การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการ

Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infection

เอนก ภู่ทอง*,

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Anek Pootong*

Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University,

Rangsit Centre, Klong Nueng, Khlong Luang, PathumThani 12120

บทคัดย่อ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) เป็นภาวะติดเชื้อจุลชีพหนึ่งที่พบได้บ่อย จุลชีพก่อโรคส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่พบได้ในลำไส้ โดยเฉพาะ *Escherichia coli* ซึ่งมีแนวโน้มการดื้อต่อยาปฏิชีวนะมากขึ้น การวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะโดยอาศัยอาการทางคลินิกเพียงอย่างเดียวอาจมีความผิดพลาด ส่งผลให้มีการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะโดยไม่จำเป็นและก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของแบคทีเรียตามมา การตรวจการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการโดยอาศัยกระบวนการทางจุลทรรศน์ศาสตร์และการเพาะเชื้อรวมทั้งการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ (urine culture and antimicrobial susceptibility test) สามารถเพิ่มความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยการติดเชื้อดังกล่าวได้ ทำให้การวางแผนการรักษาของแพทย์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ, การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

Abstract

Urinary tract infection (UTI) is the most common infection. Most causative pathogens are member of Enterobacteriaceae found in gastrointestinal tract, especially *Escherichia coli*. Furthermore, there is an increasing of antimicrobial resistance among these pathogens. The diagnosis of UTI solely based on clinical symptom may be uncorrected, leading to inappropriate antimicrobial treatment and inducing antimicrobial resistance of bacteria. Including the laboratory diagnosis such as microscopic examination, urine culture and

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** Tae0047@gmail.com

antimicrobial susceptibility test of probable pathogen could enhance sensitivity and specificity of UTI diagnosis and efficiency of treatment.

Key words: urinary tract infection, laboratory diagnosis

1. บทนำ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection, UTI) เป็นการติดเชื้อจุลชีพที่พบได้บ่อย และมีอุบัติการณ์สูงเป็นอันดับต้นของการติดเชื้อในโรงพยาบาล (healthcare associated infection, HAI) [1] ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าค่าใช้จ่ายในระบบการดูแลสุขภาพที่เกี่ยวข้องกับ UTI มีมูลค่าสูงประมาณ 1.6 พันล้านดอลล่าห์ต่อปี [2] การวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะได้อย่างรวดเร็วและถูกต้องนั้นสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ และการเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อได้ [3] การใช้ข้อมูลจากการซักประวัติหรืออาการแสดงของผู้ติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะเพียงอย่างเดียว มีความไวเพียง 80 % จึงอาจให้ผลการวินิจฉัยที่ผิดพลาดได้ [4] บางกรณี ผู้ติดเชื้ออาจมีอาการแสดงที่แตกต่างไป เช่น ผู้ที่มีภาวะ neutropenia มักตรวจไม่พบเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ [5] การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาภาวะการติดเชื้อดังกล่าวด้วยเทคนิคทางจุลทรรศนศาสตร์คลินิก (clinical microscopy) และจุลชีววิทยาคลินิก (clinical microbiology) โดยการเพาะเชื้อและการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อก่อโรค (urine culture and antimicrobial susceptibility test) สามารถช่วยเพิ่มความถูกต้องและความแม่นยำในการตรวจวินิจฉัยรวมทั้งการวางแผนการรักษาของแพทย์ให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น [4]

2. เชื้อสาเหตุการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะส่วนใหญ่มีสาเหตุจากแบคทีเรียที่พบได้ในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะ *E. coli* รองลงมาเป็น *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. และ *Enterococcus* และพบมีแนวโน้มการดื้อต่อสารต้านจุลชีพมากยิ่งขึ้น [6] สำหรับเชื้อรา พบ *Candida* spp. เป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะได้ประมาณ 4.6-10.5 % (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เชื้อจุลชีพก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ

Uropathogens	Prevalence (%)	References
Escherichia coli	31.0 - 81.7	7-12
Proteus spp.	4.4 - 7.4	8, 9,11,12
Klebsiella spp.	4.0 - 20.8	8-12
Enterobacter spp.	1.2 - 2.4	8, 11
Pseudomanas spp.	1.6 - 8.8	8-10
Staphylococcus saprophyticus	0.3	9, 11
Enterococcus spp.	3.2 - 10.2	8-12
Candida spp.	4.6 -10.5	7, 9, 10

นอกจากนี้ การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะยังมีสาเหตุจากการติดเชื้อปรสิต เช่น

Trichomonas vaginalis [13] และไวรัสได้เช่นกัน เช่น Adenovirus และ Cytomegalovirus [14]

3. การเก็บและนำส่งตัวอย่างปัสสาวะเพื่อการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

3.1 วิธีการเก็บปัสสาวะเพื่อเพาะเชื้อ มี 3 วิธี ได้แก่ การเก็บปัสสาวะช่วงกลาง (cleaned-void midstream urine) การเจาะจากกระเพาะปัสสาวะโดยตรง (suprapublic aspiration) และการเก็บปัสสาวะจากสายสวนปัสสาวะ (catheterized urine)

