



**EFFICIENCY OF STORAGE SPUTUM IMPREGNATED ON FILTER PAPER AT ROOM TEMPERATURE FOR 5 DAYS BEFORE CULTURE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS**

ORNNIPA PATOOMKAEW

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH) MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES

**With compliments**  
of  
ผู้จัดทำวิทยานิพนธ์ ผ. วนิดา

IN  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
1996

TH  
074.2  
1996

ชื่อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพการเก็บเสมหะบนกระดาษกรองที่อุณหภูมิต่ำระยะเวลา 5 วันก่อนนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค
ผู้วิจัย	อรนิภา ปทุมแก้ว
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดต่อ
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	อัญชลี ดันต์ศุภศิริ, M.Sc., (Micro.) ฉวีวรรณ บุญสุยา, M.S.P.H. (Bios.) สมศักดิ์ เจริญทอง, M.Sc. (Med. Micro.)
วันสำเร็จการศึกษา	30 กันยายน พ.ศ. 2539

### บทคัดย่อ

วัณโรคได้กลับมาเป็นปัญหาสาธารณสุข เนื่องจากมีการเพิ่มจำนวนผู้ป่วยและการแพร่ระบาดของการดื้อยาหลายชนิดขึ้นมาใหม่ ความล่าช้าในการเตรียมเสมหะก่อนการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นสาเหตุของการปนเปื้อน การบดเน่าและถูกละเลย การศึกษาที่หวังจะช่วยแก้ปัญหา จึงได้ศึกษากับเสมหะที่ตรวจพบเชื้อโดยการย้อมเชื้อและตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ในครั้งแรก จำนวน 150 ตัวอย่าง โดยเสมหะ 1 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 4 ส่วนเท่ากัน รวมเป็น 600 ตัวอย่างที่ต้องเตรียมตัวอย่างและเพาะบนอาหาร Lowenstein-Jensen โดยส่วนที่ 1 และ 2 เก็บโดยวิธีกล่องพลาสติกที่วันแรกและ 5 วันที่อุณหภูมิต่ำ ส่วนที่ 3 และ 4 เก็บโดยวิธีกระดาษกรองที่วันแรกและ 5 วันที่อุณหภูมิต่ำ ตามลำดับ

อัตราการตรวจพบเชื้อวัณโรคเมื่อเก็บโดยวิธีกระดาษกรองและเพาะเลี้ยงเชื้อทันทีจะให้ผลบวก (96.0%) สูงกว่าวิธีเก็บโดยกล่องพลาสติก (90.6%) อย่างไรก็ตามที่เก็บ 5 วันที่อุณหภูมิต่ำ ทั้ง 2 วิธี ให้อัตราการตรวจพบเชื้อเท่ากัน (44.7%) เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างวิธีการเก็บทั้ง 2 วิธีที่วันแรกและ 5 วัน วิธีเก็บโดยกระดาษกรองไม่พบการปนเปื้อนด้วยเชื้ออื่น แต่เก็บโดยวิธีกล่องพลาสติกพบอัตราปนเปื้อน 0.7% และ 3.3% ที่วันแรกและ 5 วันที่อุณหภูมิต่ำ

เปรียบเทียบอัตราการตรวจพบเชื้อวัณโรค โดยแบ่งตามผลเสมียร์และผลเพาะเลี้ยงเชื้อระหว่างวิธีการเก็บทั้ง 2 วิธี พบว่า กลุ่มที่ให้ผลย้อมเสมียร์ 1+ ผลเพาะเชื้อบวกส่วนใหญ่อยู่ที่ grading โดไลน์ 1+ ซึ่งพบได้เหมือนกันทั้ง 2 วิธี ทั้งที่วันแรกและ 5 วัน กลุ่มที่ให้ผล

ย้อมสเมียร์ 2+ ผลเพาะเชื้อบวกล้วนใหญ่อยู่ที่ grading โคโลนี 3+ และ 4+ ซึ่งพบได้เหมือนกันทั้ง 2 วิธีที่วันแรก เมื่อเก็บไว้ 5 วัน การเก็บโดยกล่องพลาสติกให้ผลเพาะเชื้อบวกล้วนใหญ่ที่ grading โคโลนี 1+ ส่วนการเก็บโดยกระดาษกรอง ให้ผลส่วนใหญ่ที่ grading โคโลนี 3+ กลุ่มที่ให้ผลย้อมสเมียร์ 3+ ผลบวกล้วนเชื้อส่วนใหญ่อยู่ที่ grading โคโลนี 3+ และ 4+ ทั้ง 2 วิธี ที่วันแรกและ 5 วัน อัตราการตรวจหาเชื้อวัณโรคโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อในแต่ละสัปดาห์ ส่วนใหญ่พบมากในสัปดาห์ที่ 3 และค่อยๆ ลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 8 อย่างไรก็ตามวิธีเก็บโดยกระดาษกรอง 5 วัน อัตราพบเชื้อสูงขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 5

