพิ่มอัตราการตรวจพบเชื้อได้ถึงร้อยละ 81 ซึ่งสูงกว่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงอย่างเดียว การทำความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองวิธีจึงมีประโยชน์ต่อการพัฒนาแนวปฏิบัติทางคลินิกที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด

ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาระยะเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตาระหว่างการเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กและการเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน ในผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อภายในลูกตา ณ โรงพยาบาลเมตตาประชารักษ์ (วัดไร่ขิง) เพื่อหาแนวทางในการพัฒนาการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตาให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์

ต่อการรักษาผู้ป่วยได้อย่างทันทั่วทั้งที่และเหมาะสม รวมทั้งช่วยลดความเสี่ยงต่อการสูญเสียการมองเห็น นอกจากนี้ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษายังสามารถนำไปใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการพัฒนาแนวปฏิบัติทางคลินิกในการดูแลผู้ป่วยด้านจักษุวิทยาในประเทศไทยต่อไป โดยการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบเชื้อและศึกษาความสัมพันธ์ของผลการเพาะเชื้อระหว่างการเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กกับการเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน ในผู้ป่วยที่สงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา และศึกษาความสัมพันธ์ของผลการย้อมสีแกรมระหว่างผลการเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กและการเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน

วัสดุและวิธีการ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบไปข้างหน้า (prospective analytical study) เพื่อเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตาระหว่างการเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กและการเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน ในผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อภายในลูกตา โดยทำการศึกษาระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง ตุลาคม พ.ศ. 2567 ณ โรงพยาบาลเมตตาประชารักษ์ (วัดไร่ขิง) จังหวัดนครปฐม

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ศึกษา คือ ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลเมตตาประชารักษ์ (วัดไร่ขิง) ซึ่งมีอาการทางคลินิกสงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา (clinically suspected endophthalmitis) กลุ่มตัวอย่างได้มาโดยวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (purposive sampling)

เกณฑ์การคัดเข้า (inclusion criteria) ดังนี้

- 1) ผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกสงสัยว่ามีภาวะติดเชื้อภายในลูกตา
- 2) ผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อภายในลูกตา (Infectious endophthalmitis) ไม่เกิน 3 สัปดาห์ และมีประวัติการบาดเจ็บในลูกตาหรือการผ่าตัดครั้งก่อน ไม่เกิน 6 สัปดาห์
- 3) ผู้ป่วยมีความคมชัดในการมองเห็นอยู่ที่ระดับ 6/15 หรือแย่กว่า และ
- 4) มีปริมาณน้ำวุ้นลูกตาเพียงพอสำหรับการเพาะเชื้อทั้งสองวิธี (อย่างน้อย 0.2 มิลลิลิตร)

เกณฑ์การคัดออก (exclusion criteria) ผู้ป่วยที่เข้ายาปฏิชีวนะหยอดตาหรือฉีดเข้าลูกตาภายใน 48 ชั่วโมงก่อนการเก็บตัวอย่าง

การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง

การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างอ้างอิงจากการศึกษาของ Thariya P และคณะ⁽⁸⁾ พบว่าสัดส่วนของผลการเพาะเชื้อที่ไม่สอดคล้องกันระหว่างสองวิธีมีค่าร้อยละ 10 และ ร้อยละ 34 โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ (α) = 0.05 และอำนาจการทดสอบ (power) = 80% คำนวณโดยใช้สูตรการเปรียบเทียบค่าสัดส่วนสองกลุ่มที่ไม่เป็นอิสระต่อกัน (two dependent proportions) ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 58 ตัวอย่าง เพิ่มขนาดกลุ่มตัวอย่างอีกร้อยละ 5 เพื่อชดเชยการสูญเสียข้อมูล ดังนั้นขนาดกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด เท่ากับ 61 ราย

เครื่องมือ สารเคมี และอุปกรณ์

แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย รวบรวมข้อมูลทั่วไปของ ผู้ป่วย อาการทางคลินิก ประวัติการรักษา และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

อาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด (blood agar, MacConkey agar, chocolate agar, thioglycolate broth และ sabouraud dextrose agar (BioMedia, Thailand))

การย้อมสีแกรม โดยใช้สีย้อม crystal violet, iodine, decolorizer และ safranin (VC supply lab, Thailand) และตรวจหาเชื้อรา โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 30% (30% KOH) (PN Intermedical Supply, Thailand)

เครื่องตรวจจบบัตินอัตโนมัติ BD BACTEC FX SYSTEM (BD Diagnostics, USA), กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10× และ 40× Olympus (รุ่น CX3, บริษัท Olympus, Japan) และขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็ก (BD BACTEC Peds Plus) (BD Diagnostics, USA)

การเก็บตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตา

ตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาที่ไม่เจือจาง (undiluted vitreous specimens) ถูกเก็บโดยจักษุแพทย์ที่มี

ประสบการณ์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้ออย่างเข้มงวด ผู้ป่วยได้รับการเตรียมด้วยการทำความสะอาดบริเวณตาและรอบตา ตามด้วยการใช้ยาชาเฉพาะที่ (tetracaine hydrochloride 0.5%) (MILLIMED BFS, Thailand) ตัวอย่างที่เก็บได้จะถูกส่งไปยังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทันที ภายในเวลาไม่เกิน 30 นาที โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (20–25°C) ได้ปริมาณประมาณ 0.2–2.0 มิลลิลิตร

วิธีการเพาะเชื้อ

ตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาแต่ละราย แบ่งเป็น 3 ส่วน โดยมีรายละเอียดดังนี้