3.1.1 การเก็บปัสสาวะช่วงกลาง เป็นตัวอย่างปัสสาวะที่พบได้บ่อย เนื่องจากผู้ป่วยสามารถเก็บตัวอย่างปัสสาวะได้ด้วยตัวเอง แต่การเก็บด้วยวิธีนี้ น้ำปัสสาวะไหลผ่านระบบทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย จึงอาจปนเปื้อนเชื้อประจำถิ่นได้ การเก็บปัสสาวะช่วงกลางจึงจำเป็นต้องทำความสะอาดบริเวณปลายเปิดของท่อปัสสาวะก่อน โดยเฉพาะในผู้ป่วยหญิง สำหรับผู้ป่วยชาย จากการศึกษาของ Lipsky และคณะ [15] พบว่าปัสสาวะที่เก็บเพื่อการเพาะเชื้อจากผู้ป่วยชายที่ทำและไม่ทำความสะอาดบริเวณปลายเปิดของท่อปัสสาวะก่อน มีผลการเพาะเชื้อที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม การแนะนำให้ผู้ป่วยเก็บปัสสาวะด้วยวิธีที่ถูกต้องนั้นสามารถลดการปนเปื้อนจุลชีพประจำถิ่นได้ โดยในเพศชายให้ทำความสะอาดบริเวณส่วนหัวขององคชาต (glans penis) สำหรับเพศหญิง ให้ทำความสะอาดอวัยวะเพศภายนอก (vulva) ด้วยน้ำสบู่ ซับให้แห้งด้วยสำลีปลอดเชื้อในทิศทางจากหน้าไปหลัง 2-3 ครั้ง จากนั้นให้ผู้ป่วยถ่ายปัสสาวะเป็นสาย โดยปล่อยช่วงแรกทิ้งไป จากนั้นจึงนำภาชนะปากกว้างที่ปราศจากเชื้อรองน้ำปัสสาวะช่วงกลาง (midstream urine) ให้ได้ปริมาตรประมาณ 5-10 มิลลิลิตร (ml) ปิดฝาให้สนิทก่อนนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

3.1.2 การเจาะจากกระเพาะปัสสาวะโดยตรง เป็นวิธีการเก็บตัวอย่างปัสสาวะซึ่งมักใช้กับผู้ป่วยที่ไม่สามารถเก็บปัสสาวะได้เอง เช่น เด็กที่มีอายุน้อยกว่า 1 ปี หรือผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด anaerobe ในระบบทางเดินปัสสาวะ นอกจากนี้ยังใช้ในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากผู้ป่วยที่มีการเพาะเชื้อจากการเก็บปัสสาวะช่วงกลางที่มีผลการเพาะเชื้อไม่แน่นอน การเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีนี้ แพทย์เป็นผู้เก็บตัวอย่างโดยใช้เข็มเจาะลงไปในกระเพาะปัสสาวะของผู้ป่วยและดูดปัสสาวะขึ้นมาโดยตรง

3.1.3 การเก็บปัสสาวะจากสายสวนปัสสาวะ ในกรณีที่ผู้ป่วยที่คาสายสวนปัสสาวะ (indwelling catheter) อยู่แล้ว การเก็บปัสสาวะต้องเก็บจากสายสวนที่อยู่ใกล้ตัวผู้ป่วยมากที่สุด หลังจากทำความสะอาดสายสวนด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อแล้ว เจาะดูดปัสสาวะจากสายสวนด้วยเข็มและกระบอกฉีดยาปลอดเชื้อ ห้ามเก็บจากถุงเก็บปัสสาวะ (urine collection bag) เพราะอาจมีการเจริญเติบโตของเชื้อภายในถุง ซึ่งจะทำให้แปลผลการทดสอบผิดได้ นอกจากนี้ปัสสาวะอาจเก็บจากการสวนปัสสาวะเป็นครั้งคราว (intermittent catheterization) ซึ่งเป็นการสอดใส่สายสวนปราศจากเชื้อผ่านทางท่อปัสสาวะเข้าสู่กระเพาะปัสสาวะเพื่อระบายน้ำปัสสาวะออกจากกระเพาะปัสสาวะ โดยทั่วไปไม่แนะนำวิธีนี้ เพราะเป็นการเสี่ยงในการชักนำให้ผู้ป่วยเกิดการติดเชื้อ การเก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีนี้มักใช้ในผู้ป่วยที่มีปัญหาการควบคุมการถ่ายปัสสาวะ และผู้ป่วยเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ที่ไม่สามารถเก็บปัสสาวะได้เอง ทั้งนี้ การใช้ตัวอย่างปัสสาวะจากถุงเก็บปัสสาวะของผู้ป่วยเด็กนั้น

พบการปนเปื้อนแบคทีเรียสูงถึง 7.5-36.8 % [16,17]

การเก็บสิ่งส่งตรวจปัสสาวะเพื่อการตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะโดยการเพาะเชื้อ (urine culture) ต้องกระทำด้วยวิธีที่ถูกต้องและเหมาะสม ภาชนะที่ใช้เก็บปัสสาวะต้องปลอดเชื้อ (sterile container) การปนเปื้อนจากเชื้อประจำถิ่นหรือจากภาชนะอาจทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้ นอกจากนี้การเก็บปัสสาวะสำหรับเพาะเชื้อควรกระทำก่อนได้รับยาปฏิชีวนะเสมอ เพราะการเก็บปัสสาวะหลังได้รับยาปฏิชีวนะ อาจทำให้ผลการเพาะเชื้อเป็นลบปลอมได้