เนื่องจากการเก็บเสมหะไว้นานถึง 5 วัน ทั้ง 2 วิธีให้อัตราการตรวจพบเชื้อวัณโรคต่ำโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ จึงแนะนำว่าไม่ควรเก็บเสมหะที่อุณหภูมิห้องนานเกินกว่า 5 วัน และการศึกษาที่คาดหวังว่าการเก็บตัวอย่างเสมหะโดยกระดาษกรอง 3 วัน จะให้ผลเพาะเลี้ยงเชื้อบวกล้วนสูงเช่นเดียวกับที่เก็บโดยวิธีกล่องพลาสติก อย่างไรก็ตาม การเก็บโดยกระดาษกรองมีข้อดีคือ ไม่มีการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเชื้อ สะดวกในการเตรียมตัวอย่างก่อนการเพาะเชื้อ และการส่งเสมหะทางไปรษณีย์

<b>Thesis Title</b>	Efficiency of Storage Sputum Impregnated on Filter Paper at Room Temperature for 5 Days before Culture of <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<b>Name</b>	Ornipa Patoomkaew
<b>Degree</b>	Master of Science (Public Health) major in Infectious Diseases
<b>Thesis Supervisory Committee</b>	Unchalee Tansuphasiri, M.Sc., (Micro.) Chaweewon Boonshuyar, M.S.P.H. (Bios.) Somsak Rienthong, M.Sc. (Med. Micro.)
<b>Date of Graduation</b>	30 September B.E. 2539 (1996)

### ABSTRACT

Tuberculosis has become an important reemerging disease of major public health problems because of increasing of new tuberculosis cases and outbreak of multiple drug resistant strains. The delay of sputum for culture may cause some contamination, bad smelling and those specimens will be rejected. This study was conducted to solve these problems. In this study, a total of 150 smear-positive sputum was divided into 4 aliquots, giving totally 600 samples for processing and cultivation on Lowenstein-Jensen medium. The first and the second aliquots were placed into the plastic cup in order to storage for the first day of collection specimens (day 0) and 5 days storage at room temperature (day 5), while the third and the fourth aliquots were impregnated on filter paper in order to storage for day 0 and day 5, respectively.

The positivity rates of *M. tuberculosis* at day 0 when storage the sputum specimens by the filter paper method and then culture (96.0%) were higher than those storage by the cup method (90.6%). However, for 5 days storage at room temperature both methods gave equal positivity rates (44.7%). Nevertheless, there

was no significant difference between both storage methods at day 0 and day 5. Contaminated cultures were unable to detect when storage by the filter paper method at both days, but 0.7% and 3.3% of contaminated cultures were detected at day 0 and day 5 respectively when storage sputum in cup.

Comparison of the positivity rates of *M. tuberculosis* as classified by smear results and by culture between the two storage methods showed that the group of smear results 1+, mostly the culture results belonged to grading colonies as 1+ when storage by either method at day 0 and day 5; the group of smear results 2+, most of culture results belonged to grading colonies 3+ and 4+ when storage by either method; however when storage for 5 days most of positive culture results were grading colonies 1+ for cup method and 3+ for filter paper method; the group of smear results 3+, most of positive culture results belonged to grading colonies of 3+ or 4+ when storage by either method at both day 0 and day 5. Most of weekly positivity rates of *M. tuberculosis* by culture when storage sputum either in cup or on filter paper at both day 0 and day 5 were found in week 3 and then gradually decreased until week 8. However, the same sputum when storage on filter paper for 5 days gave high positivity rate again in week 5.

Since sputum which had been stored for 5 days by both methods gave rather low positivity rates for culture. This suggested that the storage of sputum specimens at room temperature should not exceed 5 days. The storage for 3 days by the filter paper method is expected to give high positivity culture rates as suggested by the cup method. However, the advantage of the filter paper method was non contaminated cultures, convenient for processing sample before culture examination and for sending to the mail.