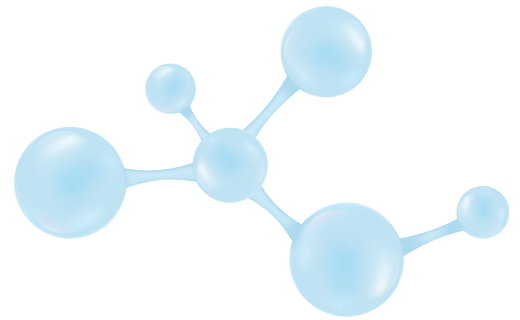




กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences



คู่มือมาตรฐาน ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

ทางการแพทย์และสาธารณสุข



2560

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

คู่มือ

มาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
ทางการแพทย์และสาธารณสุข

คู่มือ

มาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ทางการแพทย์และสาธารณสุข

จัดทำโดย

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

88/7 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

โทร. 0-2589-9850-8, 0-2951-0000-11

E-mail: thainih@dmasc.mail.go.th

ISBN 978-616-11-3642-0

พิมพ์ที่

บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด

158/3 ซ.ยาสูบ 1 ถ.วิภาวดีรังสิต แขวงจอมพล เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

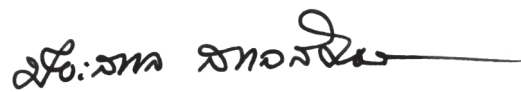


คำนิยาม

การติดยาต้านจุลชีพเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญที่ต้องได้รับการจัดการอย่างเร่งด่วน เพื่อสกัดกั้นยับยั้ง ไม่ให้เป็นปัญหามานปลายจนควบคุมไม่ได้ และเป็นภัยต่อระบบสุขภาพโดยรวม ทั้งจากการป่วยตายจากเชื้อดื้อยาที่เพิ่มมากขึ้น รวมถึงความจำเป็นในการใช้ยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์แรงและราคาแพงขึ้น ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาผู้ป่วยเชื้อดื้อยา การตรวจทางห้องปฏิบัติการนับเป็นก้าวแรกที่สำคัญ เพื่อค้นหาเชื้อดื้อยาในผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการระบุเชื้อดื้อยาชนิดใหม่

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดทำคู่มือมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาสำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขฉบับนี้ขึ้น ซึ่งเป็นกิจกรรมแรกในยุทธศาสตร์การจัดการการติดยาต้านจุลชีพแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๖๐ - ๒๕๖๓ ที่ได้ดำเนินการสำเร็จตามเป้าหมาย ทำให้มั่นใจว่ากิจกรรมต่อไป ได้แก่ การเฝ้าระวัง ควบคุม และการรักษาการป่วยจากเชื้อดื้อยา จะสามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผมขอขอบคุณและแสดงความชื่นชมต่อกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะกรรมการและคณะทำงานที่ประกอบด้วย คณาจารย์ ผู้ทรงคุณวุฒิ และผู้เชี่ยวชาญจากหน่วยงานต่างๆ ทั้งจากห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล สภาวิชาชีพ ตลอดจนผู้ทรงคุณวุฒิจากด้านสุขภาพสัตว์ ที่ได้ร่วมกันคิดสรรสาระสำคัญอันเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินการตรวจวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยา เพื่อจัดทำคู่มือมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาสำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขฉบับนี้ขึ้น และหวังว่าคู่มือมาตรฐานฉบับนี้จะได้รับการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล สมเจตนารมณ์ของคณะผู้จัดทำทุกประการ



(นายปิยะสกล สกลสัตยาทร)

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

คำนำ

เชื้อจุลชีพดื้อยา เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญเร่งด่วนระดับโลก เนื่องจากปัจจุบันเชื้อจุลชีพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ได้กลายพันธุ์จนเชื้อตัวเดียวดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายขนาน ซึ่งเป็นผลมาจากการใช้ยาต้านจุลชีพจำนวนมากทั้งในมนุษย์และสัตว์ กระตุ้นให้เชื้อกลายพันธุ์เป็นเชื้อดื้อยาอย่างรวดเร็ว ทั่วโลกกังวลว่าหากไม่มีการดำเนินการใด โลกจะเข้าสู่ยุคหลังยาปฏิชีวนะ (Post Antibiotic Era) ที่ไม่มียาชนิดใดสามารถรักษาโรคติดเชื้อได้ ทำให้อาจเกิดการล้มตายของประชาชนจากโรคติดเชื้อเป็นจำนวนมาก ซึ่งความกังวลนี้ได้เริ่มปรากฏชัดจากข้อมูลปัจจุบันของประเทศไทยที่มีผู้ป่วยเสียชีวิตจากเชื้อดื้อยาปีละนับหมื่นรายและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังนั้นประเทศไทยโดยกระทรวงสาธารณสุข จึงได้จัดทำ “แผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564” ขึ้น โดยอาศัยกลไกการมีส่วนร่วมจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องตลอดจนภาคประชาสังคม เพื่อพัฒนาระบบจัดการปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพแบบบูรณาการภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียว ซึ่งสอดคล้องกับแนวทางขององค์การอนามัยโลก การเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวนั้น ให้ความสำคัญกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นอย่างมาก เพราะต้องวินิจฉัยและเฝ้าระวังควบคุมโรคเชื้อดื้อยาโดยอาศัยผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เนื่องจากผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการสามารถนำไปใช้เพื่อการวินิจฉัย การเฝ้าระวัง และการควบคุมโรค จึงได้กำหนดแนวทางในกลยุทธ์ที่ 1.2 “การพัฒนาศักยภาพและเครือข่ายห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา” ให้มีการจัดทำมาตรฐานระดับชาติด้านห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กระทรวงสาธารณสุขจึงได้จัดทำ “คู่มือมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข” และ “คู่มือมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข” โดยใช้งานร่วมกันมีเนื้อหาครอบคลุมทั้งโครงสร้างพื้นฐานของห้องปฏิบัติการ เทคนิควิธีการตรวจวิเคราะห์ ความรู้ความสามารถของผู้ปฏิบัติงานระดับต่างๆ ตลอดจนความมั่นคงปลอดภัยทางชีวภาพในห้องปฏิบัติการ คู่มือมาตรฐานดังกล่าวนี้มีได้จำกัดเฉพาะแต่ห้องปฏิบัติการของกระทรวงสาธารณสุขเท่านั้น แต่มุ่งหวังให้ประยุกต์ใช้ได้กับห้องปฏิบัติการทุกภาคส่วน การจัดทำคู่มือมาตรฐานนี้ได้เชิญผู้ทรงคุณวุฒิจากภาคส่วนต่างๆ เช่น มหาวิทยาลัย ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล ตลอดจนผู้แทนจากสมาคมวิชาชีพที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งผู้แทนจากห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์ มาร่วมให้ความเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการนำไปใช้ กระทรวงสาธารณสุขจะขอความร่วมมือให้องค์กรรับรองต่างๆ นำคู่มือมาตรฐานนี้ไปใช้ เพื่อตรวจประเมินห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข ประกอบกับการตรวจประเมินระบบคุณภาพต่อไป โดยความมุ่งหมายของการตรวจประเมินตามมาตรฐานนี้ เพื่อนำผลจากการประเมินมาใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุขอย่างต่อเนื่อง

อย่างไรก็ตามคู่มือมาตรฐานนี้จัดทำขึ้นเป็นฉบับแรก คณะผู้จัดทำขออภัยขอรับความคิดเห็นจากทุกฝ่ายเพื่อนำมาปรับปรุงให้เป็นคู่มือมาตรฐานแห่งชาติ ที่เกิดประโยชน์กับประชาชนโดยแท้จริง

สารบัญ

	หน้า
คำนิยาม	ค
คำนำ	ง
สารบัญ	จ
นิยามและคำย่อ	ฅ
บทนำ	1
บทที่ 1 ระดับห้องปฏิบัติการ	4
1.1 ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก	5
1.2 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการรักษา	5
1.3 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการสอบสวนโรค	5
1.4 ห้องปฏิบัติการแห่งชาติ	6
1.5 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับนานาชาติ	6
บทที่ 2 โครงสร้างพื้นฐานห้องปฏิบัติการ	7
2.1 สถานที่และสภาพแวดล้อม	8
2.2 เครื่องมือวิทยาศาสตร์	9
บทที่ 3 บุคลากร	19
3.1 คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น	20
3.2 จำนวนบุคลากร	22
3.3 ความปลอดภัยและสุขภาพบุคลากร	22
บทที่ 4 การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจด้านจุลชีววิทยาในขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์	23
4.1 การส่งตรวจ การเก็บส่งตรวจ และการนำส่งส่งตรวจ	24
4.2 การตรวจรับส่งตรวจของห้องปฏิบัติการ	25
4.3 การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์	25
4.4 การเตรียมสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจวิเคราะห์	26

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 5 เทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	27
5.1 การตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง	28
5.2 การเพาะเชื้อจากเลือด	28
5.3 การเพาะเชื้อจากน้ำไขสันหลังและน้ำจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย	29
5.4 การตรวจวินิจฉัย	31
5.5 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ	34
5.6 การตรวจด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา	38
5.7 เทคนิคอื่นในการตรวจวินิจฉัยจุลชีพโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ	39
บทที่ 6 การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ	40
6.1 เกณฑ์ในการพิจารณารับหรือปฏิเสธสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์	41
6.2 การควบคุมคุณภาพของเครื่องมือ	42
6.3 การควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ	44
6.4 การควบคุมคุณภาพของสีย้อม	47
บทที่ 7 กระบวนการหลังการวิเคราะห์และการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจหลังวิเคราะห์	49
7.1 การทบทวนผลการวิเคราะห์	50
7.2 การเก็บรักษาและทำลายสิ่งส่งตรวจหลังวิเคราะห์	50
บทที่ 8 การรายงานผล	52
8.1 การรายงานผล	53
บทที่ 9 ระบบการส่งต่อสิ่งส่งตรวจ	54
9.1 การเตรียมสิ่งส่งตรวจ	57
9.2 การส่งต่อหน่วยงานภายในประเทศ	59
9.3 การส่งต่อหน่วยงานระหว่างประเทศ	59

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 10 การจัดการข้อมูลสารสนเทศทางจุลชีววิทยา	61
10.1 การเข้าถึงข้อมูล	62
10.2 การกำหนดรหัส	62
10.3 การแก้ไขข้อมูล	63
10.4 การส่งข้อมูลเพื่อพัฒนาระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา	63
บทที่ 11 การทบทวน จัดการ	65
บทที่ 12 ห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์	66
12.1 คุณสมบัติและสมรรถนะบุคลากรที่จำเป็น	67
12.2 การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจ	67
12.3 การรายงานผล	68
ภาคผนวก	69
ผนวก ก รายการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นต่ำตามเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	69
ผนวก ข หลักการคำนวณภาระงานโดยคิดตามปริมาณงาน	71
ผนวก ค รายการเทคนิคที่แนะนำสำหรับห้องปฏิบัติการแต่ละระดับโรงพยาบาล	72
ผนวก ง คำจำกัดความของเชื้อดื้อยา	73
ผนวก จ รายการเชื้อดื้อยาที่ควรส่งตรวจยืนยันห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับประเทศ	80
ผนวก ฉ เทคนิคการตรวจด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา และเทคนิคอื่นๆ	81
ผนวก ช คำสั่งแต่งตั้ง	86
ผนวก ซ รายนามผู้เข้าร่วมการประชุมประชาพิจารณ์ 30 สิงหาคม 2560	94