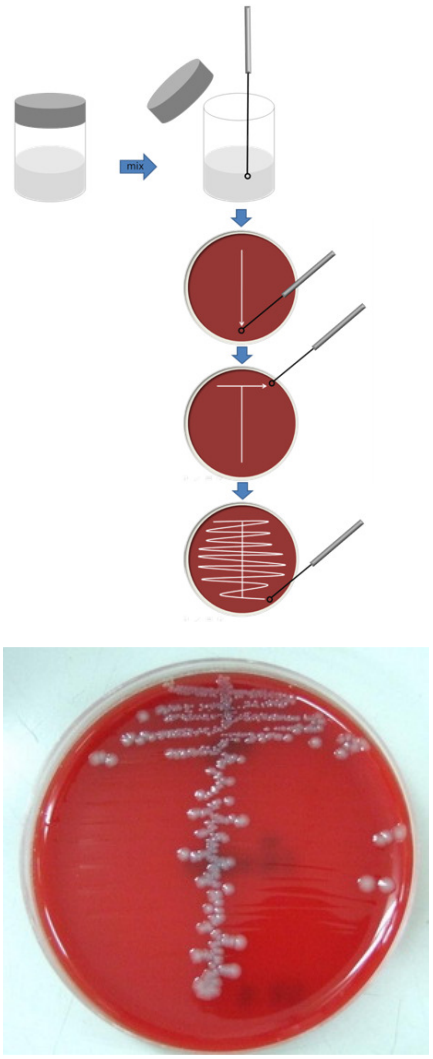
3.2 การนำส่งสิ่งส่งตรวจและการเก็บรักษา

ปัสสาวะที่เก็บได้ควรมีปริมาตรประมาณ 5-10 ml และต้องนำส่งห้องปฏิบัติการและทำการเพาะเชื้อในทันที (รูปที่ 1) เพราะหากตั้งทิ้งไว้เป็นเวลานานเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างปัสสาวะสามารถเพิ่มจำนวนขึ้นได้มากกว่า 10^5 colony forming unit (cfu)/ml [18-20] ทำให้ผลการทดสอบไม่สอดคล้องกับภาวะที่พบในผู้ป่วย จึงมีการแนะนำให้ทำการเพาะเชื้อภายในเวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง หลังการเก็บปัสสาวะจากผู้ป่วย หรือหากไม่สามารถเพาะตรวจได้ในทันที ควรเก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส (°C) หรืออาจใช้สารรักษาสภาพ (preservative) เช่น boric acid-glycerol-sodium formate เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง [21,22]

4. การตรวจการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการ

4.1 การตรวจคัดกรอง (screening method)

ปัจจุบันการวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะด้วยการตรวจคัดกรอง ได้แก่ การตรวจหาแบคทีเรียในปัสสาวะด้วยการย้อมสี การตรวจตะกอนปัสสาวะ การทดสอบไนไตรต์ การทดสอบเอนไซม์ลิวโคไซต์เอสเทอเรส ซึ่งผลการทดสอบจะเป็นข้อมูลสำหรับแพทย์เพื่อใช้ในรักษาผู้ป่วยเบื้องต้น โดยบางรายการตรวจมิได้เป็นการทดสอบในงานประจำ แต่ทดสอบเมื่อมีการร้องขอจากแพทย์เท่านั้น เช่น การตรวจหาแบคทีเรียในปัสสาวะและตะกอนปัสสาวะด้วยการย้อมสีแกรม



รูปที่ 1 การเพาะเชื้อจากตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้ลูปเทียบมาตรฐาน และการเจริญของแบคทีเรียบน blood agar

4.1.1 การตรวจหาแบคทีเรียในปัสสาวะด้วยการย้อมสีแกรม (uncentrifuged urine-gram stained smear) โดยหยดปัสสาวะที่เขย่าให้เข้ากันดีแล้ว จำนวน 1 หยด ลงบนสไลด์โดยไม่ต้องกระจายตัวอย่าง หลังจากตัวอย่างแห้งแล้ว จึงย้อมสีแกรม ทำการตรวจสไลด์อย่างน้อย 20 oil power field (OPF) จากการศึกษาพบว่าการตรวจหาแบคทีเรียในปัสสาวะที่ความเข้มข้น $\geq 10^5$ cfu/ml ด้วย uncentrifuged urine-gram stained smear มีความไว (sensitivity) ประมาณ 86-96 %โดยพบแบคทีเรียเฉลี่ย ประมาณ ≥ 1 cell/OPF (ตารางที่ 2) แม้ผลการทดสอบด้วยวิธีนี้ทำให้แพทย์ทราบถึงชนิดของเชื้อที่อาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะและสามารถให้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะในเบื้องต้นได้ (empirical antimicrobial treatment) [23] แต่การทดสอบนี้อาจให้ผลการทดสอบเป็นบวกปลอม (false positive) ได้ หากตัวอย่างปัสสาวะที่เก็บได้นั้นมีการปนเปื้อนเชื้อประจำถิ่นหรือตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของ gram stained smear ในการตรวจภาวะ bacteriuria ($\geq 10^5$ cfu/ml) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อ

