

7-1-1979

## เปรียบเทียบผลการใช้ยาอาหารไข้สูตร OGAWA และสูตร LOEWENSTEIN-JENSEN ในการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค

ชัยเวช นุชประยูร

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjjournal>



Part of the [Medicine and Health Sciences Commons](#)

---

### Recommended Citation

นุชประยูร, ชัยเวช (1979) "เปรียบเทียบผลการใช้ยาอาหารไข้สูตร OGAWA และสูตร LOEWENSTEIN-JENSEN ในการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 23: Iss. 3, Article 3.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjjournal/vol23/iss3/3>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

# เปรียบเทียบผลการใช้อาหารไข่สูตร Ogawa และสูตร Loewenstein-Jensen ในการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค\*\*

ชัยเวช นุชประยูร\*

*A preliminary comparison of "Loewenstein-Jensen" and "Ogawa" media on routine mycobacterial isolation in 3248 specimens showed that the Ogawa medium, which is easier prepared at cheaper cost, and widely used in a certain area of the world, tended to give positive result less frequently than the former one.*

เป็นที่ยอมรับกันว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคจากเสมหะด้วยอาหารเพาะเชื้อประเภทไข่ นั้นเตรียมง่าย ราคาถูก และใช้ได้ผลดี ในการเพาะเชื้อวัณโรคประจำวัน อาหารเพาะเชื้อประเภทนี้ ประกอบด้วยไข่, กลีเซอรอล และสารละลายเกลือแร่ในฟอสเฟตบีฟเฟอร์ สูตรเหล่านี้มีหลายชนิดและมีความแตกต่างกัน ในส่วนผสมของสารละลายเกลือแร่ เช่น สูตรของ Loewenstein-Jensen (L-J) มีส่วนประ

กอบของสารละลายเกลือแร่ ซึ่งประกอบด้วย asparagine, magnesium citrate, magnesium sulfate และ mono potassium phosphate, ในปัจจุบันสูตร L-J นี้ ยังถือว่าเป็นสูตรมาตรฐานและเป็นที่ยอมรับทั่วไป<sup>(1)</sup> ถึงแม้ว่าต้องใช้เกลือแร่หลายชนิดและราคาแพง จึงได้มีผู้ดัดแปลงสูตร สารละลายเกลือแร่ให้ผสมง่ายยิ่งขึ้น และมีราคาถูกลง สูตรซึ่งง่ายและถูกกว่า L-J สูตรหนึ่งคือ สูตร "Ogawa" ซึ่งนิยม

\* ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสมาคมปราบวัณโรคแห่งประเทศไทย

\*\* งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุน "พระยามโหสวรรค์"

ใช้กันแพร่หลายในประเทศญี่ปุ่น<sup>(3)</sup> มีส่วนประกอบของสารละลายเกลือแร่ ประกอบด้วย mono sodium glutamate (ผงชูรส) กับ mono potassium phosphate

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ ก็เพื่อเปรียบเทียบดูว่าอาหารเพาะเชื้อสูตร Ogawa ซึ่งผสมง่ายและถูกกว่านั้น จะได้ผลทัดเทียมกับสูตร L-J ในการนำมาใช้ในการเพาะเชื้อเป็นประจำวันสำหรับผู้ป่วยของเราหรือไม่

### วัสดุและวิธีการ

การศึกษานี้ กระทำที่หน่วยชันสูตรโรคของสมาคมปราบวัณโรคแห่งประเทศไทย ฯ อาหารเพาะเชื้อสูตร Loewenstein - Jensen (L-J) และสูตร Ogawa ที่ใช้ในการศึกษานี้ เตรียมขึ้นในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทความที่ร้ายการนี้

โดยปกติ การเพาะเชื้อวัณโรคประจำวัน กระทำโดยใช้อาหารเพาะเชื้อ 2 ชนิดอย่างด้วยวิธี swab culture<sup>(4)</sup> ซึ่งมีหลักการโดยย่อคือ ใช้ swab 2 อันกววนเสมหะ แล้วนำมาแช่ใน oxalic acid เพื่อลด contamination จากนั้นทำให้เป็นกลางด้วย sodium citrate แล้วจึงป้ายลงบนอาหารเพาะเชื้อ รายละเอียดของการปฏิบัติมีดังต่อไปนี้

### เครื่องมือ

1. Swab
2. หลอดแก้วขนาด 20×1.50 มม.
3. น้ำยา 5% oxalic acid
4. น้ำยา 5% sodium citrate
5. Racks
6. อาหารเพาะเชื้อ
7. ตู้ฟักอุณหภูมิ 37° เซลเซียส