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 พื้นที่ใช้สอยขั้นต่ำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุขขนาดเล็ก	8
ตารางที่ 5.1 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบประสาทส่วนกลาง	29
ตารางที่ 5.2 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อแบ่งตามประเภทน้ำ จากส่วนต่างๆ ของร่างกาย	30
ตารางที่ 6.1 วิธีทำ QC สำหรับการทดสอบความไวเชื้อ	43
ตารางที่ 6.2 ตัวอย่างการทำ QC ของอาหารเพาะเชื้อที่ใช้บ่อย	45
ตารางที่ 6.3 ตัวอย่างตารางบันทึกการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาต่างๆ	47
ตารางที่ 6.4 การควบคุมคุณภาพของสีย้อม	47
ตารางที่ 9.1 ตัวอย่างวัตถุติดเชื้อที่จัดอยู่ใน Category A	55

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
Accuracy		ค่าความแม่นยำ หมายถึง ความใกล้เคียงของค่าที่วัดได้กับค่าจริง ส่วนมากจะกำหนดเป็นร้อยละ หรือ $\pm$
Amoxicillin	AMX	ยาต้านจุลชีพ
Autoclave		เครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง
Balance		เครื่องชั่ง
Biochemical test		การทดสอบทางชีวเคมี
Biological safety cabinet		ตู้ชีวนิรภัย
Calibration		การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากเครื่องมือกับค่ามาตรฐานเพื่อให้แน่ใจว่าเครื่องมือวัดที่จะนำไปใช้งานหรือใช้งานอยู่แล้วมีค่าที่แม่นยำและเชื่อถือได้ โดยการสอบเทียบจะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วัดได้และค่าของเครื่องมาตรฐานจากห้องปฏิบัติการ
Cefotaxime	CTX	ยาต้านจุลชีพ
Ceftriazone	CRO	ยาต้านจุลชีพ
Centrifuge		เครื่องหมุนเหวี่ยง
Check weight		วัตถุหรือตม้น้ำหนักที่ต้องไม่เป็นสารแม่เหล็ก ไม่เป็นสนิม เป็นรูปทรงที่มีผิวเรียบ น้ำหนักคงที่ ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
Clindamycin	CLI	ยาต้านจุลชีพ
Clinical Laboratory Standards Institute	CLSI	
Eccentricity or off-center Loading		การทดสอบหาค่าผิดพลาด เนื่องจากการวางน้ำหนักไม่กลางจาน โดยการเตรียมตุ้มน้ำหนักมาตรฐานที่มีค่าระบุอยู่ระหว่าง $\frac{1}{3}$ ถึง $\frac{1}{4}$ ของพิกัด ซึ่งตุ้มน้ำหนักมาตรฐานที่ตำแหน่งต่างกัน โดยจุดอื่นให้วางห่างจากกลางจานเป็นระยะ $\frac{1}{2}$ ถึง $\frac{3}{4}$ ของระยะทางจากกลางจานถึงขอบจาน คำนวณค่าน้ำหนักที่แตกต่างของตำแหน่งอื่นกับกลางจาน
Error		ค่าความผิดพลาด หมายถึง ค่าของผลการวัดที่เครื่องมือวัดอ่านได้ – ค่าจริงของปริมาณที่ทำการวัด
Error of UUC		ค่าผิดพลาดของการวัดของเครื่องมือที่ได้รับการสอบเทียบ ซึ่งอาจจะรายงานในรูปของค่าปรับแก้ (Correction value) ได้
Erythromycin	ERY	ยาต้านจุลชีพ
European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing	EUCAST	

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
Extensively drug-resistant	XDR	เชื้อที่ดื้อต่อยาทุกกลุ่ม ยกเว้นกลุ่ม polymyxin หรือยาในกลุ่ม glycyclcycline
External quality assessment	EQA	การควบคุมคุณภาพภายนอกห้องปฏิบัติการ
Freezer		ตู้แช่แข็ง
Fume hood		ตู้ดูดควัน
Hot air oven		ตู้อบลมร้อน
Incubator		ตู้อบเพาะเชื้อ
Inter-laboratory quality control		การควบคุมคุณภาพระหว่างห้องปฏิบัติการ
Intermediate	I	ค่อนข้างไวต่อยา
Intermediate check Interval check		การตรวจสอบเครื่องมือระหว่างการใช้งาน ดำเนินการเฉพาะกับเครื่องมือที่ได้รับการสอบเทียบเท่านั้น โดยกำหนดให้ดำเนินการในระหว่างที่ใช้งาน เพื่อตรวจสอบสถานะการสอบเทียบ ว่ายังคงให้ค่าการวัดเป็นไปตามค่าที่ทำการสอบเทียบไว้หรือไม่
Internal quality control	IQC	การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ
Levofloxacin	LVX	ยาต้านจุลชีพ

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
Linearity		ความเบี่ยงเบนไปจากกราฟเส้นตรงที่มากที่สุด
Load Cell		Sensor สำหรับตรวจวัดน้ำหนัก แรงกระทำทางกล หรือปริมาณของ Load ที่ต้องการทราบค่าโดยที่ Load cell จะเปลี่ยนแรงหรือน้ำหนักให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า (mV/V)
Low power field	LPF	กำลังขยายต่ำ
Mass spectrometry		เทคนิคในการวิเคราะห์ผลการวัดสัดส่วนมวลต่อประจุ (mass-to-charge ratio) ของอนุภาคที่มีประจุ ใช้เพื่อระบุมวลของอนุภาค ส่วนประกอบของธาตุในสารประกอบ ตัวอย่างหรือในโมเลกุล และเพื่อแสดงถึงโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล เช่น เปปไทด์ และสารประกอบทางเคมีอื่นๆ
Maximum permissible error	MPE	ค่าความผิดพลาดสูงสุดที่ยอมรับได้ของเครื่องมือวัด
Microscope		กล้องจุลทรรศน์
Minimum inhibitory concentration	MIC	ความเข้มข้นยาต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้
Multidrug-resistant	MDR	เชื้อที่ดื้อยาตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป ได้แก่ กลุ่มยา aminoglycoside, carbapenem, cephalosporin, beta-lactam plus beta-lactamase inhibitor, quinolone

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
Non-susceptible	NS	ดื้อต่อยา
Not tested	NT	ไม่ได้ทดสอบ
Pandrug-resistant	PDR	เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาทุกกลุ่ม รวมถึงยากลุ่ม polymyxin และ glycyclcycline ด้วย
Penicillin	PEN	ยาต้านจุลชีพ
pH meter		เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
Refrigerator		ตู้เย็น
Relative centrifugal force	RCF	แรงหนีศูนย์กลางสัมพัทธ์
Repeatability		การทดสอบความทวนซ้ำได้ โดยการชั่งตູ່มน้ำหนักมาตรฐานซ้ำและคำนวณหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน
Resistant	R	ดื้อต่อยา
Revolutions per minute	RPM, rpm	รอบต่อนาที นิยมใช้เป็นหน่วยวัดอัตราการหมุนของเครื่องยนต์และมอเตอร์ โดยเขียนระบุหน่วยเป็น rpm, RPM, r/min หรือ min-1
Rifampin	RIF	ยาต้านจุลชีพ
Standard deviation	SD	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็นการวัดการกระจายแบบหนึ่งของกลุ่มข้อมูล

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
Sterile technique		วิธีการปฏิบัติเพื่อให้เครื่องมือเครื่องใช้ปลอดเชื้อ
Sterility test		การทดสอบความปลอดเชื้อ
Susceptible	S	ความไว
Tare/Zero check		การปรับค่าให้เครื่องอ่านศูนย์ได้
Temperature accuracy		ค่าความถูกต้องของการวัดในช่วงอุณหภูมินั้นๆ
Temperature stability		ค่าความเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิสูงสุด ณ จุดใดจุดหนึ่งของเครื่องมือเทียบกับเวลา
Temperature uniformity		ค่าความแตกต่างของอุณหภูมิสูงสุดภายในเครื่องมือเทียบกับตำแหน่งอ้างอิง
Thermometer		เทอร์โมมิเตอร์
Trimethoprim-sulfamethoxazole	SXT	ยาต้านจุลชีพ
Uncertainty of Measurement	UM	ค่าความไม่แน่นอนในการวัดของห้องปฏิบัติการสอบเทียบเป็นตัวเลขที่ห้องปฏิบัติการสอบเทียบได้จากการประเมินองค์ประกอบต่างๆในกระบวนการสอบเทียบที่ทำให้ผลการวัดในกระบวนการสอบเทียบเกิดความไม่แน่นอน
Unit Under Calibration	UUC	เครื่องมือวัดที่ได้รับการสอบเทียบ

นิยามและคำย่อ

คำศัพท์	คำย่อ	นิยาม
United States Food and Drug Administration	FDA	
Validation		กระบวนการตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือ
Vancomycin	VAN	ยาต้านจุลชีพ
Waterbath		อ่างน้ำร้อน
ไมโครโมลาร์	μM	หน่วยวัดความเข้มข้น