Specimens	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV[1] (%)	NPV[2] (%)	References
Uncentrifuged urine	86-96	75-99	59-98	80-99	24, 25
Centrifuged urine	92-100	8-94	7-77	98-100	26-28

[1]PPV= Positive predictive value, [2]NPV= Negative predictive value

ตารางที่ 3 เซลล์และ cast ที่พบในปัสสาวะซึ่งบ่งถึงภาวะต่าง ๆ ของระบบทางเดินปัสสาวะ [30]

ลักษณะที่พบ	ภาวะ
Cell	
WBCs	Urinary tract infection or inflammation
RBCs	Urinary tract infection or inflammation, Calculi or neoplasia
Eosinophils	Acute interstitial nephritis
Squamous epithelial cell	Contamination of specimen
Casts	
Hyaline	Normal finding in concentrated urine
Granular	Renal parenchymal disease (non-specific)
Red blood cell	Glomerulonephritis, vasculitis
White blood cell	Interstitial nephritis, pyelonephritis
Epithelial cell	Acute tubular necrosis, interstitial nephritis, glomerulonephritis

4.1.2 การตรวจตะกอนปัสสาวะ (urine analysis/urinalysis, UA) โดยนำตัวอย่างปัสสาวะปริมาตร 10 ml ปั่นตกตะกอนเซลล์ หลังจากเทน้ำปัสสาวะทิ้ง เขย่าตะกอนในน้ำปัสสาวะส่วนที่เหลือค้าง แล้วหยดตะกอนปัสสาวะ ประมาณ 1-2 หยด ตรวจหาเซลล์ร่างกาย ได้แก่ เม็ดเลือดขาว (white blood cell, WBC) เม็ดเลือดแดง (Red blood cell, RBC) และเซลล์เยื่อบุ (epithelial cell) เป็นต้น เชื้อจุลชีพ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และปรสิต ผลึก (crystal) และ cast ชนิดต่าง ๆ การตรวจพบเซลล์เม็ดเลือดขาวในปัสสาวะจำนวนมาก (pyuria) หรือพบเม็ดเลือดขาวเกาะกลุ่ม (WBC clumping) บ่งชี้ถึงการติดเชื้อที่เกิดในระบบทางเดินปัสสาวะ การตรวจพบ white blood cell cast บ่งบอกถึงการติดเชื้อที่กรวยไต (pyelonephritis) (ตารางที่ 3) การพบแบคทีเรียจำนวนมากในตะกอนปัสสาวะบ่งถึงการมีเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะ (bacteriuria) ได้ แต่การตรวจพบ squamous epithelial cell จำนวนมากในปัสสาวะ บ่งถึงการปนเปื้อนของตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องร้องขอตัวอย่างปัสสาวะใหม่

นอกจากนี้ ยังสามารถย้อมตะกอนปัสสาวะด้วยสีแกรม (centrifuged urine-gram stained smear) เพื่อใช้ตรวจหาและจำแนกชนิดของแบคทีเรียเบื้องต้นได้ โดยเฉพาะในกรณีที่พบปัสสาวะเป็น pyuria แต่ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลชีพ (sterile pyuria) ซึ่งอาจมีสาเหตุจาก เชื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อและหรือในสภาวะการเพาะเชื้อสำหรับแบคทีเรียทั่วไปได้ เช่น microaerophilic และ anaerobic bacteria นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากแบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญจากยาปฏิชีวนะที่ผู้ป่วยได้รับ

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของการทดสอบ leukocyte esterase และ nitrite ในการตรวจภาวะ bacteriuria ($\geq 10^5$ cfu/ml) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อ

Test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	References
Leukocyte esterase	52.0-73.5	58.5-85.0	33.0-38.0	88.8-91.0	33, 34
Nitrite	30.0-66.2	78.7-98.0	38.0-78.2	86.8-93.5	29, 33, 34, 39
Leukocyte esterase and nitrite	21.0-82.3	96.0-98.4	45.0-93.6	88.0- 94.8	34, 40
Leukocyte esterase and/or nitrite	57.0-79.6	56.5-81.0	33.0-33.8	90.9-91.0	33, 34

4.1.3 การทดสอบไนไตร (nitrite test) หรือเรียกว่า Greiss test เป็นตรวจหา nitrite ซึ่งไม่พบในปัสสาวะปกติ แต่ nitrate reductase จากแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งบางชนิด จะเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน nitrate ในปัสสาวะเป็น nitrite ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยการใช้แถบทดสอบปัสสาวะ (urine strip) การทดสอบนี้มีความจำเพาะ (specificity) ในการตรวจการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะประมาณ 98 % แต่มี sensitivity เพียง 44.9 % [29] (ตารางที่ 4) ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จากสาเหตุหลายประการ เช่น แบคทีเรียที่อยู่ในปัสสาวะไม่สร้าง nitrate reductase ตัวอย่างปัสสาวะมี urobillinogen หรือ ascorbic acid ปริมาณมาก นอกจากนี้ ยังพบว่าปัสสาวะที่เจือจางมากเกินไป (diluted urine) สามารถให้ผลลบปลอมได้ จึงมีการแนะนำให้ใช้ปัสสาวะที่เก็บในตอนเช้า (first morning urine) หรือปัสสาวะที่ไม่มีการขับถ่ายก่อนการเก็บ