Swab ทำด้วยไม้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มม. ยาว 6-8 นิ้ว ใช้สำลีพันปลายไม้ข้างหนึ่งให้แน่น (ความยาวของสำลีที่พันปลายไม้ยาวประมาณ 1") นำ Swab ที่ทำเรียบร้อยแล้วใส่กล่องสังกะสีที่มีฝาปิด เรียงเอาปลาย Swab ลงข้างล่างเพื่อความสะดวกในการหยิบใช้ แล้วนำไปนั่งฆ่าเชื้อโรคก่อนที่จะนำมาใช้ในการทดลอง

วิธีทำ เอา Swab ชุบน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว (Sterilized water) แล้วนำไปกวนในภาชนะที่ใส่เสมหะใช้ swab 1 คู่ต่อหนึ่ง specimen แล้วเอา swab นี้ใส่ในหลอดแก้วสะอาดที่หนึ่งแล้ว (1 คู่ต่อหนึ่งหลอด) เรียงไว้ใน racks ซึ่งเรียงหลอดแก้วได้ 2 แถว หลอดแก้วที่ใส่ swab เรียงไว้แถวหน้า เรียงหลอดแก้วที่สะอาดอีกจำนวนหนึ่งไว้แถวหลัง เทน้ำยา Oxalic acid 5% ลงในหลอดแก้วแถวหน้า ซึ่งใส่ swab อยู่ ให้น้ำยาท่วม swab แช่ทิ้งไว้ 25 นาที

ขณะที่คอย swab เข้าให้ครบกำหนด เทน้ายา sodium citrate 5% ลงในหลอดแก้วที่เรียงไว้ แถวหลังประมาณครึ่งหลอด

เมื่อเข้า swab ครบ 25 นาทีแล้ว ก็ยก swab ขึ้นและใส่ลงไปในหลอดแก้วแถวหลัง (ซึ่งมีน้ายา citrate) เข้าทิ้งไว้นาน 10 นาที แล้วนำไปป้ายในอาหารเพาะเชื้อทันที

วิธี inoculate กระทำโดยนำ swab ที่ผ่านการเข้าใน citrate ครบ 10 นาทีแล้ว มาถูบนพื้นหน้าของอาหารเพาะเชื้อ ในการดู swab บนพื้นหน้าของอาหาร หมุน swab ไปด้วยขณะที่ดู และไม่ถูแรงจนอาหารตืดออกมา ใช้ swab 1 อันต่อสารเพาะเชื้อ 1 ขวด และเสมหะจากผู้ป่วยหนึ่งตัวอย่างต่อสารเพาะเชื้อ 1 คู่

นำขวดเพาะเชื้อที่ทำเรียบร้อยแล้ว ใส่ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 37 เซลเซียส

ตรวจการเพาะเชื้อทุกสัปดาห์ เมื่อมีเชื้อขึ้น กระทำการพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อวัณโรค โดยอาศัยคุณสมบัติทางกายภาพและทางชีวเคมีดังต่อไปนี้

- ก. งอกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังสัปดาห์ที่สอง
- ข. นิคม ไม่มีสี และไม่เปลี่ยนสี
- ค. ทดสอบ Niacin ให้ผลบวก
- ง. ทดสอบ Catalase ให้ผลบวกค่า ๆ

จ. ทดสอบ Nitrate reduction ให้ผลบวก

ถ้าไม่มีเชื้อขึ้นเลย ภายหลังสัปดาห์ที่ 8 ไปแล้ว อ่านผลว่าลบ และถ้ามีเชื้อขึ้นปะปนภายใน 8 สัปดาห์ ถือว่าเป็น contamination ในการศึกษานี้กระทำเป็น 2 ช่วง ติดต่อกัน กล่าวคือ ช่วงแรกทำการเพาะเชื้อด้วยอาหารเพาะเชื้อสูตร L-J 2 ขวดต่อหนึ่งตัวอย่าง ในช่วงนี้มีจำนวนทั้งสิ้นรวม 5,458 ตัวอย่าง ช่วงต่อมาทำการเพาะเชื้อด้วยอาหารเพาะเชื้อสูตร L-J หนึ่งขวดควบกับสูตร Ogawa หนึ่งขวดต่อหนึ่งตัวอย่าง ในช่วงหลังนี้มีจำนวนทั้งสิ้น 4,090 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาส่วนใหญ่เป็นเสมหะ ส่วนน้อยเป็นการป้ายจากกล้องเสียง และน้ำจากช่องปอด จากผู้ป่วยซึ่งมารับการตรวจที่คลินิกผู้ป่วยนอก และผู้ป่วยในของโรงพยาบาลสมาคมปราบวัณโรค และจากสถานพยาบาลต่าง ๆ ในกรุงเทพมหานคร

### ผล

ตารางที่ 1 แสดงผลการเปรียบเทียบอัตราผลบวกระหว่างการเพาะเชื้อในช่วงแรก (LJ-LJ) กับการเพาะเชื้อในช่วงหลัง (LJ-Ogawa)