ส่วนที่ 1 การเพาะเชื้อแบบมาตรฐาน (CCM) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ได้แก่ blood agar สำหรับแบคทีเรียทั่วไป, MacConkey agar สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ, chocolate agar สำหรับแบคทีเรียที่ต้องการปัจจัยเสริม เช่น *Haemophilus* spp. และ *Neisseria* spp., sabouraud dextrose agar สำหรับเชื้อรา และ thioglycolate broth สำหรับเชื้อทั้งแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน ตัวอย่างจะถูกเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ปริมาณ 1 หยด (ประมาณ 0.05 มิลลิลิตร) และบ่มในสภาวะที่เหมาะสม โดยตรวจสอบการเจริญของเชื้อทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าจะพบการเจริญของเชื้อ

ส่วนที่ 2 การเพาะเชื้อด้วยขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็ก (PBCB) ใช้ขวด BD BACTEC Peds Plus ตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในขวดโดยเทคนิคปลอดเชื้อ ปริมาณประมาณ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องตรวจจบบัตินอัตโนมัติ BD BACTEC FX SYSTEM เป็นระบบอัตโนมัติที่ตรวจจบบการเจริญของเชื้อโดยวัดการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์ โดยระบบจะตรวจสอบอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน

ทั้งสองวิธีมีการควบคุมคุณภาพภายในและภายนอกตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาสากล

ส่วนที่ 3 การย้อมสีแกรม โดยตัวอย่างจะถูกหยดลงบนแผ่นสไลด์ ปริมาณ 1 หยด (ประมาณ 0.05 มิลลิลิตร) รอให้แห้งแล้วทำการย้อมสีแกรมตาม protocol และการตรวจเชื้อรา โดยตัวอย่างจะถูกหยดลงบนแผ่นสไลด์

ปริมาณ 1 หยด (ประมาณ 0.05 มิลลิลิตร) หยดน้ำยา สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 30% ปริมาณ 1 หยด แล้วปิดด้วย cover slip นำไปส่องดู ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10× และ 40×

การระบุชนิดเชื้อ

เมื่อพบการเจริญของเชื้อจากทั้งสองวิธีจะทำการ ระบุชนิดเชื้อโดยใช้วิธีการทางจุลชีววิทยามาตรฐาน ประกอบด้วย การสังเกตลักษณะโคโลนี (colony morphology) การย้อมสีแกรม (gram stain) และการทดสอบทางชีวเคมี (biochemical tests) สำหรับ เชื้อจะใช้วิธีการสังเกตลักษณะทางจุลทรรศน์และ ทางกายภาพ

การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ข้อมูลเชิงปริมาณ (quantitative data) นำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation: SD) หรือค่ามัธยฐาน (Median) และ พิสัยควอไทล์ (Interquartile range: IQR) แล้วแต่ การกระจายของข้อมูล ข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative data) นำเสนอเป็นจำนวน (n) ความถี่ และค่าร้อยละ (%)

สถิติเชิงวิเคราะห์ (analytical statistics)
1) การเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบเชื้อระหว่างสองวิธี ใช้สถิติ McNemar χ^2 -test 2) การศึกษาความสัมพันธ์ ของผลการเพาะเชื้อระหว่างสองวิธีใช้สถิติ Cohen's Kappa (K) โดยแปลผลค่า Kappa coefficient ดังนี้ $K < 0.20$ = ความสอดคล้องน้อยมาก (Slight agreement), $K = 0.21-0.40$ = ความสอดคล้องน้อย

(Fair agreement), $K = 0.41-0.60$ = ความสอดคล้อง ปานกลาง (Moderate agreement), $K = 0.61-0.80$ = ความสอดคล้องดี (Substantial agreement) และ $K = 0.81-1.00$ = ความสอดคล้องดีมาก (Almost perfect agreement) กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ p -value < 0.05

จริยธรรมการวิจัย

การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการ จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของโรงพยาบาลเมตตา ประชาภิรักษ์ (วัดไร่ขิง) เลขที่ 006/2567 เมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2567

ผล

ลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง

จากจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่คำนวณได้ คือ 61 ราย แต่พบตัวอย่างมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการตรวจทั้ง สองวิธี 1 ราย ทำให้มีจำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 60 ราย

กลุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วย เพศชาย 35 ราย (คิดเป็นร้อยละ 58.33) และเพศหญิง 25 ราย (คิดเป็น ร้อยละ 41.67) ผลการตรวจทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น พบว่าการย้อมสี Gram stain ให้ผลบวก 3 ราย (คิดเป็นร้อยละ 5.00) และการตรวจ KOH preparation ให้ผลบวก 1 ราย (คิดเป็นร้อยละ 1.67 บ่งชี้ว่าส่วนใหญ่ ของผู้ป่วยมีผลการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์เป็นลบ แม้จะมีอาการทางคลินิกสงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่างและผลการตรวจทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น (N = 60)

ลักษณะพื้นฐาน	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
เพศ		
ชาย	35	58.33
หญิง	25	41.67
ปริมาตรสิ่งส่งตรวจ (ml)	0.44±0.47 Min: 0.20 ml. Max: 2.00 ml.	