บทนำ

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ มีความสำคัญทั้งในด้านการตรวจวินิจฉัย การเฝ้าระวังควบคุมโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งการป่วยจากเชื้อดื้อยา ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการเท่านั้น จึงจะสามารถทราบได้ อย่างไรก็ตาม เทคนิคทางห้องปฏิบัติการมีความซับซ้อน และปรับเปลี่ยนอยู่ตลอดเวลา เนื่องจากเชื้อจุลชีพมีการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่อง กระทรวงสาธารณสุข โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงได้จัดทำคู่มือมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยานับนี้ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อให้การตรวจทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์เป็นไปอย่างสอดคล้องในทิศทางเดียวกัน เพื่อให้ได้ผลการตรวจที่ถูกต้อง แม่นยำ สามารถนำไปใช้ได้ประโยชน์ทั้งในการรักษาโรค ตลอดจนการเฝ้าระวังเชื้อจุลชีพดื้อยาและเชื้อโรคสำคัญต่างๆ ในระดับชาติ ฉบับแรกนี้มีสาระสำคัญเฉพาะด้านแบคทีเรียซึ่งเป็นวาระเร่งด่วนก่อน ในอนาคตจะมีการขยายขอบข่ายให้ครอบคลุมถึงเชื้อจุลชีพอื่นๆ ด้วย กลไกการจัดทำคู่มือมาตรฐานนั้น ได้เชิญผู้ทรงคุณวุฒิจากภาคส่วนต่างๆ ทั้งจากมหาวิทยาลัย ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลต่างๆ ตลอดจนผู้แทนจากสำนักระบาดวิทยา และแพทย์โรคติดเชื้อ ซึ่งเป็นผู้ใช้ผลทางห้องปฏิบัติการมาร่วมให้ความเห็นและข้อเสนอแนะ นอกจากนี้ยังมีผู้แทนจากห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์มาร่วมให้ความเห็นด้วย คู่มือมาตรฐานฉบับนี้ ครอบคลุมเรื่องโครงสร้างพื้นฐานของห้องปฏิบัติการ เทคนิควิธีการตรวจวิเคราะห์ โดยอ้างอิงมาตรฐานสากลที่นานาชาติยอมรับ เช่น CLSI และ EUCAST เป็นต้น นอกจากนี้ยังกล่าวถึงสมรรถนะที่พึงประสงค์ของผู้ปฏิบัติงานระดับต่างๆ ตามหน้าที่ที่รับผิดชอบอีกด้วย ทั้งนี้ได้จัดแบ่งห้องปฏิบัติการเป็นระดับตามขีดความสามารถของการตรวจวิเคราะห์ จึงสามารถประยุกต์ใช้ได้กับห้องปฏิบัติการทุกภาคส่วน มีได้มุ่งเฉพาะแต่ห้องปฏิบัติการของกระทรวงสาธารณสุขเท่านั้น เพื่อให้การใช้งานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ โดยอาศัยกลไกที่มีอยู่ในระบบสาธารณสุขอยู่เดิม จึงมุ่งขอความร่วมมือให้องค์กรรับรองต่างๆ นำคู่มือมาตรฐานนี้ไปใช้ เพื่อตรวจประเมินห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ประกอบกับการตรวจประเมินระบบคุณภาพด้วย โดยหวังว่า ข้อดี ข้อบกพร่อง และข้อเสนอแนะจากการตรวจประเมิน จะสามารถนำมาใช้เพื่อการปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ประชาชนได้รับประโยชน์จากการบริการทางห้องปฏิบัติการอย่างสูงสุด

1. ความมุ่งหมาย

คู่มือมาตรฐานนี้มีความมุ่งหมาย เพื่อให้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุขใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสมรรถนะห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุข และใช้อ้างอิงด้านเทคนิคการตรวจเชื้อดื้อยาที่สอดคล้องกับสถานการณ์การใช้ยาปฏิชีวนะในประเทศไทย โดยมีได้มุ่งให้ใช้แทนหนังสือตำราด้านวิชาการที่มีรายละเอียดวิธีมาตรฐานต่างๆ และมีได้ทดแทนมาตรฐานด้านคุณภาพที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน แต่ได้กำหนดรายละเอียดต่างๆ เสริมขึ้น เพื่อให้สามารถใช้อ้างอิงได้ครอบคลุม ครบถ้วน เหมาะสม ทันสมัย และเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

2. การใช้งาน

คู่มือมาตรฐานนี้สามารถประยุกต์ใช้ได้กับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขที่ทำการตรวจเชื้อดื้อยาทุกระดับ ทั้งภาครัฐ และเอกชน ผู้บริหาร ผู้ตรวจราชการ ตลอดจนถึงองค์กรรับรองต่างๆ ดังนี้

กลไกการดำเนินงาน ประกอบด้วย

2.1 การจัดทำมาตรฐาน

2.1.1 คณะกรรมการระดับชาติ มีอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นประธาน ประกอบด้วย คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ได้แก่ นักวิชาการที่มีความเชี่ยวชาญด้านจุลชีววิทยา ผู้บริหาร ผู้แทนสภาวิชาชีพ แพทย์ ผู้ให้บริการ ผู้แทนจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่างๆ คณะกรรมการมีหน้าที่จัดทำมาตรฐาน กำหนดแนวทางการนำไปใช้งาน ตลอดจนการรวบรวมข้อมูลด้านวิชาการที่มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิม ตลอดจนปัญหาอุปสรรคต่างๆ เพื่อนำมาดำเนินการให้เกิดการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เสนอแนวทางต่อกระทรวงสาธารณสุข เพื่อพิจารณาสั่งการ นอกจากนี้ ยังมีนักวิชาการด้านห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์ ร่วมสังเกตการณ์และให้ความเห็น โดยได้จัดให้มีรายละเอียดด้านห้องปฏิบัติการด้านสุขภาพสัตว์ เพื่อให้มีความเชื่อมโยงด้านสาธารณสุขด้วย

2.1.2 คณะทำงาน ทำหน้าที่เป็นฝ่ายเลขานุการของคณะกรรมการตาม ก) ประกอบด้วยนักวิชาการผู้เชี่ยวชาญด้านจุลชีววิทยา นักเทคนิคการแพทย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ และผู้เกี่ยวข้องจากกรมต่างๆ ของกระทรวงสาธารณสุข นักวิชาการด้านห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการตรวจเชื้อดื้อยา ภายใต้แนวคิดสุขภาพหนึ่งเดียวเป็นองค์ประกอบของคณะทำงาน มีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นฝ่ายเลขานุการ ดังรายละเอียดแนบท้าย

2.2 การนำไปใช้งาน

2.2.1 คณะกรรมการนโยบายการดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ ขับเคลื่อนแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ

2.2.2 กระทรวงสาธารณสุข ประกาศกำหนดนโยบายและมาตรการการนำมาตรฐานไปใช้งาน

2.2.3 ห้องปฏิบัติการสามารถนำไปใช้อ้างอิงในการปฏิบัติงาน ตลอดจนใช้เป็นเครื่องมือประเมินตนเอง เพื่อได้ข้อมูลช่องว่างที่ต้องพัฒนา เพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องจัดทำข้อเสนอเพื่อการปรับปรุง

2.2.4 ขอความร่วมมือจากองค์กรรับรองต่างๆ นำไปใช้ตรวจประเมินประกอบกับการตรวจประเมินระบบคุณภาพแก่ห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชน

2.3 การติดตามประเมินผล

2.3.1 ห้องปฏิบัติการสามารถเสนอ ข้อเสนอแนะ ข้อร้องเรียน ปัญหา อุปสรรค ที่พบ มายังฝ่ายเลขานุการ

2.3.2 การตรวจราชการ สำหรับห้องปฏิบัติการสังกัดกระทรวงสาธารณสุข

2.3.3 ขอความร่วมมือจากองค์กรรับรองต่างๆ ให้เสนอข้อมูลเป็นภาพรวม

2.4 การทบทวนและปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง

2.4.1 คณะกรรมการ ทำการพิจารณาทบทวนมาตรฐานอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง โดยปรับปรุงตามความจำเป็น โดยอาศัยข้อมูลอย่างน้อย ดังนี้

ก. ข้อมูลด้านวิชาการจากมาตรฐานระดับนานาชาติ เอกสารวิชาการที่เป็นที่ยอมรับต่างๆ

ข. ข้อมูลจาก 2.3 การติดตามประเมินผล

2.4.2 คณะกรรมการจัดทำข้อเสนอเชิงนโยบาย เพื่อการปรับปรุงอย่างต่อเนื่องในระดับประเทศตามความจำเป็น

บทที่ 1

ระดับห้องปฏิบัติการ

- 1.1 ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก
- 1.2 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการรักษา
- 1.3 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการสอบสวนโรค
- 1.4 ห้องปฏิบัติการแห่งชาติ
- 1.5 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับนานาชาติ

คู่มือมาตรฐานฉบับนี้ จัดแบ่งระดับห้องปฏิบัติการตามบทบาทหน้าที่และขีดความสามารถในการตรวจเพื่อให้สอดคล้องกับบริบทของระบบสาธารณสุขของไทยในภาพรวม โดยสามารถประยุกต์ใช้ได้กับห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชน ดังนี้

1.1 ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก (Clinical microbiology laboratory)

ห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการที่เปิดบริการตรวจด้านจุลชีววิทยา ซึ่งต้องได้รับการรับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ เช่น มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข มาตรฐานเทคนิคการแพทย์ หรือ ISO 15189 หรือ มีแผนพัฒนาเพื่อขอรับการรับรองตามมาตรฐานข้างต้น และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐานฉบับนี้ ได้แก่

1.1.1 ห้องปฏิบัติการที่เปิดบริการด้วยการตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง (Direct examination)

1.1.2 ห้องปฏิบัติการที่เปิดบริการด้วยการตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง และการเพาะเชื้อ (Culture examination) เช่น การทดสอบ Hemoculture เป็นต้น

1.2 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการรักษา (Referral laboratory)

ห้องปฏิบัติการที่มีขีดความสามารถในการตรวจยืนยันเชื้อดื้อยา ซึ่งต้องได้รับการรับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ เช่น มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข มาตรฐานเทคนิคการแพทย์ หรือ ISO 15189 หรือ มีแผนพัฒนาเพื่อขอรับการรับรองตามมาตรฐานข้างต้น และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐานฉบับนี้ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการระดับตติยภูมิ หรือห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อขนาดใหญ่ หรือ ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสังกัดมหาวิทยาลัย

1.3 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการสอบสวนโรค (Reference laboratory or Subnational laboratory)

ห้องปฏิบัติการที่มีขีดความสามารถในการตรวจยืนยันเชื้อก่อโรค ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยาและเทคโนโลยีขั้นสูง ซึ่งต้องได้รับการรับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ เช่น มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข มาตรฐานเทคนิคการแพทย์ ISO 15189 หรือ ISO/IEC 17025 หรือได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติ และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐานฉบับนี้ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสังกัดมหาวิทยาลัย ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือ ห้องปฏิบัติการวิจัย

1.4 ห้องปฏิบัติการแห่งชาติ (National laboratory)

ห้องปฏิบัติการอ้างอิงเชื้อดื้อยาระดับชาติ มีหน้าที่พัฒนาและธำรงรักษามาตรฐาน พัฒนาระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาของประเทศ มีการดำเนินแผนทดสอบความชำนาญด้านเชื้อดื้อยา สามารถตรวจยืนยันเชื้อดื้อยาอุบัติใหม่ ซึ่งต้องได้รับการรับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ เช่น มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข มาตรฐานเทคนิคการแพทย์ ISO 15189 หรือ ISO/IEC 17025 และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐานฉบับนี้ ได้แก่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

1.5 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับนานาชาติ (International reference laboratory or network)

ห้องปฏิบัติการเฉพาะด้านในเครือข่ายห้องปฏิบัติการนานาชาติ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการเครือข่ายองค์การอนามัยโลก เป็นต้น

บทที่ 2

โครงสร้างพื้นฐานห้องปฏิบัติการ

2.1 สถานที่และสภาพแวดล้อม

2.2 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

สถานที่และสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่ง ซึ่งมีผลกระทบต่อคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน โรงพยาบาลที่มีความประสงค์เปิดบริการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก ควรพิจารณาความพร้อมด้านสถานที่ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และบุคลากร ในบทนี้จะกล่าวถึงโครงสร้างพื้นฐาน ห้องปฏิบัติการ 2 ส่วน ได้แก่