จากจำนวน 5,458 ตัวอย่างซึ่งเพาะเชื้อใน LJ-LJ นั้น ปรากฏว่ามี contamination ทั้งสองขวด ทำให้อ่านผลไม่ได้ 282 ราย เหลือจำนวนที่อ่านผลได้ 5,176 ราย ในจำนวน 5,176 รายนี้ ปรากฏมีเชื้อขึ้นในขวดใดขวดหนึ่งหรือทั้งสองขวด ซึ่งรายงานได้ว่าบวกรวมจำนวน 783 ราย คิดเป็นอัตราบวกร้อยละ 15.13

จากจำนวน 4,090 ตัวอย่าง ซึ่งทำการเพาะเชื้อในอาหารเพาะเชื้อ LJ-Ogawa นั้น ปรากฏว่ามี contamination ทั้งสองขวดซึ่งทำให้อ่านผลไม่ได้ 338 ราย คงเหลือจำนวนที่อ่านผลได้ 3,752 ราย ในจำนวนนี้ ปรากฏมีเชื้อขึ้นในขวดใดขวดหนึ่งหรือทั้งสองขวด ซึ่ง

**ในจำนวน 3,248 ตัวอย่างปรากฏว่า**

ผลบวกทั้ง LJ และ Ogawa	337	ราย =	ร้อยละ 10.38
ผลลบทั้ง LJ และ Ogawa	2,712	„ =	ร้อยละ 83.50
LJ +, Ogawa -	121	„ =	ร้อยละ 3.72
LJ -, Ogawa +	78	„ =	ร้อยละ 2.4
รวม LJ+ ทั้งหมด	458	„ =	ร้อยละ 14.10
รวม Ogawa + ทั้งหมด	415	„ =	ร้อยละ 12.78

ความแตกต่างระหว่างอัตราบวกรวมใน LJ (ร้อยละ 14.10) กับอัตราบวกรวมใน Ogawa (ร้อยละ 12.78) มีความสำคัญทางนัยสถิติ ( $\chi^2 = 8.77; p < 0.01$ ) ซึ่งแปลผลได้ว่าอัตราบวกรวมใน LJ นั้น สูงกว่าใน ogawa

รายงานได้ว่าบวกรวม 607 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.18

อัตราบวกรวมระหว่าง LJ-LJ (ร้อยละ 15.13) กับ LJ-Ogawa (ร้อยละ 16.18) นี้ ถือได้ว่าไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.10$ )

ตารางที่ 2 แสดงผลการเปรียบเทียบอัตราบวกรวมระหว่างการใช้อาหารเพาะเชื้อสูตร LJ กับสูตร Ogawa ซึ่งกระทำในช่วงที่สอง

จากจำนวน 4,090 ตัวอย่างซึ่งได้ป้ายลงในอาหารเพาะเชื้อ LJ และ Ogawa อย่างละขวดนั้น ปรากฏมี contamination ในขวดใดขวดหนึ่ง หรือทั้งคู่ ซึ่งต้องตัดออกเพราะอ่านผลไม่ได้เป็นจำนวน 842 ตัวอย่าง เหลือเพียง 3,248 ตัวอย่างที่จะนำมาเปรียบเทียบ

**วิจารณ์**

การตรวจหาเชื้อวัณโรคโดยวิธีเพาะเชื้อ นับว่าเป็นขั้นตอนสำคัญ ไม่เพียงแต่จะช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยโรคเท่านั้น ยังมีประโยชน์ในการทดสอบการต้านยาด้วย เป็น

ที่หวังว่าสูตรอาหารที่ดี ควรจะเป็นสูตรที่  
เตรียมง่าย ราคาถูก และให้อัตราผลบวกสูง  
ประเด็นของการศึกษานี้ ก็เพื่อที่ว่า สูตร  
Ogawa ซึ่งเตรียมง่ายและราคาถูกกว่าสูตร LJ  
นั้นจะให้อัตราผลบวกสูง ทัดเทียมหรือดีกว่าสูตร  
LJ หรือไม่ เพราะหากให้อัตราผลบวกสูงทัดเทียม  
กันหรือสูงกว่าก็จะเป็นสูตรที่น่าจะนำมาใช้  
อย่างยิ่งสูตรหนึ่ง การศึกษานี้ไม่ได้ครอบคลุม  
ถึงประเด็นอื่นเป็นต้นว่าสูตร Ogawa จะช่วย  
เร่งการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรคที่ทัดเทียม  
กับ LJ หรือไม่ ทั้งไม่ได้ตั้งใจจะเปรียบเทียบ  
คู่อัตรา contamination ระหว่างสูตรอาหาร  
ทั้งสอง เมื่อเปรียบเทียบคู่อัตราผลบวกระหว่าง  
ช่วงที่ใช้สูตรอาหาร LJ-LJ กับช่วงที่ใช้ LJ-  
ogawa จะเห็นได้ว่าช่วง LJ-ogawa มีอัตรา  
บวกสูงกว่าช่วง LJ-LJ เล็กน้อย ซึ่งเมื่อ  
คำนวณหาความสำคัญทางสถิติแล้ว ไม่ปรากฏ

ความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ และถึงแม้  
ว่าการศึกษาดังกล่าวจะแสดงความแตกต่างกัน  
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ก็ยังไม่อาจสรุปได้ว่า  
สูตรใดสูตรหนึ่งดีกว่ากัน ทั้งนี้เพราะเป็นการ  
เปรียบเทียบในช่วงเวลาต่างกัน ซึ่งอาจจะมี  
การกระจายของผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรค  
แตกต่างกันกล่าวคือช่วงใดมีผู้ป่วยขั้น far  
advanced มากก็อาจพบอัตราบวกได้มากกว่า  
ส่วนการเปรียบเทียบอัตราบวก ซึ่ง  
ทดสอบจากตัวอย่างเดียวกันในอาหาร 2 ชนิด  
พอจะช่วยยืนยันได้ชัดเจนว่า สูตร LJ นั้น  
ให้อัตราผลบวกมากกว่าสูตร Ogawa อย่างมีนัย  
สำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจสรุปได้ว่าสูตร Ogawa  
นั้น ไม่ดีเท่ากับสูตร LJ แต่เนื่องจากเป็นสูตร  
ที่เตรียมง่าย จึงอาจใช้แทนสูตร LJ ได้เมื่อ  
จำเป็น

## ตารางที่ 1

## Comparison LJ-LJ vs LJ-Ogawa

	LJ-LJ	LJ-Ogawa	Total
Total inoculation	5,458	4,090	9,528
Contamination both slopes	282	338	620
Culture excluding contamination	5,176	3,752	8,928
Reported positive (growth on either one)	783	607	1390
% positive	15.13	16.18	15.57

$$\chi^2 = 1.75 \quad p > 0.10$$

## ตารางที่ 2

เปรียบเทียบระหว่างสูตร LJ กับสูตร Ogawa  
จากตัวอย่างเดียวกัน

Total paired inoculation	4,090
Contamination (either LJ, or ogawa or both)	842
Uncontaminated specimen	3,248
Total LJ positive	458
Total ogawa positive	415

		OGAWA		
		+	-	TOTAL
LJ	+	337 (10.38)	121 (3.72)	458 (14.10)
	-	78 (2.40)	2,712 (83.50)	2,790 (85.90)
	Total	415 (12.78)	2,833 (87.22)	3,248 (100)

$$( ) \text{ ร้อยละ } \chi^2 = 8.77 \quad p < 0.01$$

### บทผนวก

#### LOEWENSTEIN-JENSEN MEDIUM<sup>(2)</sup>

##### Basic solution

Asparagine	3.6	g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> anhydrous	2.4	g.
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.24	g.
Mg-citrate	0.6	g.
Glycerol	12	ml.
Distilled water to	600	ml.

Warm to dissolve the salts. Autoclave at 150 lbs for 15 min. Cooled to 56° C. Add 1,000 ml. well beaten eggs and 20 ml. of 2% aqueous solution of malachite green. Distribute it into McCartney bottle and inspissate the medium in a slanting position at 90° C. for 1 hour.

#### OGAWA MEDIUM (1%)<sup>(3)</sup>

##### Basic solution

Sodium glutamate	5	g.
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> anhydrous	5	g.
Distilled water to	500	ml.

1,000 ml. of well beaten eggs, 30 ml. of glycerol and 30 ml. of 2% malachite green are added. Mix the mixture well. Distribute it into McCartney bottles. Inspissate the medium in a slanting position at 90° C. for 1 hour.

### อ้างอิง

1. Kubica, G.P., Gross, W.M., Hawkins, J.E., Sommer, H.M., Vestal, A.L, and Wayne, L.G.: Laboratory Service for Mycobacterial Diagnosis, Amer. Rev. Resp. Dis. 112:773-788, 1975
2. Lennette, E.H, Spaulding, E.H., Truant, J.P.: Manual of clinical microbiology, 2nd Ed. Amer. Soc. Microbiol. Washington DC. 1974, p. 908



3. Tsugamura, M : Identification of mycobacteria. Tubercle 48 : 311–337, 1967
4. ไชยกาล, ป, เปรียบเทียบผลการเพาะหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะโดยวิธี Concentration และวิธี Swab, จุลชีววิทยาสาร 5 : 13, 2504