ประมาณ 4 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ปัสสาวะที่มีความเข้มข้นของ nitrite สูงขึ้น [30]

4.1.4 การทดสอบเอนไซม์ลิวโคไซต์เอสเทอเรส (leukocyte esterase) ของ WBC ในปัสสาวะเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และราคาถูก เนื่องจากแถบทดสอบ leukocyte esterase มีใน urine strip ทั่วไป ผลการทดสอบที่เป็นบวกแสดงถึง pyuria โดยการทดสอบ leukocyte esterase มี sensitivity ในการตรวจปัสสาวะที่มี WBC ที่ความเข้มข้น >10 cell/mm^3 สูงถึง 88-94 % [31,32] และมี sensitivity และ specificity ในการตรวจ bacteriuria ประมาณ 52-73.5 % และ 58.5-85 % ตามลำดับ [33,34] (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตาม การทดสอบนี้ให้ผลลบปลอมกับปัสสาวะที่มี ascorbic acid โปรตีน และยาปฏิชีวนะบางชนิดที่ความเข้มข้นสูงได้ ได้แก่ cephalosporin และ tetracycline เป็นต้น [30]

4.2 การเพาะแยกเชื้อจากปัสสาวะและการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

4.2.1 การเพาะแยกเชื้อจากปัสสาวะจัดเป็นวิธีมาตรฐาน (standard method) สำหรับวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โดยมีความสำคัญในการวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบ (recurrent UTI) หรือมีการรักษาล้มเหลว หรือเป็นผู้ป่วยติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะชนิดซับซ้อน อย่างไรก็ตาม การเพาะแยกเชื้อจากปัสสาวะอาจไม่จำเป็นในการวินิจฉัยผู้ป่วยติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะชนิดไม่ซับซ้อน (uncomplecated UTI) [35, 36] ผลการเพาะเชื้อที่ได้ นอกจากบ่งชี้ถึงภาวะการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะแล้ว ยังทำให้ทราบถึงชนิดและความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียก่อโรค เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพได้เจาะจง ซึ่งสามารถลดโอกาสของการเกิดเชื้อดื้อยาได้

เนื่องจากแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบ่งตัวรวดเร็ว เจริญได้ง่าย (non-fastidious bacteria) และพบเป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ อาหารที่ใช้ในการเพาะเชื้อจากปัสสาวะจึงประกอบด้วย 2 ประเภท คือ (1) enriched media ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารครบถ้วน ได้แก่ blood agar (BA) ใช้เพาะเลี้ยงแบคทีเรียกับยีสต์ และ (2) selective and differential media ได้แก่ MacConkey agar ในบางห้องปฏิบัติการอาจใช้ cysteine lactose electrolyte deficient (CLED) agar ซึ่งสามารถยับยั้งการแผ่ (swarm) ของเชื้อ *Proteus* spp. ได้ [37]

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการนิยมใช้ลูปเทียบมาตรฐาน (calibrated loop/standard loop method) ปริมาตร 1 หรือ 10 ไมโครลิตร (µl) ในการเพาะเชื้อโดยการเพาะเชื้อจากปัสสาวะที่ได้มาจากการสวนและจากการเจาะกระเพาะปัสสาวะอาจใช้ลูปเทียบมาตรฐานปริมาตร 10 µl เนื่องจากตัวอย่างปัสสาวะทั้ง 2 ประเภท มักมีเชื้อในปริมาณน้อย โดยหลังจากเขย่าตัวอย่างปัสสาวะให้เข้ากันดีแล้ว จุ่มลูปเทียบมาตรฐานลงไปในแนวตั้งฉากแค่พอท่วมและขีด (streak) ลงบน blood agar (รูปที่ 1) จากนั้นทำซ้ำเช่นเดียวกันบน MacConkey หรือ CLED agar แล้วจึงนำไปบ่มที่ 35-37 °C จนครบ 48 ชั่วโมง [38] และจำแนกชนิดและนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแต่ละชนิดที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.2.2 การแปลผลการเพาะเชื้อจากปัสสาวะ การพบเชื้อก่อโรคแท้ (true pathogens) เช่น *Salmonella* spp., *Burkholderia pseudomallei* ใน

ตัวอย่างปัสสาวะ ถือว่าเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะเสมอ

สำหรับตัวอย่างปัสสาวะที่เก็บมาด้วยการสวนปัสสาวะและการเจาะกระเพาะปัสสาวะโดยตรง เป็นตัวอย่างที่มีโอกาสการปนเปื้อนเชื้อประจำถิ่นได้น้อย ดังนั้นการพบเชื้อที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^2 cfu/ml สามารถบ่งถึงการเป็นเชื้อก่อโรคอย่างมีนัยสำคัญ [41]