2.1 สถานที่และสภาพแวดล้อม

2.1.1 ห้องปฏิบัติการควรมีพื้นที่ปฏิบัติงานเพียงพอ ขึ้นกับลักษณะงาน ประเภทการตรวจที่มีบริการ และพื้นที่เพียงพอใหวางเครื่องมือ และการทำงานของบุคลากรได้สะดวก ไม่แออัดจนเกิดผลกระทบต่อคุณภาพการทำงานและความปลอดภัยของบุคลากร

ตารางที่ 2.1 พื้นที่ใช้สอยขั้นต่ำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุขขนาดเล็ก

ส่วนประกอบ	พื้นที่ใช้สอย ขั้นต่ำ (ตารางเมตร)	ระดับความ ปลอดภัยทาง ชีวภาพ*	หมายเหตุ
ห้องเจาะเลือดและเก็บตัวอย่าง	6	-	
ห้องน้ำ (เก็บสิ่งส่งตรวจ)	5	-	ควรแยกออกจากห้องน้ำทั่วไป
บริเวณรับตัวอย่าง/เอกสาร	5	-	
พื้นที่เก็บวัสดุอุปกรณ์	5	-	
ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา		BSL-2	
- การตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง	20		
- การเพาะเชื้อและการทดสอบทางชีวเคมี	40		
- การตรวจทางอนุจุลชีววิทยา	15		
ห้องปฏิบัติการตรวจย้อมสีเชื้อวัณโรค		BSL-2	ต้องเป็นห้องแยกจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป
ห้องปฏิบัติการเพาะเชื้อวัณโรค		BSL-3 หรือ เทียบเท่า (BSL-2 enhanced)	ควรมีประตู 2 ชั้น แบบปิดเองได้ อาจเป็นแบบที่ไม่สามารถเปิด ในเวลาเดียวพร้อมกันได้
ห้องพักเวอร์	5	-	
บริเวณล้างและจัดการหลังตรวจ	4	-	
Locker และ เปลี่ยนเสื้อผ้า	-	-	ควรจัดวางตำแหน่งบริเวณ ด้านหน้าห้องปฏิบัติการ

*ดูรายละเอียดระดับความปลอดภัยทางชีวภาพของห้องปฏิบัติการ ในคู่มือมาตรฐานความปลอดภัยฯ บทที่ 4

- 2.1.2 ควรติดเครื่องหมายชีวอันตรายสากล (Biohazard sign) หน้าห้องปฏิบัติการ
- 2.1.3 การออกแบบการไหลเวียนของงาน ควรกำหนดเป็นทิศทางเดียว เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อน โดยคำนึงถึงคุณภาพการทำงานและความปลอดภัยของบุคลากร หากเป็นอาคารห้องปฏิบัติการที่มีอยู่เดิม ควรพยายามจัดสรรพื้นที่ให้ได้เป็นทิศทางเดียว เพื่อลดความเสี่ยงจากการปฏิบัติงาน
- 2.1.4 จัดแยกพื้นที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อออกจากกัน ทั้งนี้ให้เป็นไปตามมาตรฐานสากลซึ่งเป็นที่ยอมรับ
- 2.1.5 จัดแยกห้องเก็บวัสดุอุปกรณ์ ห้องจัดเก็บตู้แช่แข็ง ออกจากห้องปฏิบัติการ
- 2.1.6 ไม่จัดวางเครื่องมือที่มีผลกระทบต่อการทดสอบไว้ร่วมกัน
- 2.1.7 ควบคุมการเข้าออกห้องปฏิบัติการ
- 2.1.8 จัดแยกตู้เย็นเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ และน้ำยาที่ใช้ทดสอบ หากจำเป็นต้องเก็บในตู้เย็นเดียวกัน ให้แยกชั้นให้ชัดเจน โดยจัดเก็บน้ำยาไว้ด้านบน และเก็บตัวอย่างใส่ในภาชนะที่ปิดมิดชิด
- 2.1.9 จัดแยกบริเวณเจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเป็นส่วน แยกออกจากห้องปฏิบัติการ
- 2.1.10 จัดแยกสถานที่เก็บเสมหะออกจากห้องปฏิบัติการ มีอ่างล้างมือ สบู่หรือน้ำยาฆ่าเชื้อ และถังขยะติดเชื้อ และมีระบบความปลอดภัยป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ
- 2.1.11 จัดแยกส่วนที่เก็บเชื้อรา แยกเป็นส่วนเฉพาะ และห้องเก็บเชื้อราต้องมิดชิด
- 2.1.12 มีอ่างล้างมือที่เปิดและปิดชนิดไม่ใช้มือหมุนในห้องปฏิบัติการ และแยกอ่างสะอาดและอ่างสกปรก
- 2.1.13 พื้นที่ภายในห้องจุลชีววิทยาคลินิก แยกเป็นพื้นที่เฉพาะหรือจัดห้องแยก ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดในการใช้สอย
- 2.1.14 มีระบบการจัดการด้านความปลอดภัย โดยพิจารณาจากมีการเตรียมพร้อมสำหรับการดับเพลิง อุปกรณ์ด้านความปลอดภัยส่วนบุคคลต่างๆ รวมถึงการจัดการ และแนวทางปฏิบัติเกี่ยวกับความปลอดภัย
- 2.1.15 มีการเก็บขยะมูลฝอยติดเชื้อ ขยะอันตราย และของมีคม แยกจากขยะทั่วไป มีภาชนะจัดเก็บขยะติดเชื้อ และขยะอันตรายที่มีลักษณะเหมาะสม และมีการขนย้ายไปกำจัดทุกวัน
- 2.1.16 ห้องปฏิบัติการมีความสะอาดทั่วห้อง รวมทั้งพื้นห้องเป็นระเบียบเรียบร้อย การระบายอากาศดี มีแสงสว่างเพียงพอ มีอุณหภูมิห้องที่เหมาะสม และมีระบบการจัดการด้านความปลอดภัย
- 2.1.17 การจัดวางเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ เรียงเป็นระเบียบ มีการระบายอากาศภายในห้อง โดยมีช่องระบายอากาศหรือพัดลมดูดอากาศ เพื่อระบายกลิ่น ควัน ไอที่เกิดขึ้น เพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ หากสามารถดำเนินการได้ ควรให้อากาศไหลในทิศทางเดียว (directional air flow) ทั้งนี้ ให้ปรึกษากองแบบแผนกรมสนับสนุนบริการสุขภาพ กระทรวงสาธารณสุข
- 2.1.18 การปฏิบัติงานกับน้ำยา/สารเคมีอันตราย ให้ทำในตู้ดูดควัน (Fume hood)

2.2 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

การบริหารจัดการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีใช้งานในห้องปฏิบัติการ ให้มีคุณภาพและประสิทธิภาพ ควรมืองค์ประกอบของขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. การจัดหา
2. การตรวจสอบคุณสมบัติก่อนนำไปใช้งานว่าเป็นไปตามคุณสมบัติเฉพาะของเครื่องมืออื่นๆ หรือความต้องการใช้งาน

3. การสอบเทียบ
4. การบำรุงรักษาซ่อมแซม
5. การบันทึกประวัติเครื่องมือ
6. การจำหน่ายเมื่อหมดความจำเป็นในการใช้งาน

การดำเนินการตรวจสอบ สอบเทียบ และบำรุงรักษาเครื่องมืออย่างสม่ำเสมอในขณะที่ใช้งาน มีความสำคัญอย่างยิ่งต่ออายุการใช้งาน ความถูกต้อง และสมรรถนะของเครื่องมือ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อ การตรวจวิเคราะห์

เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ จำแนกเป็น

1) เครื่องมือวิทยาศาสตร์ทั่วไป ได้แก่ ตู้ชีวนิรภัย ตู้ดูดควัน เครื่องหมุนเหวี่ยง เครื่องชั่ง กล้องจุลทรรศน์ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เครื่องมือวัดอุณหภูมิ เช่น เทอร์โมมิเตอร์ และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ เช่น เครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง ตู้แช่แข็ง ตู้บรื้อน ตู้อบเพาะเชื้อ ตู้เย็น อ่างน้ำร้อน เป็นต้น

2) เครื่องมือตรวจวิเคราะห์เฉพาะ เป็นเครื่องมือสำหรับการตรวจจำแนกชนิดของจุลชีพ และการทดสอบความไวของจุลชีพต่อสารต้านจุลชีพ โดยใช้เทคโนโลยีต่างๆ ได้แก่ เครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ เครื่องทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพอัตโนมัติ เป็นต้น

ในบทนี้จะกล่าวถึงการใช้งาน การสอบเทียบ การตรวจสอบขณะใช้งาน และการบำรุงรักษาเครื่องมือวิทยาศาสตร์ทั่วไปพอสังเขป ส่วนเครื่องมือตรวจวิเคราะห์เฉพาะ ผู้ใช้ต้องปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องมือจากผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด ดังนี้

2.2.1 ตู้ชีวนิรภัย (Biological Safety Cabinet)

เป็นเครื่องมือควบคุมชนิดหนึ่งซึ่งอาศัยหลักการทำงานของมอเตอร์พัดลมและแผ่นกรองอากาศ HEPA เพื่อให้การปกป้องผู้ใช้งาน ปกป้องชิ้นงาน และปกป้องสิ่งแวดล้อม

ตู้ชีวนิรภัยแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1) Class I cabinet (open-front air inflow cabinet) สามารถป้องกันอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน และสิ่งแวดล้อม ใช้ในงานที่ไม่มีเชื้อโรค หรือเชื้อจุลชีพที่ไม่ก่ออันตราย

2) Class II cabinet (open-front vertical air flow cabinet) สามารถป้องกันอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน สิ่งของอุปกรณ์ภายในตู้ และสิ่งแวดล้อม เหมาะสำหรับปฏิบัติงานกับเชื้อจุลชีพ ที่มีอันตรายน้อยถึงปานกลาง รวมถึงสิ่งส่งตรวจ จากผู้ป่วยบางประเภท

3) Class III cabinet (gas-tight air lock cabinet) มีลักษณะเป็นตู้ระบบปิด มีช่องที่เป็นถุงมือสำหรับสอดมือเพื่อทำงาน อุปกรณ์ทุกอย่างภายในตู้ต้องผ่านการฆ่าเชื้อเสมอก่อนนำเข้าไป เหมาะสำหรับงานที่เกี่ยวข้องกับเชื้อจุลชีพที่เป็นอันตรายในระดับสูง เช่น งานด้านไวรัส

(ดูรายละเอียดในคู่มือมาตรฐานความปลอดภัยฯ บทที่ 8)

2.2.2 ตู้ดูดควัน (Fume Hood)

ตู้ชนิดนี้ออกแบบมาเพื่อควบคุมการฟุ้งกระจายของไอสารเคมี ซึ่งโดยมากจะเป็นกลิ่นและไอระเหยที่เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน เป็นสิ่งที่จำเป็นมากในห้องปฏิบัติการหากต้องทำงานกับสารเคมีหรือสารพิษ ส่วนใหญ่ติดตั้งเข้ากับระบบระบายอากาศของตัวอาคาร ซึ่งควรติดตั้งไว้บริเวณด้านในสุดของห้องและต้องห่างจากประตู หน้าต่าง หรือทางเดิน เพื่อป้องกันการเคลื่อนที่ของอากาศบริเวณประตูหน้าต่าง ซึ่งอาจรบกวนระบบไหลเวียนอากาศของตู้ดูดควันได้ และขณะใช้ตู้ดูดควัน ควรยืนห่างจากตู้ประมาณ 6 นิ้ว ควรสวมถุงมือ แว่นตานิรภัย และเสื้อคลุม ขณะทำงานกับสารเคมีในตู้ดูดควัน และไม่ควรถูกตู้ดูดควันเป็นที่เก็บสารเคมีทุกชนิด