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่างและผลการตรวจทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น (N = 60) (ต่อ)

ลักษณะพื้นฐาน	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ผลการตรวจทางจุลชีววิทยาเบื้องต้น		
การย้อมสี Gram stain พบเชื้อ	3 (gram positive cocci in pair)	5.00
การย้อมสี Gram stain ไม่พบเชื้อ	57	95.00
การตรวจ KOH preparation ให้ผลบวก	1 (Septate hyphae)	1.67
การตรวจ KOH preparation ให้ผลลบ	59	98.33
ผลการเพาะเชื้อ		
วิธี CCM ให้ผลบวก	8	13.33
วิธี PBCB ให้ผลบวก	9	15.00

การเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบเชื้อ

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ผลการเพาะเชื้อทั้งสองวิธี พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อได้ทั้งหมด 10 ราย (10/60) คิดเป็นอัตราการตรวจพบเชื้อร้อยละ 16.7 ของจำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 60 ราย ผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี CCM พบการเจริญของเชื้อ 8 ราย คิดเป็นอัตราการตรวจพบเชื้อ ร้อยละ 13.33 ในขณะที่วิธี PBCB พบการเจริญของเชื้อ 9 ราย คิดเป็นอัตราการตรวจพบเชื้อ ร้อยละ 15.00

เมื่อวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างผลการเพาะเชื้อทั้งสองวิธี พบว่ามีผลการเพาะเชื้อที่ให้ผลบวกตรงกันทั้งสองวิธี 7 ราย (7/60) คิดเป็นร้อยละ 11.7 และให้ผลลบตรงกันทั้งสองวิธี 50 ราย (50/60) คิดเป็นร้อยละ 83.3 โดยมีผลการเพาะเชื้อที่ให้ผลไม่สอดคล้องกัน 3 ราย ได้แก่ วิธี CCM ให้ผลบวกแต่วิธี PBCB ให้ผลลบ 1 ราย และวิธี CCM ให้ผลลบแต่วิธี PBCB ให้ผลบวก 2 ราย ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อระหว่างวิธี PBCB และวิธี CCM

วิธีการเพาะเชื้อ	วิธี PBCB ให้ผลบวก	วิธี PBCB ให้ผลลบ	รวม	อัตราผลบวก (%)
วิธี CCM ให้ผลบวก	7	1	8	13.3%
วิธี CCM ให้ผลลบ	2	50	52	-
รวม	9	51	60	15.0%

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์การเปรียบเทียบผลการตรวจเพาะเชื้อทั้งสองวิธี โดยใช้สถิติ McNemar χ^2 -test กำหนดความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างทั้งสองวิธี ($p = 1.00$)

เมื่อวิเคราะห์ความสอดคล้องของผลการเพาะเชื้อระหว่างวิธี CCM และ PBCB พบว่ามีความสอดคล้องที่สังเกตได้ (Observed agreement) ร้อยละ 95.00 โดยทั้งสองวิธีให้ผลลบเหมือนกัน 50 ราย และให้ผลบวกเหมือนกัน 7 ราย มีเพียง 3 ราย ที่ให้ผลไม่ตรงกัน ได้แก่

CCM ให้ผลบวกแต่ PBCB ให้ผลลบ 1 ราย และ CCM ให้ผลลบแต่ PBCB ให้ผลบวก 2 ราย

เมื่อดำเนินการคำนวณค่า Cohen's Kappa coefficient เพื่อประเมินความสอดคล้องโดยหักล้างความสอดคล้องที่เกิดจากโอกาส พบว่าค่า Kappa เท่ากับ 0.795 (95% CI: 0.568–1.021) ซึ่งอยู่ในระดับความสอดคล้องดี (Substantial agreement) ตามเกณฑ์การแปลผลมาตรฐาน แสดงว่าทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันในระดับสูง ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าสถิติ	ผลลัพธ์	การแปลผล
อัตราผลบวกด้วยวิธี PBCB	9/60 = 15.0%	-
อัตราผลบวกด้วยวิธี CCM	8/60 = 13.3%	-
McNemar χ^2 -test	$p = 1.000$	ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)
Cohen's Kappa (K)	$K = 0.795$	Substantial agreement
Observed agreement	95.0%	-

หมายเหตุ: การแปลผลค่า Kappa: < 0.20 = ความสอดคล้องน้อยมาก, $0.21-0.40$ = ความสอดคล้องน้อย, $0.41-0.60$ = ความสอดคล้องปานกลาง, $0.61-0.80$ = ความสอดคล้องดี และ $0.81-1.00$ = ความสอดคล้องดีมาก

การระบุชนิดเชื้อ

จากการศึกษานี้พบว่าเชื้อที่ตรวจพบมากที่สุดในการเพาะเชื้อโดยใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็ก คือ Coagulase-negative Staphylococci พบ 3 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 33.3) รองลงมา คือ *Streptococcus alactolyticus*, *Streptococcus gallolyticus* ssp *pasteurianus*, เชื้อรา (*Thyridium hongkongense*), *Corynebacterium* spp., *Spingomonas* *Pseudomonas paucimobilis*

และ *Microbacterium hominis* พบอย่างละ 1 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 11.1) สำหรับการเพาะเชื้อแบบเดิม พบเชื้อ *S. alactolyticus* มากที่สุด พบ 2 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 25.0) รองลงมา คือ Coagulase negative Staphylococci, *S. gallolyticus* ssp *pasteurianus*, เชื้อรา (*T. hongkongense*), *Corynebacterium* spp., *S. paucimobilis* และ *M. hominis* ซึ่งพบอย่างละ 1 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 11.1) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ชนิดของเชื้อที่ตรวจพบจากการเพาะเชื้อทั้งสองวิธี