สำหรับตัวอย่างปัสสาวะช่วงกลาง การพบเชื้อชนิดเดียวกันกับเชื้อประจำถิ่น จำนวน 1 ชนิด ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^3 cfu/ml บ่งถึงการปนเปื้อนเชื้อประจำถิ่นบริเวณปลายเปิดของท่อปัสสาวะหรืออวัยวะเพศขณะเก็บปัสสาวะ แต่หากพบที่ความเข้มข้น $\geq 10^5$ cfu/ml ถือว่าเชื้อดังกล่าวอาจเป็นเชื้อก่อโรค (possible pathogen) และมีนัยสำคัญที่บ่งชี้ถึงภาวะการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ [35,42,43] ซึ่งเกณฑ์ดังกล่าวนี้ได้ถูกนำไปใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะในผู้ป่วยหญิงที่มีภาวะไตอักเสบเฉียบพลัน (acute pyelonephritis) ผู้ป่วยหญิงที่ไม่มีอาการแสดงแต่มีผลการเพาะเชื้อซ้ำแล้วพบชนิดและจำนวนของเชื้อไม่แตกต่างกัน และในผู้ป่วยทั่วไป อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยที่มีการอุดตันของทางเดินปัสสาวะ การคาสายสวนปัสสาวะ การได้รับสารต้านจุลชีพ และผู้ป่วยที่มีปัสสาวะเจือจางจากการได้รับสารน้ำปริมาณจำนวนมาก รวมถึงผู้ป่วยที่มีอาการท่อปัสสาวะอักเสบเฉียบพลัน (acute urethral syndrome) บางรายอาจตรวจพบแบคทีเรียได้น้อยกว่า 10^5 cfu/ml [42] ดังนั้น ในปัจจุบันจึงใช้เกณฑ์การวินิจฉัยที่ความเข้มข้น $\geq 10^4$ cfu/ml แต่อาจต้องทำการตรวจซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดสอบ หากพบทั้งชนิดและความเข้มข้นของเชื้อไม่แตกต่างไปจากเดิม แสดงว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อก่อโรค แต่หากมีความเข้มข้นของเชื้อลดลงและหรือเป็นชนิดใหม่ เชื้อดังกล่าวอาจเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ปนเปื้อนในตัวอย่างปัสสาวะ

การพบเชื้อประจำถิ่นเจริญในตัวอย่างปัสสาวะช่วงกลาง จำนวน 2-3 ชนิด เชื้อก่อโรค (possible pathogen) จะพิจารณาจากความเข้มข้นประกอบกับความโดดเด่นของเชื้อ (predominant number) ตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 5 แต่หากพบเชื้อประจำถิ่นเจริญเท่ากับ 3 ชนิด และมีความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน ถือว่าตัวอย่างปัสสาวะดังกล่าวมีการปนเปื้อนเชื้อประจำถิ่น ซึ่งเกิดจากการเก็บปัสสาวะด้วยวิธีที่ไม่เหมาะสม ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องแจ้งให้แพทย์ทราบและขอตัวอย่างปัสสาวะที่มีการเก็บเหมาะสมเพื่อทำการทดสอบใหม่ อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วยบางกลุ่มอาจตรวจพบการติดเชื้อหลายชนิดพร้อมกันได้ เช่น ผู้ป่วยที่มีการอุดกั้นของทางเดินปัสสาวะ การคาสายสวนปัสสาวะ

4.2.3 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ทำการทดสอบและแปลผลความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อก่อโรคหรือที่คาดว่าเป็นเชื้อก่อโรค (probable pathogen) โดยมักใช้แนวทางของ clinical laboratory standard Institute (CLSI) [44]

4.2.4 รายงานผลการเพาะเชื้อจากปัสสาวะ หลังจากบ่มที่ 35-37 °C จนครบ 48 ชั่วโมง หากไม่พบการเจริญของเชื้อ รายงานผลการทดสอบว่า “No growth after 48 hours” หรือ “No growth after 2 days” ในกรณีที่มีเชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การรายงานผลการวิเคราะห์ประกอบด้วยชนิดของเชื้อและความเข้มข้นของเชื้อแต่ละชนิดในหน่วยของ cfu/ml รวมทั้งผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อก่อโรค

ตารางที่ 5 ตัวอย่างการแปลและรายงานผลการเพาะแบคทีเรียจากปัสสาวะ

No. of organism (s)	Bacterial concentration (cfu/ml)	Examination and report	Interpretation
1	$\geq 10^5$	ID & AST	Probable pathogen
	10^4	ID & AST	Probable pathogen
	$< 10^3$	ID	Contaminant
2	Each $\geq 10^5$	ID & AST	Probable pathogen
	Predominant organism ($\geq 10^5$)	ID & AST	Probable pathogen
	Another $< 10^5$	ID	Contaminant
	Each $< 10^5$	ID	Contaminant
3	Predominant organism ($\geq 10^5$)	ID & AST	Probable pathogen
	Other $< 10^5$	ID	Contaminant
	Equal number	Mix organism	Contaminant

ID = identification, AST = antimicrobial susceptibility test

5. สรุป

การตรวจทางห้องปฏิบัติการสามารถช่วยให้การวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะมีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น โดยผลการเพาะเชื้อจากปัสสาวะที่จัดเป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะจะถูกต้องและน่าเชื่อถือได้นั้น ต้องเริ่มจากการเก็บและการนำส่งตัวอย่างปัสสาวะ รวมทั้งการดำเนินการเพาะเชื้อที่เหมาะสม นอกจากนี้ การระบุชนิดของตัวอย่างปัสสาวะก็มีความสำคัญเช่นเดียวกัน เนื่องจากตัวอย่างปัสสาวะแต่ละชนิดมีแนวทางการแปลผลที่แตกต่างกัน ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์จึงจำเป็นต้องได้รับความร่วมมือจากทีมแพทย์และพยาบาลในการระบุชนิดปัสสาวะ เพื่อให้การแปลและการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อก่อโรคกระทำได้อย่างเหมาะสม และส่งผลให้การวางแผนการรักษาผู้ป่วยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Danchaivijitr, S., Judaeng, T., Kakanang, S., Naksawas, S. and Plipat, T., 2007, Prevalence of nosocomial infection in Thailand 2006, J. Med. Assoc. Thai. 90: 1524-1529.