2.2.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการแยกตะกอนออกจากของเหลว โดยใช้แรงปั่นเหวี่ยง มีหน่วยเป็น g (gravities) หรือ RCF ซึ่งขึ้นกับมวลของสาร ความเร็วรอบ (rpm) และรัศมีของเครื่องปั่น เนื่องจากเครื่องปั่นมีหลายชนิด และมีขนาดรัศมีของเครื่องแตกต่างกัน ดังนั้นการปั่น จึงต้องระบุความต้องการใช้งานเป็น RCF หรือ g และคำนวณหา rpm ของเครื่องที่ใช้ โดยใช้สูตร

$$RCF = 28.38 (r) [N/100]^2$$

เมื่อ r = รัศมีของ rotor เป็นนิ้ว N = รอบต่อนาที (rpm)

นอกจากนี้ การปั่นแยกยังขึ้นกับระยะเวลาที่ใช้ในการปั่น ดังนั้นจึงควรมีการตรวจสอบความถูกต้องของความเร็วรอบและเวลา เพื่อให้มั่นใจว่าเป็นไปตามความต้องการใช้งาน

i. การสอบเทียบ ความถี่อย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือหลังการซ่อมเครื่อง

จุดที่ทำการสอบเทียบ	รายการ	MPE	การตรวจสอบผล การสอบเทียบ
ความเร็วรอบต่อนาที ที่ใช้งาน เช่น 3,000 rpm	ความเร็วรอบต่อ นาที (rpm)	± 10 %	Error + uM ≤ MPE
เวลาที่ใช้งาน เช่น 15 นาที	เวลา (timer)	± 5 %	Error + uM ≤ MPE
อุณหภูมิที่ใช้งาน เช่น 4 °C	อุณหภูมิ (temperature)	ตามความต้องการใช้งาน หรือตามคุณลักษณะเฉพาะ ของเครื่อง	ตามความต้องการใช้งาน หรือตามคุณลักษณะเฉพาะ ของเครื่อง

ii. การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ตรวจสอบความเร็วรอบและเวลาที่ใช้ก่อนการปั่นทุกครั้ง
2. ตรวจสอบความสมดุลของหัวปั่น (rotor) ก่อนการปั่นทุกครั้ง
3. ตรวจสอบคุณภาพของขอบยางต้องติดเรียบกับเครื่องและยางไม่เสื่อมสภาพ
4. ตรวจสอบฝาปิดของตัวเครื่องต้องปิดสนิท อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

iii. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. ถอดปลั๊กเครื่องปั่น ก่อนทำการบำรุงรักษาทุกครั้ง
3. ทำความสะอาดภายในและภายนอกเครื่องหลังใช้งานทุกวัน
4. เมื่อมีตัวอย่างกระเด็นหรือหกแตกในเครื่อง ให้ทำความสะอาดภายในตัวถังปั่น หัวปั่น และกระบอกใส่หลอดปั่น (bucket) โดยใช้แอลกอฮอล์ 70% หรือน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับงาน

2.2.4 เครื่องชั่ง (Electronic Balance)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ชั่งสารเคมี สี และอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเตรียมน้ำยา สีย้อม และอาหารเลี้ยงเชื้อ การเลือกเครื่องชั่งให้เหมาะสมกับความต้องการใช้งาน ต้องทราบน้ำหนักต่ำสุดและสูงสุดที่ต้องการชั่ง และความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้

i. การสอบเทียบ ความถี่อย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือหลังการซ่อมเครื่อง

รายการ	MPE	การตรวจสอบผลสอบเทียบ
Repeatability	ตามความต้องการใช้งาน	$SD \leq MPE$
Eccentricity or off-center loading	หรือตามคุณลักษณะเฉพาะ	Maximum error $\leq MPE$
Linearity	ของเครื่อง	Error + uM $\leq MPE$ ทุกช่วงน้ำหนักที่สอบเทียบ

ii. การตรวจสอบขณะใช้งาน

รายการ	เกณฑ์การยอมรับ	ความถี่	วิธีการตรวจสอบ
Tare/Zero check	เครื่องชั่งอ่านได้ค่า “0” ทุกครั้งก่อนใช้งาน	ทุกครั้งที่ใช้งาน	ปฏิบัติตามคู่มือเครื่อง เป็นการตรวจ check ว่าเครื่องชั่งอ่านได้ค่า “0” และไม่มี drift ของเครื่องชั่ง
Internal calibration	ตามข้อกำหนดของเครื่อง	ทุกครั้งที่ใช้งาน	ปฏิบัติตามคู่มือเครื่อง
Daily performance check	Mean $\pm 2SD$	ทุกวันที่ใช้งาน	- เลือกตุ้มน้ำหนัก (check weight) ที่มีน้ำหนักใกล้เคียง กับช่วงน้ำหนักที่ใช้งาน - หลังการสอบเทียบเครื่องชั่ง ให้ทำการชั่งตุ้มน้ำหนักติดต่อกันอย่างน้อย 20 วัน - นำค่าที่ชั่งได้มาคำนวณหา Mean และ SD - ในแต่ละวันนำตุ้มน้ำหนักมาชั่งและตรวจสอบว่าน้ำหนักที่ชั่งได้อยู่ใน Mean $\pm 2SD$

iii. การบำรุงรักษาและข้อควรระวังในการใช้งาน

1. ตรวจสอบและทำความสะอาดเครื่องชั่ง จานชั่ง พื้นรอบจานชั่ง และตัวเครื่องชั่งทุกครั้ง ก่อนและหลังการใช้งาน
2. ตรวจสอบระดับลูกน้ำให้มั่นใจว่าจานชั่งสมดุล ก่อนการใช้งานทุกครั้ง
3. วางเครื่องชั่งบนโต๊ะที่มั่นคง แข็งแรง และไม่มีอุปกรณ์อื่นที่ทำให้เกิดแรงสั่นสะเทือนบนโต๊ะเดียวกัน
4. ควรเปิดเครื่องทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ก่อนการใช้งาน เพื่อเป็นการอุ่นเครื่อง
5. การชั่งน้ำหนัก ควรวางสิ่งที่ต้องการชั่งตรงกลางจาน
6. ควรรับน้ำหนักของที่ชั่งออกจากจานชั่ง เมื่อชั่งเสร็จแล้ว เพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และความชื้นภายในเครื่องชั่ง และ load cell
7. อุณหภูมิภายในห้องเครื่องชั่งควรคงที่ เนื่องจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปจะทำให้เครื่องชั่งอ่านค่าผิดไป และไม่ควรชั่งของที่ร้อน
8. ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเครื่องชั่ง ให้อยู่ในช่วง 45-60 %
9. ไม่ควรชั่งน้ำหนักเกินความสามารถของเครื่องชั่ง
10. ห้ามชั่งสารเคมีโดยตรงบนจานชั่ง ให้ใช้ภาชนะที่มีฝาปิด เมื่อต้องการชั่งสารเคมีที่สามารถกัดกร่อนโลหะ หรือระเหยได้ เช่น ไอโอดีน

2.2.5 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจหาจุลชีพ การบำรุงรักษาและการใช้งานอย่างถูกต้องจะทำให้สามารถใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน

i. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. ควรมีการตรวจสอบและบำรุงรักษาโดยช่างผู้ชำนาญ อย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี
3. ทุกวันหลังจากเลิกใช้งาน ทำความสะอาดตัวกล้อง และเช็ดเลนส์ ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์ ห้ามเช็ดด้วยไซลิน แอลกอฮอล์ หรืออะซิโตน ถ้าจำเป็นต้องใช้ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิต
4. เมื่อไม่ใช้งาน ควรหาผ้าหรือพลาสติกคลุมกล้อง เพื่อป้องกันฝุ่นละออง

ii. ข้อควรระวังในการใช้งาน

1. ไม่วางกล้องจุลทรรศน์ไว้ใกล้หน้าต่าง ที่แสงแดดส่องเข้าโดยตรง
2. ไม่เก็บกล้องในที่ชื้น เพราะจะทำให้เกิดเชื้อราได้ง่าย และไม่เก็บรวมในที่ที่มีการจัดเก็บสารเคมี
3. ถ้าสารเคมีหยดใส่ตัวกล้อง หรือแท่นวางวัตถุ (stage) ใช้ผ้านุ่มที่สะอาดชุบน้ำพอหมาดๆ เช็ดทันที
4. ไม่ให้เลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) แบบ oil immersion กำลังขยาย 100X แอ่อยู่ในน้ำมันบนแผ่นสไลด์เป็นเวลานานๆ หลังจากไม่ได้ใช้แล้วให้หมุนเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100X เบี่ยงออกไป
5. ระวังอย่าให้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายอื่นเปื้อน immersion oil โดยเด็ดขาด หากพบให้ใช้ solvent ที่เหมาะสม ในการเช็ดทำความสะอาด เช็ดคราบน้ำมันบนเลนส์ จากนั้นใช้กระดาษเช็ดเลนส์ที่สะอาดและแห้ง เช็ดเลนส์นั้นให้สะอาดอีกครั้ง โดยทันที
6. ไม่ควรใช้นิ้วสัมผัสเลนส์
7. ก่อนนำสไลด์ออกจากแท่นวางวัตถุ ควรหมุนให้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำสุดอยู่เหนือตรงสไลด์ เพื่อป้องกันไม่ให้สไลด์ขีดเลนส์เป็นรอย

2.2.6 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิ เครื่องมือที่ต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการทดสอบในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา เช่น ตู้บเพาะเชื้อ ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง และอ่างน้ำร้อน การตรวจสอบความถูกต้องของการควบคุมอุณหภูมิของเครื่องมือเหล่านี้ จำเป็นต้องใช้เทอร์โมมิเตอร์ในการตรวจสอบ ดังนั้นควรเลือกเทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัดให้เหมาะสมกับช่วงอุณหภูมิที่ต้องการควบคุม โดยทั่วไปเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

1. Liquid in glass thermometer มี 2 ชนิด คือ

1.1 Total-immersion เป็นชนิดที่ต้องให้เทอร์โมมิเตอร์ทั้งแท่งสัมผัสกับสิ่งที่ต้องการวัด จึงเหมาะสำหรับการติดตามเครื่องมือควบคุมอุณหภูมิ เช่น ตู้เย็น หรือ ตู้บเพาะเชื้อ

1.2 Partial-immersion เป็นชนิดที่ให้บางส่วนของแท่งเทอร์โมมิเตอร์สัมผัสกับสิ่งที่ต้องการวัด จึงเหมาะสมสำหรับการวัดอุณหภูมิของอ่างน้ำร้อน