ชนิดของเชื้อ	pediatric blood culture จำนวน (ร้อยละ)	4 Conventional culture จำนวน (ร้อยละ)
Coagulase-negative staphylococci (CNS)	3 (33.3)	1 (12.5)
<i>S. alactolyticus</i>	1 (11.1)	2 (25.0)
<i>S. gallolyticus</i> ssp <i>pasteurianus</i>	1 (11.1)	1 (12.5)
Fungus (<i>T. hongkongense</i>)	1 (11.1)	1 (12.5)
<i>Corynebacterium</i> spp.	1 (11.1)	1 (12.5)
<i>S. (Pseudomonas) paucimobilis</i>	1 (11.1)	1 (12.5)
<i>M. hominis</i>	1 (11.1)	1 (12.5)
รวม	9 (100)	8 (100)

ความสัมพันธ์ระหว่างผล Gram stain กับผลการเพาะเชื้อ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผล Gram stain กับผลการเพาะเชื้อ พบว่าการย้อมสี Gram stain ให้ผลบวกทั้งหมด 3 ราย โดยวิธี CCM ให้ผลบวกในการย้อมสี Gram stain 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 100.00 และวิธี PBCB ให้ผลบวกในการย้อมสี Gram stain 2 ราย

คิดเป็นร้อยละ 66.67 ขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่พบว่าการย้อมสี Gram stain ให้ผลลบมีทั้งหมด 57 ราย โดยมี 5 ราย ที่ผลการย้อมสีให้ผลลบ แต่มีการขึ้นเชื้อด้วยวิธี CCM คิดเป็นร้อยละ 8.77 และมี 7 ราย ที่ผลการย้อมสีให้ผลลบแต่มีการขึ้นเชื้อด้วยวิธี PBCB คิดเป็นร้อยละ 12.28 เมื่อทดสอบความสัมพันธ์พบว่า Gram stain มีความสัมพันธ์กับการเพาะเชื้อด้วยวิธี CCM อย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.002$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี PBCB อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.056$) ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่า Gram stain มีความ

จำเพาะสูงแต่มีความไวต่ำในการทำนายผลการเพาะเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับวิธี CCM ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างผลการย้อมสี Gram stain กับผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี CCM และวิธี PBCB

ผลการย้อมสี gram stain	CCM		PBCB	
	ผลลบ จำนวน (ร้อยละ)	ผลบวก จำนวน (ร้อยละ)	ผลลบ จำนวน (ร้อยละ)	ผลบวก จำนวน (ร้อยละ)
ผลบวก ($n = 3$)	0 (0.00)	3 (100.00)	1 (33.33)	2 (66.67)
ผลลบ ($n = 57$)	52 (91.23)	5 (8.77)	50 (87.72)	7 (12.28)
χ^2	20.52		6.61	
p -value	0.002*		0.056	

หมายเหตุ: Chi-square test

ความสัมพันธ์ระหว่างผลทางกล้องจุลทรรศน์กับชนิดของเชื้อที่พบ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์และผลการเพาะเชื้อ โดยในการศึกษาครั้งนี้พบผู้ป่วยที่มีผลการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์เป็นบวกทั้งสิ้น 4 ราย สามารถแบ่งลักษณะที่พบตามผลการย้อมสีและผลการเพาะเชื้อ ดังนี้

ผู้ป่วยรายที่ 1 พบลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์เป็น Gram positive cocci in pair in chain ผลการเพาะเชื้อด้วยทั้งสองวิธีให้ผลบวกสอดคล้องกัน โดยวิธี CCM และ PBCB ต่างให้ผลการเจริญของเชื้อ (growth) และสามารถระบุชนิดเชื้อได้ว่าเป็น *S. alactolyticus*

ผู้ป่วยรายที่ 2 พบลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์เป็น Gram positive cocci in pair อย่างไรก็ตามผลการเพาะเชื้อระหว่างสองวิธีไม่สอดคล้องกัน โดยวิธี CCM ให้ผลการเจริญของเชื้อ (growth) และระบุชนิดเชื้อได้ว่าเป็น *S. alactolyticus* ในขณะที่วิธี PBCB ให้ผลไม่พบการเจริญของเชื้อ (no growth)

ผู้ป่วยรายที่ 3 พบลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์เป็น Gram positive cocci in pair ผลการเพาะเชื้อด้วยทั้งสองวิธีให้ผลบวกสอดคล้องกัน โดยทั้งวิธี CCM

และ PBCB ให้ผลการเจริญของเชื้อและสามารถระบุชนิดเชื้อได้ว่าเป็น Coagulase-negative staphylococci (CNS)

ผู้ป่วยรายที่ 4 พบลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์เป็น Septate hyphae บ่งชี้ถึงการติดเชื้อรา ผลการเพาะเชื้อด้วยทั้งสองวิธีให้ผลบวกสอดคล้องกัน โดยทั้ง CCM และ PBCB ให้ผลการเจริญของเชื้อและสามารถระบุชนิดเชื้อได้ว่าเป็น Fungus (*T. hongkongense*)

ผลการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์แสดงเพียงลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อเบื้องต้น เช่น ชนิดของเชื้อเป็นแกรมบวกหรือแกรมลบและรูปร่างของเชื้อเป็นข้อมูลสำคัญในการวางแผนการรักษาเบื้องต้น ขณะที่การระบุชนิดของเชื้อได้อย่างแม่นยำต้องอาศัยผลการเพาะเชื้อในกรณีที่ผู้ป่วย 1 ราย ที่ได้รับการตรวจ KOH preparation พบผลการเพาะเชื้อด้วย ซึ่งสนับสนุนความสำคัญของการส่งตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ควบคู่กับการเพาะเชื้อเสมอ

ผลการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าผลทางกล้องจุลทรรศน์มีความสัมพันธ์กับผลการเพาะเชื้อในระดับสูง และลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์ที่พบสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกวิธีการรักษาได้ก่อนที่จะได้ผลการเพาะเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างผลทางกล้องจุลทรรศน์กับชนิดของเชื้อที่พบ

ผลการดูทางกล้องจุลทรรศน์	CCM	PBCB	ชื่อเชื้อ
Gram positive cocci in pair in chain	growth	growth	<i>S. alactolyticus</i>
Gram positive cocci in pair	growth	No growth	<i>S. alactolyticus</i>
Gram positive cocci in pair	growth	growth	Coagulase-negative staphylococci (CNS)
Septate hyphae	growth	growth	Fungus (<i>T. hongkongense</i>)

วิจารณ์

จากผลการศึกษาพบว่าอัตราการตรวจพบเชื้อด้วยวิธี PBCB (ร้อยละ 15.00) สูงกว่าวิธี CCM (ร้อยละ 13.33) เล็กน้อย แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 1.00$) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Tan HS และคณะ⁽¹⁰⁾ ที่พบว่าอัตราการตรวจพบเชื้อระหว่างทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน โดยพบว่าวิธี blood culture bottles (BCB) ให้ผลบวกร้อยละ 69 และวิธี conventional media (CM) ให้ผลบวกร้อยละ 72 อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาของ Thariya P และคณะ⁽⁸⁾ และ Tanaka T และคณะ⁽⁹⁾ รายงานว่าการใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือดให้อัตราการตรวจพบเชื้อที่สูงกว่าวิธีเดิมอย่างมีนัยสำคัญ ความแตกต่างของผลการศึกษาอาจเกิดจากหลายปัจจัย การศึกษาของ Thariya P และคณะ⁽⁸⁾ ใช้ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับผู้ใหญ่ (adult blood culture bottles) ซึ่งมีส่วนประกอบและปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างจากขวดเพาะเชื้อสำหรับเด็กที่ใช้ในการศึกษานี้ นอกจากนี้การศึกษานี้ทั้งสองเป็นการศึกษาแบบ retrospective และเปรียบเทียบในช่วงเวลาที่ต่างกัน อาจมีปัจจัยรบกวนต่างๆ เช่น ความชำนาญของบุคลากรเทคนิคในการเก็บตัวอย่าง หรือชนิดของเชื้อที่แพร่ระบาดในแต่ละช่วงเวลา ขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับผู้ใหญ่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ 25–30 มิลลิลิตร และออกแบบมาสำหรับปริมาณตัวอย่างเลือด 3–10 มิลลิลิตร โดยปริมาตรที่เหมาะสมที่สุดอยู่ที่ 8–10 มิลลิลิตร ด้วยปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มาก เมื่อใส่ตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาเพียง 0.1–0.5 มิลลิลิตร อัตราส่วนตัวอย่างต่ออาหารเลี้ยงเชื้อจะต่ำมาก (ประมาณ 1:250–1:300) ซึ่ง

อาจเจือจางจำนวนเชื้อที่มีอยู่น้อยอยู่แล้วจนต่ำกว่าระดับที่ระบบสามารถตรวจจับได้ ในทางตรงกันข้ามขวดเพาะเชื้อจากเลือดสำหรับเด็กบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเพียง 20 มิลลิลิตร และออกแบบมาสำหรับตัวอย่างปริมาณน้อยเพียง 0.5–5.0 มิลลิลิตร โดยปริมาตรที่เหมาะสมที่สุดอยู่ที่ 1–3 มิลลิลิตร เมื่อใส่น้ำวุ้นลูกตาปริมาณ 0.1–0.5 มิลลิลิตร อัตราส่วนตัวอย่างต่ออาหารเลี้ยงเชื้อจะสูงกว่า (ประมาณ 1:40–1:200) ทำให้เชื้อที่มีจำนวนน้อยมีโอกาสเจริญและถูกตรวจพบได้มากกว่า สอดคล้องกับปริมาณน้ำวุ้นลูกตาที่เก็บได้ในการศึกษารั้งนี้ (0.2–2.0 มิลลิลิตร)

อัตราการตรวจพบเชื้อโดยรวมในการศึกษานี้ (ร้อยละ 13.33–15.00) ต่ำกว่าการศึกษาอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด เช่น การศึกษาของ Thariya P และคณะ⁽⁸⁾ พบอัตราการตรวจพบเชื้อ ร้อยละ 65.56–90.1 และการศึกษาของ Tanaka T และคณะ⁽⁹⁾ พบอัตราร้อยละ 35–64.7 สาเหตุที่เป็นไปได้ ได้แก่ 1) เกณฑ์การคัดเข้าของการศึกษานี้ใช้อาการทางคลินิกสงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตาเป็นหลัก ซึ่งอาจรวมผู้ป่วยที่มีภาวะอักเสบที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ (sterile endophthalmitis) เช่น toxic anterior segment syndrome (TASS) หรือ postoperative inflammation 2) ผู้ป่วยบางรายอาจได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บตัวอย่างโดยไม่รายงาน ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ และ 3) ความแตกต่างทางระบาดวิทยาของภาวะติดเชื้อภายในลูกตาในประเทศไทยเมื่อเปรียบเทียบกับประเทศอื่น อย่างไรก็ตามอัตราการตรวจพบเชื้อดังกล่าวใกล้เคียงกับการศึกษาของ Pongsachareonnont P และคณะ⁽¹¹⁾ ที่พบอัตราการตรวจพบเชื้อ ร้อยละ 12.2–36.5 โดย