[2] Foxman, B., 2002, Epidemiology of urinary tract infections: Incidence, morbidity and economic costs, Am. J. Med. 113: 5-13.

[3] Graham, J.C. and Galloway, A., 2001, ACP best practice No. 167: The laboratory diagnosis of urinary tract infection, J. Clin. Pathol. 54: 911-919.

[4] Schmiemann, G., Kniehl, E., Gebhardt, K., Matejczyk, M.M. and Hummers-Pradier, E., 2010, The diagnosis of urinary tract infection: A systematic review, Dtsch. Arztebl. Int. 107: 361-367.

[5] Klaassen, I.L., de Haas, V., van Wijk, J.A., Kaspers, G.J., Bijlsma, M. and Bökenkamp, A., 2011, Pyuria is absent during urinary tract infections in neutropenic patients, Pediatr. Blood Cancer 56: 868-870.

[6] Baral, P., Neupane, S., Marasini, B.P., Ghimire, K.R., Lekhak, B. and Shrestha, B., 2012, High prevalence of multidrug resistance in bacterial uropathogens from Kathmandu, Nepal. BMC Res. Notes. 19: 38.

[7] Johansen, T.E., Cek, M., Naber, K.G., Stratchounski, L., Svendsen, M.V. and Tenke, P., 2006, PEP and PEAP-Study Investigators: Board of the European Society of Infections in urology, hospital acquired urinary tract infections in urology departments: Pathogens, susceptibility and use of antibiotics, Data from the PEP and PEAP-Studies, Int. J. Antimicrob. Agents. 28: 91-107.

[8] Ipek, I.O., Bozaykut, A., Arman, D.C. and Sezer, R.G., 2011, Antimicrobial resistance patterns of uropathogens among children in Istanbul, Turkey, Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 42: 355-362.

[9] Habte, T.M., Dube, S., Ismail, N. and Hoosen, A.A., 2009, Hospital and community isolates of uropathogens at a tertiary hospital in South Africa, S. Afr. Med. J. 99: 584-587.

[10] Khan, S.W. and Ahmed, A., 2001, Uropathogens and their susceptibility pattern: A retrospective analysis, J. Pak. Med. Assoc. 51: 98-100.

[11] Gaspari, R.J., Dickson, E., Karlowsky, J. and Doern, G., 2005, Antibiotic resistance trends in paediatric uropathogens, Int. J. Antimicrob. Agents. 26: 267-271.

[12] Andreu, A., Alós, J.I., Gobernado, M., Marco, F., de la Rosa, M. and García-Rodríguez, J.A., 2005, Etiology and antimicrobial susceptibility among uropathogens causing community-acquired lower urinary tract infections: A nationwide surveillance study, Enferm. Infect. Microbiol. Clin. 23: 4-9.

[13] Garber, G.E., 2005, The laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis*, Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. 16: 35-38.

[14] Paduch, D.A., 2007, Viral lower urinary tract infections, Curr. Urol. Rep. 8: 324-335.

[15] Lipsky, B.A., Inui, T.S., Plorde, J.J. and Berger, R.E., 1984, Is the clean-catch midstream void procedure necessary for obtaining urine culture specimens from men ?, Am. J. Med. 76: 257-262.

[16] Etoubleau, C., Reveret, M., Brouet, D., Badier, I., Brosset, P., Fourcade, L., Bahans, C., Garnier, F., Blanc, P. and Guigonis, V., 2009, Moving from bag to catheter for urine collection in non-toilet-trained children suspected of having urinary tract infection: A paired comparison of urine cultures, J. Pediatr. 154: 803-806.

[17] Li, P.S., Ma, L.C. and Wong, S.N., 2002, Is bag urine culture useful in monitoring urinary

tract infection in infants ?, J. Paediatr. Child Health. 38: 377-381.

[18] Jefferson, H., Dalton, H.P., Escobar, M.R. and Allison, M.J., 1975, Transportation delay and the Microbiological quality of clinical specimens, Am. J. Clin. Pathol. 64: 689-693.

[19] Hindman, R., Tronic, B. and Bartlett, R., 1976, Effect of delay on culture of urine., J. Clin. Microbiol. 4: 102-103.

[20] Wheldon, D.B. and Slack, M., 1977, Multiplication of contaminant bacteria in urine and interpretation of delayed culture, J. Clin. Pathol. 30: 615-619.

[21] Clarridge, J.E., Johnson, J.R. and Pezzlo, M.T., 1998, Cumitech 2B: Laboratory diagnosis of urinary tract infections, Washington, DC. American Society for Microbiology.