2. Digital thermometer ประกอบด้วย เซ็นเซอร์หรือโพรบ และมิเตอร์ที่อ่านค่า เชื่อมต่อกับสายต่อ (lead) เป็นเทอร์โมมิเตอร์ที่นิยมใช้กันมาก เพราะสามารถนำมิเตอร์ที่อ่านค่าไว้นอกตัวตู้ที่ต้องการวัดได้ในระยะห่างมากที่สุดเท่ากับความยาวของสายต่อระหว่างเซ็นเซอร์กับมิเตอร์ จึงทำให้อ่านค่าที่วัดได้สะดวก อย่างไรก็ตามต้องเลือกชนิดของโพรบให้เหมาะสมกับสิ่งที่ต้องการวัด เช่น ถ้าวัดในของเหลวก็ต้องใช้โพรบที่จุ่มในของเหลวได้

i. การสอบเทียบ

- | | |
|--------------------------------|---|
| 1. Liquid in glass thermometer | ความถี่ทุก 5 ปี และ check ice point ทุก 6 เดือน |
| 2. Digital thermometer | ความถี่อย่างน้อยทุก 2 ปี |

อุณหภูมิที่สอบเทียบ	รายการ	MPE	การตรวจสอบผลสอบเทียบ
อุณหภูมิที่ใช้งาน	Temperature accuracy	$\frac{1}{3}$ ของช่วงอุณหภูมิที่ต้องการควบคุม เช่น $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ $\text{MPE} = \pm 1^{\circ}\text{C}$	$\text{Error} + \text{uM} \leq \text{MPE}$

ii. การบำรุงรักษาและข้อควรระวัง

- ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
- Liquid in glass thermometer ตรวจสอบช่องว่างหรือฟองอากาศใน column อย่างน้อยทุกเดือน
- Digital thermometer ถ้าเป็นเครื่องที่ใช้แบตเตอรี่ ต้องตรวจสอบอายุของแบตเตอรี่อย่างน้อยทุกเดือน
- ตรวจสอบการบิดงอของสาย (lead) ที่ต่อระหว่างเซ็นเซอร์กับมิเตอร์
- กรณีสารปรอทหกเลอะ
 - ถ้าปรอทมีจำนวนน้อย ให้ทำความสะอาดโดยโรยผงกำมะถันคลุมบนปรอท
 - ถ้าปรอทมีจำนวนมาก ให้ใช้ปูนขาวแห้ง ทราย และผงกำมะถัน/โซดาแอชแทน หรือใช้เครื่องมือ

สุญญากาศดูดปรอทที่หกเลอะโดยตรง กวาดเก็บใส่ในภาชนะปิด เก็บแยกจากขยะทั่วไป แล้วทำความสะอาดพื้นและเช็ดให้แห้ง

2.2.7 เครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง (Autoclave)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ โดยให้สิ่งที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อสัมผัสกับไอน้ำอ้อมตัวที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนด การทำงานของเครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง ใช้หลักการให้ไอน้ำไปแทนที่อากาศในตัวถังจนหมด แล้วปิดฝาตัวถังจนความดันและอุณหภูมิภายในตัวถังเพิ่มขึ้นตามที่กำหนด เนื่องจากอุณหภูมิของไอน้ำอ้อมตัว มีความสัมพันธ์กับความดัน ดังนั้นจึงต้องทำการสอบเทียบ และตรวจสอบขณะใช้งาน เพื่อให้มั่นใจว่าใช้งานได้อย่างถูกต้อง

i. การสอบเทียบ ความถี่อย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือหลังการซ่อมเครื่อง

อุณหภูมิที่สอบเทียบ	รายการ	MPE	การตรวจสอบผลสอบเทียบ
121 °C	Temperature	$\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	Error + uM $\leq$ MPE
	accuracy	$\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}^*$	ทุกตำแหน่งของการสอบเทียบ

* สำหรับงานตรวจวิเคราะห์อาหาร

ii. การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ใช้ข้อต่อเคลปเทป (Autoclave indicator tape) ติดที่สิ่งของที่ทำให้ปราศจากเชื้อ หลังผ่านการนึ่งไอน้ำความดันสูง สีของเทปจะเปลี่ยนเป็นสีดำ เพื่อแสดงว่าสิ่งของนั้นๆ ได้ผ่านกระบวนการนึ่งไอน้ำความดันสูงแล้วเท่านั้น
2. ตรวจสอบและบันทึกอุณหภูมิ ความดันด้วยหน่วยวัดปอนด์ต่อตารางนิ้ว และเวลาที่ใช้งานทุกครั้ง
3. ตรวจสอบระบบการทำงานและประสิทธิภาพของเครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง สัปดาห์ละครั้ง ด้วยการทดสอบ spore test โดยใช้สปอร์ของ *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953
4. หากเกิดการปนเปื้อนของภาชนะภายหลังการนึ่งไอน้ำความดันสูงหรือ spore test ไม่ผ่าน ควรตรวจเช็คเครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง และทำ sterility test จนกว่าจะแน่ใจว่าไม่เกิดการปนเปื้อนอีก

iii. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. เปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดในตัวถังทุกวัน หรืออย่างน้อยทุกสัปดาห์ หรือเมื่อมีอาหารเลี้ยงเชื้อปนเปื้อนในตัวถัง
3. ก่อนใช้งานทุกครั้งต้องตรวจสอบระดับน้ำในตัวถัง ให้อยู่ในระดับที่กำหนด น้ำที่ใช้ควรเป็นน้ำกรอง ไม่ควรใช้น้ำประปา เพราะจะทำให้เกิดตะกอนจับที่ก้นตัวถัง

2.2.8 ตู้บเพาะเชื้อ (Incubator)

ตู้บเพาะเป็นเครื่องมือที่มีการควบคุมอุณหภูมิของอากาศภายในตู้ ใช้ในการบเพาะเชื้อที่มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ แหล่งกำเนิดความร้อน บางชนิดจะมีพัดลมในการช่วยกระจายความร้อนให้มีความสม่ำเสมอ เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องสอบเทียบและตรวจสอบอุณหภูมิภายในตู้ เพื่อให้มั่นใจว่าเป็นไปตามความต้องการใช้งาน สำหรับตู้บเพาะเชื้อชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ incubator) จะมีระบบบรรจุ และควบคุมคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และความชื้นภายในตู้ด้วย

i. การสอบเทียบ ความถี่อย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือหลังการซ่อมเครื่อง

อุณหภูมิที่สอบเทียบ	รายการ	MPE	การตรวจสอบผลสอบเทียบ
อุณหภูมิที่ใช้งานตัว 35 °C	Temperature accuracy & stability	$\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	ตรวจสอบทุกตำแหน่งภายในตู้ที่ได้รับ การสอบเทียบ โดยใช้เกณฑ์ยอมรับ $\text{Error} + \text{UM} \leq \text{MPE}$
อุณหภูมิที่ใช้งานตัว 36 °C	Temperature accuracy & stability	$\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$	ตรวจสอบทุกตำแหน่งภายในตู้ที่ได้รับ การสอบเทียบ โดยใช้เกณฑ์ยอมรับ $\text{Error} + \text{UM} \leq \text{MPE}$
อุณหภูมิที่ใช้งานตัว 42 °C	Temperature accuracy & stability	$\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$	ตรวจสอบทุกตำแหน่งภายในตู้ที่ได้รับ การสอบเทียบ โดยใช้เกณฑ์ยอมรับ $\text{Error} + \text{UM} \leq \text{MPE}$

ii. การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. อุณหภูมิที่จุดใช้งาน และเกณฑ์การยอมรับ เช่น $35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (สำหรับการทดสอบ *Staphylococcus* spp. ที่อุณหภูมิมากกว่า $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ อาจตรวจไม่พบ MRSA)
2. ตรวจสอบอุณหภูมิทุกวันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ซึ่งอ่านค่าละเอียด $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว และมีความถูกต้องของการวัด โดยมี $\text{MPE} \leq \frac{1}{3}$ เท่าของ MPE ของตู้ที่ต้องการวัด พร้อมทั้งบันทึกอุณหภูมิไว้
3. สำหรับตู้เฉพาะเชื้อชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิบัติตามข้อ 1 และข้อ 2 พร้อมทั้งตรวจสอบปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ทุกครั้งที่ใช้งาน โดยปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ต้องอยู่ในช่วงใช้งานที่กำหนดไว้ เช่น 5-10% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น

iii. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. เช็ดทำความสะอาดภายในตู้อย่างน้อย เดือนละ 1 ครั้ง โดยใช้สเปรย์แอลกอฮอล์ 70% หรือน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับงาน

2.2.9 ตู้อบร้อน (Hot air oven)

เป็นเครื่องที่ใช้ความร้อนในการทำให้อุปกรณ์แห้งหรือปราศจากเชื้อ โดยใช้ความร้อนแห้ง ซึ่งต้องการระดับอุณหภูมิที่ถูกต้องและเหมาะสมกับการใช้งาน

i. การสอบเทียบ ความถี่อย่างน้อยทุก 3 ปี หรือหลังการซ่อมเครื่อง

อุณหภูมิที่สอบเทียบ	รายการ	MPE	การตรวจสอบผลการสอบเทียบ
170 °C	Temperature accuracy & stability	$\pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$	ตรวจสอบทุกตำแหน่งภายในตู้ที่ได้รับ การสอบเทียบ โดยใช้เกณฑ์ยอมรับ $\text{Error} + \text{UM} \leq \text{MPE}$

ii. การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ตรวจสอบและบันทึกอุณหภูมิทุกครั้งที่ใช้งาน โดยกำหนดเกณฑ์ใช้งานในช่วง 160-180 °C
2. ตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานให้ปราศจากเชื้อ โดยใช้สปอร์ของ *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 (*Bacillus subtilis* var. *niger* (*Bacillus globigii*)) ทุก 3 เดือน

iii. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. เช็ดทำความสะอาดชั้นวางของภายในตู้และผนังภายนอกตู้ด้วยผ้าชุบน้ำสะอาดทุกเดือน

2.2.10 ตู้เย็น (Refrigerator)

ใช้ในการเก็บรักษา อาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำยา สารเคมี และเชื้อแบคทีเรีย อุณหภูมิที่ให้อยู่ในช่วง 2 - 8 °C

i. การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัดที่ ± 1 °C และได้รับการสอบเทียบอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง มาใช้ในการตรวจสอบอุณหภูมิของตู้ทุกวัน อย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง โดยอุณหภูมิที่ยอมรับได้อยู่ในช่วง 2 - 8 °C
2. บันทึกอุณหภูมิที่ตรวจสอบได้ทุกวัน

ii. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. ทำความสะอาดภายในตู้ทุก 2 เดือน หรือหลังจากมีการซ่อมแซม
3. ทำความสะอาดถาดหรือภาชนะรองรับน้ำจากระบบละลายน้ำแข็งของระบบทำความเย็นทุกสัปดาห์