วิธีเพาะเชื้อแบบมาตรฐานพบเพียงร้อยละ 12.2 เป็นการศึกษาที่อยู่ในภาคกลางของประเทศไทยเช่นเดียวกัน ผลการวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างทั้งสองวิธี พบค่า Cohen's Kappa เท่ากับ 0.795 ซึ่งอยู่ในระดับ substantial agreement แสดงว่าทั้งสองวิธีให้ผลที่สอดคล้องกันในระดับสูง มีความสอดคล้องที่สังเกตได้ (observed agreement) ร้อยละ 95.00 ผลการศึกษานี้ บ่งชี้ว่าทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกันในการตรวจจับเชื้อก่อโรคจากน้ำวุ้นลูกตา อย่างไรก็ตามพบว่า มีผู้ป่วย 3 ราย ที่ให้ผลไม่ตรงกัน ได้แก่ 1 ราย ที่วิธี CCM ให้ผลลบแต่ PBCB ให้ผลลบ และ 2 ราย ที่ CCM ให้ผลลบแต่ PBCB ให้ผลบวก กรณีที่วิธี PBCB ให้ผลลบแต่ CCM ให้ผลบวก อาจเกิดจากการที่ขวดเพาะเชื้อจากเลือดมีปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อมาก (20 ml) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณตัวอย่างที่ใส่เข้าไป (ประมาณ 0.1 ml) อาจทำให้เชื้อจากจำนวนเชื้อมากเกินไป โดยเฉพาะในกรณีที่จำนวนเชื้อต่ำอยู่แล้ว ในทางตรงกันข้ามกรณีที่ CCM ให้ผลลบแต่ PBCB ให้ผลบวกอาจเกิดจากข้อดีของระบบอัตโนมัติที่สามารถตรวจจับการเจริญของเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง และมีความไวในการตรวจจับ CO_2 ที่เกิดจากการเจริญของเชื้อ แม้ว่าจำนวนเชื้อจะน้อยก็ตาม ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับข้อเสนอของ Tan HS และคณะ⁽¹⁰⁾ ที่แนะนำให้ใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันเพื่อเพิ่มอัตราการตรวจพบเชื้อ โดยในการศึกษาดังกล่าวพบว่าการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันสามารถเพิ่มอัตราการตรวจพบเชื้อได้ถึงร้อยละ 81 ซึ่งสูงกว่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงอย่างเดียว

การศึกษานี้พบว่า Gram stain ให้ผลบวกเพียงร้อยละ 5.00 (3 ราย จาก 60 ราย) แม้ว่าผู้ป่วยทั้งหมดจะมีอาการทางคลินิกสงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา อัตราผลบวกที่ต่ำนี้สอดคล้องกับรายงานในวรรณกรรมซึ่งระบุว่า Gram stain มักมีความไวต่ำในการตรวจหาเชื้อจากน้ำวุ้นลูกตาโดยเฉพาะเมื่อจำนวนเชื้อต่ำ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ พบว่า Gram stain มีความสัมพันธ์กับผลการเพาะเชื้อด้วยวิธี CCM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.002$) โดยในผู้ป่วยที่ Gram stain ให้ผลบวกวิธี CCM สามารถตรวจพบเชื้อได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับวิธี PBCB

($p = 0.056$) แม้ว่าจะมีแนวโน้มใกล้เคียง ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากขนาดกลุ่มตัวอย่างที่มี Gram stain บวกมีน้อยเกินไป (เพียง 3 ราย) ทำให้ไม่มีอำนาจทางสถิติเพียงพอที่จะตรวจจับความสัมพันธ์ได้ สิ่งที่น่าสนใจ คือ พบว่ามีผู้ป่วยที่ Gram stain ให้ผลลบแต่การเพาะเชื้อให้ผลบวก ร้อยละ 8.77 สำหรับวิธี CCM และร้อยละ 12.28 สำหรับวิธี PBCB ผลการศึกษานี้เน้นย้ำความสำคัญของการเพาะเชื้อแม้ว่า Gram stain จะให้ผลลบ เนื่องจาก Gram stain มีความไวต่ำและอาจพลาดการตรวจพบเชื้อได้ โดยเฉพาะเมื่อจำนวนเชื้อน้อยหรือเชื้อมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอในตัวอย่าง ข้อดีและข้อเสียของวิธี CCM ข้อดี คือ 1) สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะโคโลนีและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อได้โดยตรง 2) สามารถระบุชนิดของเชื้อได้เร็วกว่าหากเชื้อเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง และ 3) ใช้ได้กับทั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา เนื่องจากมีอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด รวมถึง Sabouraud dextrose agar ข้อเสีย คือ 1) ต้องการปริมาณตัวอย่างมากกว่า เนื่องจากต้องเพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด 2) การตรวจสอบการเจริญของเชื้อต้องทำด้วยมนุษย์ซึ่งอาจพลาดการตรวจพบหากเชื้อเจริญช้าหรือในปริมาณน้อย และ 3) ต้องการบุคลากรที่มีความชำนาญในการสังเกตและระบุโคโลนี วิธี PBCB ข้อดี คือ 1) เป็นระบบอัตโนมัติที่ตรวจจับการเจริญของเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ทำให้ไม่พลาดการตรวจพบแม้เชื้อจะเจริญช้า 2) มีความไวในการตรวจจับ CO_2 ที่เกิดจากการเจริญของเชื้อแม้ว่าจำนวนเชื้อจะน้อย 3) ต้องการปริมาณตัวอย่างน้อยกว่า (ประมาณ 0.1 ml) ซึ่งเหมาะสมกับน้ำวุ้นลูกตาที่มีปริมาณจำกัด และ 4) ลดภาระงานของบุคลากรในการตรวจสอบอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยสายตา ข้อเสีย คือ 1) ต้องการการ subculture เพื่อระบุชนิดเชื้อและทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งอาจใช้เวลานานกว่า และ 2) มีค่าใช้จ่ายสูงกว่าวิธี CCM เนื่องจากต้องใช้ขวดเพาะเชื้อพิเศษและเครื่องตรวจจับอัตโนมัติ