[22] Lauer, B.A., Reller, L.B. and Mirrett, S., 1979, Evaluation of preservative fluid for urine collected for culture, J. Clin. Microbiol. 10: 42-45.

[23] Najar, M.S., Saldanha, CL. and Banday, K.A., 2009, Approach to urinary tract infections, Indian J. Nephrol. 19: 129-139.

[24] Carroll, K.C., Hale, D.C., von Boerum, D.H., Reich, G.C., Hamilton, L.T. and Matsen, J.M., 1994, Laboratory evaluation of urinary tract infections in an Ambulatory Clinic, Am. J. Clin. Pathol. 101: 100-103.

[25] Cardoso, C.L., Muraro, C.B., Siqueira, V.L.D. and Guilhermetti, M., 1998, Simplified technique for detection of significant bacteriuria by microscopic examination of urine, J. Clin. Microbiol. 36: 820-823.

[26] Goswitz, J.J., Willard, K.E., Eastep, S.J., Shanholtzer, C.J., Olson, M.L., Pinnell, M., Singleton, T. and Peterson, L.R., 1993, Utility of slide centrifuge Gram's stain versus quantitative culture for diagnosis of urinary tract Infection, Am. J. Clin. Pathol. 99: 132-136.

[27] Winquist, A.G., Orrico, M.A. and Peterson, L.R., 1997, Evaluation of the cytocentrifuge Gram stain as a screening test for bacteriuria in specimens from specific patient populations, Am. J. Clin. Pathol. 108: 515-524.

[28] McNair, R.D., MacDonald, S.R., Dooley, S.L. and Peterson, L.R., 2000, Evaluation of the centrifuged and Gram-stained smear, urinalysis and reagent strip testing to detect asymptomatic bacteriuria in obstetric patients, Am. J. Obstet. Gynecol. 182: 1076-1079.

[29] James, G.P., Paul, K.L. and Fuller, J.B., 1978, Urinary nitrite and urinary-tract infection, Am. J. Clin. Pathol. 70: 671-678.

[30] Patel, H.P., 2006, The abnormal urinalysis, Pediatr. Clin. N. Am. 53: 325-337.

[31] Kusumi, R.K., Grover, P.J., Kunin, C.M., 1981, Rapid detection of pyuria by leukocyte esterase activity, JAMA 245: 1653-1655.

[32] Pezzlo, M.T., Wetkowski, M.A., Peterson, E.M. and de la Maza, L.M., 1985, Detection of bacteriuria and pyuria within two minutes, J. Clin. Microbiol. 21: 578-581.

[33] Taneja, N., Chatterjee, S.S., Singh, M., Sivapriya, S., Sharma, M. and Sharma, S.K., 2010, Validity of quantitative unspun urine microscopy, dipstick test leucocyte esterase and nitrite tests in rapidly diagnosing urinary tract infections, J. Assoc. Physicians India 58: 485-487.

[34] Schwartz, D.S. and Barone, J.E., 2006, Correlation of urinalysis and dipstick results with catheter-associated urinary tract infections in surgical ICU patients, Intensive Care Med. 32: 1797-1801.

[35] Kass, EH., 1957, Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract, Arch. Intern. Med. 100: 709-714.

[36] Wing, D.A., Park, A.S., DeBugue, L. and Millar, LK., 2000, Limited clinical utility of blood and urine cultures in the treatment of acute pyelonephritis during pregnancy, Am. J. Obstet. Gynecol. 182: 1437-1441.

[37] Fallon, D., Andrews, N., Frodsham, D., Gee, B., Howe, S., Iliffe, A., Nye, K.J. and Warren, R.E., 2002, A comparison of the performance of cystine lactose electrolyte deficient (CLED) agar with oxoid chromogenic urinary tract infection (CUTI) medium for the isolation and presumptive identification of organisms from urine, J. Clin. Pathol. 55: 524-529.

[38] Murray, P.R., Traynor, P. and Hopson, D., 1992, Evaluation of microbiological processing of urine specimens: Comparison of overnight versus two-day incubation, J. Clin. Microbiol. 1600: 567-570.

[39] Mava, Y., Ambe, J.P., Bello, M., Watila, I. and Pius, S., 2011, Evaluation of the nitrite test in screening for urinary tract infection in febrile children with sickle cell anaemia in Maiduguri-Nigeria, Niger. Med. J. 52: 45-48.

[40] Smalley, D.L. and Dittmann, A.N., 1983, Use of leucocyte esterase-nitrate activity as predictive assays of significant bacteriuria, J. Clin. Microbiol. 18: 1256-1257.

[41] Stark, R.P. and Maki, D.G., 1984, Bacteriuria in the catheterized patient: What quantitative level of bacteriuria is relevant ?, N. Engl. J. Med. 311: 560-564.

[42] Stamm, W.E., Counts, G.W., Running, K.R., Fihn, S., Turc, M. and Holmes, K.K., 1982, Diagnosis of coliform infection in acutely dysuric women, N. Engl. J. Med. 307: 463-468.

[43] Kass, E.H., 1956, Asymptomatic infections of the urinary tract, Trans. Assoc. Am. Phys. 69: 56-63.

[44] Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A10, 10th Ed., Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.