2.2.11 ตู้แช่แข็ง (Freezer)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ (stock culture) น้ำยา และแผ่นยาปฏิชีวนะ ต้องเลือกใช้อุณหภูมิให้เหมาะสมกับสิ่งที่ต้องการเก็บรักษา โดยทั่วไปตู้แช่แข็ง -20 °C หรือต่ำกว่า เหมาะสำหรับเก็บรักษาแผ่นยาปฏิชีวนะ ตู้แช่แข็ง -30 °C ถึง -70 °C เหมาะสำหรับเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์นานปานกลาง (~5 ปี) กรณีไม่สามารถเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์นานปานกลางที่ตู้แช่แข็ง -20 °C ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น scientific freezer ได้ กรณีต้องการเก็บนานกว่า 5 ปี สามารถเก็บได้ที่ตู้แช่แข็ง -70 °C หรือต่ำกว่า

i. การตรวจสอบการใช้งาน

1. กำหนดช่วงอุณหภูมิที่ยอมรับได้ตามความต้องการใช้งาน เช่น ตู้แช่แข็ง -20 °C = $(-20\text{ °C}) \pm (2\text{ °C})$ หรือ $(-70\text{ °C}) = (-70\text{ °C}) \pm (5\text{ °C}) = \frac{1}{3}$ ของช่วงอุณหภูมิที่ต้องการควบคุม
2. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัดที่ ± 1 °C และได้รับการสอบเทียบ หรือตรวจสอบ (Intermediate check หรือ Interval check) ตามกำหนด มาใช้ในการตรวจสอบอุณหภูมิของตู้ทุกวันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง
3. บันทึกอุณหภูมิที่ตรวจสอบได้ทุกวัน

ii. การบำรุงรักษาและข้อควรระวัง

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. ควรละลายน้ำแข็งภายในตู้ทุก 6 เดือน
3. เมื่อน้ำแข็งละลายหมด เช็ดทำความสะอาดภายในตู้ด้วยน้ำอุ่น และเช็ดให้แห้ง
4. ห้ามจัดเก็บสิ่งที่ต้องการเก็บรักษาในช่องแช่แข็งของตู้เย็นสำหรับครัวเรือน ซึ่งจะมีระบบทำความเย็น

เป็นแบบละลายน้ำแข็งอัตโนมัติ (Frost-free freezers) ทำให้สิ่งที่เก็บได้รับการแช่และละลายตลอดวงจร ซึ่งจะทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสิ่งที่ต้องการเก็บรักษา

2.2.12 อ่างน้ำร้อน (Water Bath)

เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือ บ่มการทดสอบ โดยใช้ความร้อนจากน้ำที่อยู่ในอ่าง

i. การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ตรวจสอบระดับน้ำในอ่างก่อนใช้งานทุกครั้ง
2. กำหนดช่วงอุณหภูมิที่ยอมรับได้ตามการใช้งาน
3. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัด 1 ส่วน 3 ของช่วงอุณหภูมิที่ต้องการควบคุมและได้รับการสอบเทียบ หรือตรวจสอบ (Intermediate check หรือ Interval check) ตามกำหนด มาใช้ในการตรวจสอบอุณหภูมิทุกครั้งที่มีการใช้งาน อุณหภูมิที่วัดได้ต้องอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้
4. บันทึกอุณหภูมิที่ตรวจสอบได้ทุกครั้ง

ii. การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. เปลี่ยนน้ำในอ่างและทำความสะอาดภายในอ่างทุกสัปดาห์
3. น้ำที่ใช้ควรเป็นน้ำกลั่น หรือน้ำกรอง

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข. ความหมายของการสอบเทียบ [อินเทอร์เน็ต]. (ม.ป.ท.) [เข้าถึงเมื่อ 2 กรกฎาคม 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://medi.moph.go.th/system2533/Masses-Calibration.pdf>.
2. สมาคมนิติการแพทย์. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2560 ฉบับ “60 ปี เทคนิคการแพทย์ไทย”. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: สมาคมนิติการแพทย์; 2560.
3. สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. คู่มือแนวทางการตรวจประเมินเพื่อขึ้นทะเบียนเป็นหน่วยบริการที่รับการส่งต่อทั่วไป ฉบับปรับปรุงเดือน มีนาคม ปีงบประมาณ 2560. 2560.
4. National Association of Testing Authorities (NATA). General Equipment - Calibration and checks. Australia: NATA; 2015.

บทที่ 3

บุคลากร

- 3.1 คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น
- 3.2 จำนวนบุคลากร
- 3.3 ความปลอดภัยและสุขภาพบุคลากร

ห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ ทั้งด้านสาธารณสุขและด้านสุขภาพสัตว์
ควรกำหนดคุณสมบัติของบุคลากร และแผนการพัฒนาบุคลากร รายละเอียดดังนี้

3.1 คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น

3.1.1 ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก

ลักษณะงาน	ตำแหน่ง	คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น สำหรับงานจุลชีววิทยา
ผู้ช่วยตรวจวิเคราะห์	เจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์ การแพทย์	หัวหน้าห้องปฏิบัติการต้องกำหนดแผนการฝึกอบรม และประเมินผลการปฏิบัติงานเป็นระยะ โดยบุคลากร ต้องสอบผ่านการประเมินสมรรถนะการปฏิบัติงาน (competency) ในงานวิเคราะห์ที่รับผิดชอบ อ้างอิง การประเมินตามเกณฑ์การประเมินของห้องปฏิบัติการ
ผู้ตรวจวิเคราะห์	นักเทคนิคการแพทย์	บุคลากรต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐานด้าน จุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงานภายนอก ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด
ผู้รับรองผลวิเคราะห์	นักเทคนิคการแพทย์	บุคลากรต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐานด้าน จุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงานภายนอก ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด และควร มีประสบการณ์ด้านจุลชีววิทยาอย่างน้อย 1 ปี

3.1.2 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการรักษา

ลักษณะงาน	ตำแหน่ง	คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น สำหรับงานจุลชีววิทยา
ผู้ตรวจวิเคราะห์	นักเทคนิคการแพทย์	บุคลากรต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐานด้าน จุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงานภายนอก ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด
ผู้รับรองผลวิเคราะห์	นักเทคนิคการแพทย์	บุคลากรต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐาน ด้านจุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงานภายนอก ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด และควร มีประสบการณ์ด้านจุลชีววิทยาอย่างน้อย 2 ปี

3.1.3 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการสอบสวนโรค

ลักษณะงาน	ตำแหน่ง	คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น สำหรับงานจุลชีววิทยา
ผู้ตรวจวิเคราะห์	นักเทคนิคการแพทย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์	บุคลากรต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐาน ด้านจุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงาน ภายนอก ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุข กำหนด
ผู้รับรองผลวิเคราะห์	ผู้มีความเชี่ยวชาญและ มีประสบการณ์ในสาขา จุลชีววิทยาทางการแพทย์ อย่างน้อย 3 ปี	

3.1.4 ห้องปฏิบัติการแห่งชาติ

ลักษณะงาน	ตำแหน่ง	คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น สำหรับงานจุลชีววิทยา
ผู้ตรวจวิเคราะห์	นักเทคนิคการแพทย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์	บุคลากรต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐาน ด้านจุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงาน ภายนอก ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุข กำหนด
ผู้รับรองผลวิเคราะห์	ผู้มีความเชี่ยวชาญและ มีประสบการณ์ในสาขา จุลชีววิทยาทางการแพทย์ อย่างน้อย 3 ปี	

3.1.5 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับนานาชาติ

ลักษณะงาน	ตำแหน่ง	คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น สำหรับงานจุลชีววิทยา
ผู้ตรวจวิเคราะห์	เป็นไปตามข้อกำหนดของหน่วยงาน accreditation	
ผู้รับรองผลวิเคราะห์		

หมายเหตุ หลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด อยู่ระหว่างการดำเนินการจัดทำ

3.2 จำนวนบุคลากร

การกำหนดจำนวนบุคลากรสำหรับห้องปฏิบัติการแต่ละระดับ ควรคิดคำนวณตามภาระงานของห้องปฏิบัติการ โดยคิดตามปริมาณงาน เป็นไปตามที่กระทรวงกำหนด (ผนวก ข)

3.3 ความปลอดภัยและสุขภาพบุคลากร

การเฝ้าระวังสุขภาพของบุคลากรเป็นกิจกรรมที่สำคัญและมีความจำเป็นอย่างมาก ซึ่งควรดำเนินการควบคู่ไปกับการประเมินและบริหารจัดการความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการทำงาน (ดูรายละเอียดในคู่มือมาตรฐานความปลอดภัยฯ บทที่ 15)

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานคณะกรรมการข้าราชการพลเรือน (สำนักงาน ก.พ.). คู่มือวิเคราะห์อัตรากำลังของส่วนราชการ เดือน พฤศจิกายน 2553.

บทที่ 4

การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจด้านจุลชีววิทยา ในขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์

- 4.1 การส่งตรวจ การเก็บสิ่งส่งตรวจ และการนำส่งสิ่งส่งตรวจ
- 4.2 การตรวจรับสิ่งส่งตรวจของห้องปฏิบัติการ
- 4.3 การเก็บรักษาส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์
- 4.4 การเตรียมสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการแต่ละระดับต้องมีระเบียบปฏิบัติระบุนิยาม/กิจกรรมขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์ เพื่อให้มั่นใจว่ากระบวนการเป็นไปตามขั้นตอนที่กำหนด

4.1 การส่งตรวจ การเก็บส่งตรวจ และการนำส่งส่งตรวจ

ห้องปฏิบัติการต้องมีคู่มือแนะนำวิธีการส่งตรวจ วิธีการเก็บส่งตรวจจากร่างกายผู้ป่วย และวิธีนำส่งส่งตรวจตามหลักวิชาการ โดยคำนึงถึงความปลอดภัยและคุณภาพของส่งตรวจ และแจกจ่ายให้แก่หน่วยงานที่เก็บตัวอย่างมาส่งที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อประโยชน์ในการแปลผล ซึ่งควรมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1.1 ระเบียบวิธีการตรวจ เวลาที่ให้บริการทั้งในและนอกเวลาทำการ การจัดเก็บตัวอย่าง การปฏิเสธตัวอย่างที่ไม่เหมาะสม การรับตรวจวิเคราะห์เพิ่ม ในกรณีที่แพทย์ต้องการส่งตรวจเพิ่มขึ้น

4.1.2 มีการขึ้นส่งส่งตรวจ/ใบนำส่งที่มีข้อมูลสำคัญครบถ้วน สามารถสอบถามกลับผู้ป่วยได้ ระบุเวลาเก็บส่งตรวจให้ชัดเจน ระบุชนิดของส่งตรวจและตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง การวินิจฉัยเบื้องต้น และยาปฏิชีวนะที่กำลังใช้ และระบุชื่อผู้เก็บ พร้อมเบอร์ติดต่อ

4.1.3 ระเบียบวิธีการเก็บส่งตรวจทางจุลชีววิทยาชนิดต่างๆ เช่น เลือด (ใช้ 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ฉำเชื้อที่ผิวหนัง) เสมหะ ปัสสาวะ หนอง สารน้ำในร่างกาย ชิ้นเนื้อ และอื่นๆ โดยต้องเก็บส่งตรวจในสถานที่ที่เหมาะสม เป็นส่วนตัว สะอาด และปลอดภัย