การศึกษานี้มีข้อจำกัดหลายประการที่ควรนำมาพิจารณา คือ อัตราการตรวจพบเชื้อโดยรวมต่ำกว่าที่คาดไว้ (ร้อยละ 13.33–15.00) ทำให้จำนวนผู้ป่วย

ที่มีผลการเพาะเชื้อบวกร้อยน้อย (8-9 ราย) อาจส่งผลต่อความสามารถในการตรวจจับความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสองวิธี การศึกษาที่มีขนาดตัวอย่างใหญ่ขึ้นและมีอัตราการตรวจพบเชื้อสูงกว่าอาจให้ผลที่แตกต่างออกไป นอกจากนี้ไม่ได้ศึกษาระยะเวลาในการตรวจพบการเจริญของเชื้อ (time to detection) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาผู้ป่วยอย่างทันทั่วทั้งที่ ข้อเสนอแนะสำหรับการนำไปใช้ทางคลินิก แม้ว่าทั้งสองวิธีจะให้อัตราการตรวจพบเชื้อที่ใกล้เคียงกัน แต่จากค่า Cohen's Kappa ที่แสดงความสอดคล้องกันในระดับสูง และการที่พบผู้ป่วยบางรายที่วิธีหนึ่งให้ผลบวกแต่อีกวิธีให้ผลลบ แนะนำให้พิจารณาใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันเพื่อเพิ่มอัตราการตรวจพบเชื้อให้สูงที่สุด โดยเฉพาะกรณีที่มีความสงสัยสูงทางคลินิก หากต้องเลือกใช้เพียงวิธีเดียวเนื่องจากข้อจำกัดของทรัพยากร วิธี CCM เป็นทางเลือกที่เหมาะสม เนื่องจากให้ผลใกล้เคียงกับวิธี PBCB แต่มีต้นทุนต่ำกว่าและสามารถเพาะเชื้อราได้ และการย้อมสี Gram stain และ KOH แม้จะมีความไวต่ำ แต่เมื่อให้ผลบวกก็มีความจำเพาะสูง ดังนั้นควรทำ Gram stain และ KOH ควบคู่กับการเพาะเชื้อเสมอ เพื่อให้ข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นประโยชน์ต่อการเริ่มการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะเชิงประจักษ์ สำหรับการวิจัยในอนาคตควรมีการศึกษาที่มีขนาดตัวอย่างใหญ่ขึ้นและเป็นแบบ multicenter เพื่อเพิ่มอำนาจทางสถิติและความสามารถในการนำผลไปใช้กับประชากรกลุ่มใหญ่ ควรศึกษาระยะเวลาในการตรวจพบการเจริญของเชื้อระหว่างทั้งสองวิธี เพื่อประเมินความเร็วในการให้ผลที่จะช่วยในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างทันทั่วทั้งที่ ควรมีการวิเคราะห์ต้นทุนและประสิทธิผล (cost-effectiveness analysis) ระหว่างทั้งสองวิธีรวมถึงการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจในการเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมตามบริบทและทรัพยากรของแต่ละสถานพยาบาล และควรติดตามผลการรักษาของผู้ป่วยเพื่อประเมินผลกระทบของการใช้วิธีการเพาะเชื้อที่แตกต่างกันต่อผลลัพธ์ทางคลินิก

สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเชื้อด้วยวิธี PBCB และ CCM ให้อัตราการตรวจพบเชื้อที่ใกล้เคียงกันและมีความสอดคล้องกันในระดับสูง (Cohen's Kappa = 0.795) ในผู้ป่วยที่สงสัยภาวะติดเชื้อภายในลูกตา แม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสองวิธี แต่การใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันอาจเพิ่มอัตราการตรวจพบเชื้อได้มากขึ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยได้อย่างทันทั่วทั้งที่และเหมาะสม นอกจากนี้การย้อมสี Gram stain แม้จะมีความไวต่ำ แต่เมื่อให้ผลบวกจะมีความสัมพันธ์กับผลการเพาะเชื้อโดยเฉพาะกับวิธี CCM ดังนั้นควรทำ Gram stain ควบคู่กับการเพาะเชื้อเสมอเพื่อให้ข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นประโยชน์ต่อการเริ่มการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะเชิงประจักษ์ อย่างไรก็ตามหากมีข้อจำกัดด้านทรัพยากรและต้องเลือกใช้เพียงวิธีเดียว CCM ยังคงเป็นทางเลือกที่เหมาะสม เนื่องจากมีต้นทุนต่ำกว่า ไม่ต้องการเครื่องตรวจจับอัตโนมัติ สามารถตรวจพบเชื้อราได้ดีโดยไม่ต้องพึ่งชุดเพาะเชื้อพิเศษ และหากสถานพยาบาลมีความพร้อม การใช้ PBCB ร่วมด้วยโดยเฉพาะในกรณีที่มีความสงสัยสูงทางคลินิก ผู้ป่วยได้รับยาปฏิชีวนะก่อนการเก็บตัวอย่าง หรือผล CCM เป็นลบแต่อาการทางคลินิกยังคงบ่งชี้ถึงการติดเชื้อจริง การเพาะเชื้อด้วยวิธี CCM และ PBCB ทั้งสองวิธีร่วมกันจะเป็นแนวทางที่ช่วยเพิ่มโอกาสในการระบุเชื้อก่อโรคและนำไปสู่การรักษาที่เหมาะสมยิ่งขึ้น

การเปิดเผยการใช้ปัญญาประดิษฐ์

มีการใช้ปัญญาประดิษฐ์ Claude (Anthropic, USA) ช่วยในการปรับปรุงการใช้ภาษา การแก้ไขไวยากรณ์ภาษาอังกฤษเพื่อให้มีความถูกต้องมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ พญ.กาญจน์ธิดา จันทน์วิมล นายแพทย์ชำนาญการพิเศษ จักษุแพทย์ โรงพยาบาลเมตตา

ประชากร (วัดไร่ขิง) สาขาจอประสาทตาและวุ้นตา ที่ให้คำปรึกษา และขอขอบคุณ มูลนิธิเมตตาประชากร โรงพยาบาลเมตตาประชากร (วัดไร่ขิง) ในการสนับสนุนทุนงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Vaziri K, Schwartz SG, Kishor K, Flynn HW Jr. Endophthalmitis: state of the art. *Clin Ophthalmol* 2015; 9: 95-108.
- Sadiq MA, Hassan M, Agarwal A, Sarwar S, Toufeeq S, Soliman MK, et al. Endogenous endophthalmitis: diagnosis, management, and prognosis. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2015; 5(1): 32. (11 pages).
- Gower EW, Keay LJ, Stare DE, Arora P, Cassard SD, Behrens A, et al. Characteristics of endophthalmitis after cataract surgery in the United States Medicare population. *Ophthalmology* 2015; 122(8): 1625-32.
- Ahmed Y, Schimel AM, Pathengay A, Colyer MH, Flynn HW Jr. Endophthalmitis following open-globe injuries. *Eye* 2012; 26(2): 212-7.
- van der Vyver JA, Thomas T. Improving peritoneal dialysis fluid culture-positivity yield from 2022 to 2023. *S Afr J Infect Dis* 2024; 39(1): 684. (5 pages).
- Amer AM, Gad MA, El Akhal AA. Inoculation of pleural fluid in blood culture bottles could be a routine practice in pleural infection. *Egypt J Chest Dis Tuberc* 2024; 73(3): 284-9.
- Mengeloglu Z, Tas T, Bucak O, Kocoglu E, Kucukbayrak A. Comparison of classical methods versus BACTEC blood culture system for culture of normally sterile body fluids. *Russ open med J* 2015; 4(4): e0401. (3 pages).
- Thariya P, Yospaiboon Y, Sinawat S, Sanguansak T, Bhoombunchoo C, Laovirojjanakul W. Blood culture bottles are superior to conventional media for vitreous culture. *Clin Exp Ophthalmol* 2016; 44(6): 488-91.
- Tanaka T, Ferreira BFA, Oliveira LMS, Kato JM, Gioia TSRD, Rossi F, et al. Diagnostic value of pediatric blood culture bottles for acute postoperative endophthalmitis. *Clinics* 2019; 74: e837. (4 pages).
- Tan HS, Ghyczy-Carlberg EA, Spanjaard L, de Smet MD. The additional value of blood culture bottles in the diagnosis of endophthalmitis. *Eye* 2011; 25(8): 1069-73.
- Pongsachareonnont P, Honglertnapakul W, Chatsuwat T. Comparison of methods for identifying causative bacterial microorganisms in presumed acute endophthalmitis: conventional culture, blood culture, and PCR. *BMC Infect Dis* 2017; 17(1): 165. (9 pages).

Comparison of Vitreous Culture Results in Patients with Suspected Endophthalmitis Using Pediatric Blood Culture Bottles and Conventional Culture Method at Mettapracharak (Wat Rai Khing) Hospital

Wirongrud Boonruang

Department of Clinical Pathology and Medical Technology, Metta Pracharak (Wat Rai Khing) Hospital, Nakhon Prathom 73210, Thailand

ABSTRACT Endophthalmitis is an ophthalmic emergency that may cause permanent vision loss. Rapid and accurate diagnosis through vitreous culture is crucial for appropriate treatment, but conventional culture methods require large specimen volumes while obtainable vitreous fluid is often limited. This study aimed to compare the detection rates and evaluate the agreement between usage of pediatric blood culture bottle (PBCB) and conventional culture method (CCM) in 60 patients with clinically suspected endophthalmitis. Each sample was cultured using both methods simultaneously, with Gram stain and KOH preparation performed. Detection rates for PBCB and CCM were 15.00% and 13.33%, respectively. Both methods demonstrated substantial agreement (Cohen's Kappa = 0.795) with 95.00% concordance. Gram stain was positive in only 5.00% of cases and showed significant correlation with CCM results ($p = 0.002$). This study demonstrates that both methods provide comparable detection rates with high agreement. Combined use may increase overall detection rates, benefiting timely diagnosis and treatment. Although Gram stain has low sensitivity, positive results correlate with culture outcomes and should always be performed alongside culture methods to provide preliminary information for appropriate antibiotic selection.

Keywords: Endophthalmitis, Vitreous fluid, Conventional culture method, Pediatric blood culture bottles, Gram stain