4.1.4 ระเบียบวิธีการนำส่งส่งตรวจทางจุลชีววิทยา ภาชนะที่ใช้ เวลา และอุณหภูมิที่เหมาะสม ปลอดภัย ต่อผู้นำส่งและสิ่งแวดล้อม

4.1.5 หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของเชื้อประจำถิ่นที่อยู่รอบๆบริเวณที่เก็บส่งตรวจ เช่น การเก็บส่งตรวจแผล ผิ หนองบริเวณผิวหนัง ต้องใช้น้ำยาทำลายเชื้อทำความสะอาดผิวหนังบริเวณที่จะเก็บ

4.1.6 เก็บส่งตรวจเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ขณะเริ่มมีระยะฟักตัวของโรค เพื่อให้ได้ส่งตรวจที่เป็นตัวแทนที่ดีของการติดเชื้อ

4.1.7 เลือกรูปวิธีการเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับส่งตรวจแต่ละชนิด ดังนี้

4.1.7.1 สวอบ (Swab) ต้องป้ายหรือถูแรงๆ และต้องทำให้เปียกชุ่มก่อน เพื่อให้สวอบดูดซับส่งตรวจได้มาก สวอบไม่สามารถใช้เพาะเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิด ไม่เหมาะสมสำหรับการเพาะเชื้อรา เพราะเก็บ mycelium ไม่ได้ ใช้เพาะเชื้อ Mycobacterium ไม่ได้ ต้องใช้สารน้ำหรือชิ้นเนื้อ

4.1.7.2 สารน้ำ (Aspirates) ส่งตรวจที่ได้จากการดูดมีคุณภาพดีกว่าสวอบ ให้ทำความสะอาดผิวหนังก่อนเจาะ แล้วตามด้วย 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ชิ้นเนื้อ (Tissue) ที่ใช้เพาะเชื้อ เช่น แพทย์ต้องตัดชิ้นเนื้อโดยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique)

4.1.7.3 เสมหะ (Sputum) เป็นส่งตรวจที่ดี สำหรับการวินิจฉัยโรคนิวโมเนีย แต่ต้องไม่มีน้ำลายปนเปื้อน จึงควรตรวจคุณภาพ โดยการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนการเพาะเชื้อ เสมหะที่ดีควรมีเซลล์บุผิว (Squamous epithelial cell) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 cells/LPF

4.1.7.4 ปัสสาวะ (Urine) เพาะเชื้อจากการเก็บช่วงกลาง (midstream collection) การเก็บโดยการสวนปัสสาวะ (catheterization) สำหรับ Foley catheter tip ไม่เหมาะสำหรับการเพาะเชื้อเพราะมีการปนเปื้อนของเชื้อจากเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินปัสสาวะ (urethral micro flora) หากจำเป็นต้องเพาะเชื้อไม่ต้องทำ colony count

4.1.7.5 อุจจาระ (Feces/Stool) เหมาะสำหรับเพาะเชื้อมากกว่า rectal swabs มีโอกาสได้เชื้อก่อโรคมกกว่า สำหรับ rectal swabs ต้องใส่ใน transport media เสมอ

4.1.7.6 Hemoculture ให้ทำความสะอาดผิวหนังก่อนเจาะ แล้วตามด้วย 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ปริมาณเลือดที่เก็บสำหรับผู้ป่วยผู้ใหญ่หรือเด็กที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 36.5 กิโลกรัม ขึ้นไป ให้เจาะเลือดได้ 8 - 10 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 45 มิลลิลิตร สำหรับผู้ป่วยเด็กที่มีน้ำหนักตัวต่ำกว่า 36.5 กิโลกรัม ให้เจาะเลือด 1 - 3 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 9 มิลลิลิตร โดยอัตราส่วนระหว่างเลือดและปริมาณอาหาร ประมาณ 1:5 ถึง 1:10 (ปริมาณที่เหมาะสมจะมีคำแนะนำจากบริษัทผู้ผลิตที่บ่งชี้ไว้ข้างขวด) เพื่อลดอัตราการปนเปื้อนควรใช้ 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ทำความสะอาดบริเวณจุดเจาะ หรืออาจใช้แอลกอฮอล์ 70% ในการเช็ดจุดเจาะเพาะเชื้อ ไม่แนะนำให้ใช้สารที่มี iodine เป็นส่วนประกอบเช็ดจุดเจาะ เพราะอาจทำให้จุลชีพเปลี่ยนสภาพได้ ทั้งนี้ไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนเข็ม

4.1.8 นำส่งในภาชนะมีฝาปิดแน่นไม่มีการรั่วไหล บรรจุภาชนะเก็บสิ่งตรวจในถุงพลาสติก เพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ โดยเลือกใช้อาหารนำส่ง (transport media) ที่เหมาะสม เช่น

4.1.8.1 Carry Blair สำหรับ stool หรือ rectal swab

4.1.8.2 Stuart's/ Amies w/o charcoal สำหรับส่งตรวจทุกชนิด

4.1.8.3 Thioglycolate สำหรับการเพาะเชื้อ anaerobe bacteria

4.1.8.4 Hemoculture media สำหรับเลือด

4.2 การตรวจรับสิ่งส่งตรวจของห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการต้องมีการกำหนดเกณฑ์การยอมรับหรือปฏิเสธสิ่งส่งตรวจที่ชัดเจน ครอบคลุมประเด็นอย่างน้อยต่อไปนี้

4.2.1 ความถูกต้องของข้อมูลผู้ป่วยในใบส่งตรวจและฉลากบนภาชนะ เช่น ชื่อ-นามสกุล HN อายุ หน่วยงานที่ส่งตรวจ ชนิดสิ่งส่งตรวจ รายการส่งตรวจ เป็นต้น

4.2.2 คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ เช่น ปัสสาวะที่ตั่งอุณหภูมิห้องนานน้อยกว่า 2 ชั่วโมง เสมหะที่ดีควรมีเซลล์บุผิว (squamous epithelial cell) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 cells/LPF

4.2.3 ความถูกต้องของชนิดสิ่งส่งตรวจและอาหารนำส่งที่ใช้และวันหมดอายุ

4.2.4 ความสมบูรณ์ของภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ ต้องไม่มีรอยแตกรั่วซึมหก หรือปิดฝาไม่สนิท

4.3 การเก็บรักษาส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการต้องมีวิธีการเก็บรักษาส่งตรวจที่เหมาะสมและปลอดภัย ทั้งในกรณีช่วงก่อนการวิเคราะห์ หรือส่งตรวจนอกเวลาทำการ หรือระหว่างรอส่งไปตรวจวิเคราะห์ภายนอกโรงพยาบาล โดยระบุวิธีการเก็บรักษาส่งตรวจ ครอบคลุมถึงช่วงนอกเวลาทำการ หรือถ้าตรวจทันทีไม่ได้ ต้องมีวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม เช่น ปัสสาวะให้เก็บในตู้เย็น เสมหะจากผู้ใหญ่ให้เก็บในตู้เย็น สิ่งส่งตรวจจากบริเวณที่ไม่พบเชื้อประจำถิ่น เช่น น้ำในร่างกาย น้ำไขสันหลัง (CSF) ขวด hemoculture ให้เก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นต้น และระบุวิธีการเก็บรักษา และการนำส่งสิ่งส่งตรวจไปยังห้องปฏิบัติการภายนอกโรงพยาบาล

4.4 การเตรียมสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการต้องมีวิธีการเตรียมสิ่งส่งตรวจที่เหมาะสม ปลอดภัย ถูกต้องตามหลักวิชาการ และสามารถสอบกลับได้ ดังนี้

4.4.1 ระเบียบวิธีการขึ้นสิ่งส่งตรวจที่จะนำไปตรวจให้ชัดเจน โดยต้องมีข้อมูลขึ้นซึ่งที่สามารถสอบกลับได้อย่างถูกต้อง เช่น

4.4.1.1 สไลด์ ระบุชื่อ Lab Number และวันที่เตรียมสไลด์

4.4.1.2 Plate ระบุ Lab Number วันที่ลง plate และชนิดสิ่งส่งตรวจ

4.4.1.3 Biochem tube ระบุ Lab Number เป็นอย่างน้อย

4.4.2 ระเบียบวิธีเตรียม Smear เพื่อย้อมสีหรือตรวจโดยตรงด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ถูกต้อง ได้มาตรฐาน เช่น Sputum AFB ต้องใช้ไม้ปลายหัก เลือกเฉพาะส่วนเนื้อเสมหะ smear แบบ repeated coiled ขนาดประมาณ 2 x 3 เซนติเมตร

4.4.3 ระเบียบวิธีการเตรียมสิ่งส่งตรวจก่อนนำไปเพาะเชื้อใน primary plate เช่น CSF ต้องปั่นด้วย sterile technique ก่อนนำไปเพาะเชื้อ (หรือ ทำ smear)

4.4.3.1 ถ้ามีปริมาณมากกว่า 1 มิลลิลิตร และใส ให้นำไปปั่นแยก โดยใช้ความเร็ว 2,500 rpm นาน 15 นาที ใช้ pasteur pipette ปราศจากเชื้อ ดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง เหลือตะกอนก้นหลอดประมาณ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าผสมตะกอนด้วย vortex mixer เพื่อใช้อย้อมและเพาะเชื้อต่อไป กรณี CSF ให้พิจารณาจากปริมาณและรายการทดสอบ ถ้าเพียงพอต่อการทดสอบไม่จำเป็นต้องปั่นตกตะกอน

4.4.3.2 ถ้ามีปริมาณน้อยกว่า 1 มิลลิลิตร หรือขุ่น ไม่ต้องปั่น ทำการเพาะเชื้อได้เลย

หมายเหตุ ควรทำการเพาะเชื้อทันที เมื่อได้รับสิ่งตรวจ แต่ถ้ายังทำไม่ได้ให้เก็บในอุณหภูมิห้อง

ห้ามเก็บใส่ตู้เย็น

เอกสารอ้างอิง

1. มวลัย วรจิตร, วันทนา ปวีณกิตติพร, สุวรรณ ตระกูลสมบุญ, สุรางค์ เดชศิริเลิศ. คู่มือการปฏิบัติงานแบบทีเรียและราสำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ธนาเพลส; 2557.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100 Performance Standards for Antimicrobial. Susceptibility Testing. 27th ed. Pennsylvania: CLSI; 2017.
3. International Organization for Standardization (ISO). ISO 15189:2012 Medical laboratories - Requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva: ISO; 2012.
4. International Organization for Standardization (ISO). ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment - General requirements for proficiency testing. Geneva: ISO; 2010.
5. World Health Organization. Laboratory quality management system: handbook. Geneva: WHO; 2011.

บทที่ 5

เทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

- 5.1 การตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง
- 5.2 การเพาะเชื้อจากเลือด
- 5.3 การเพาะเชื้อจากน้ำไขสันหลังและน้ำจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย
- 5.4 การตรวจวินิจฉัย
- 5.5 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ
- 5.6 การตรวจด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา
- 5.7 เทคนิคอื่นในการตรวจวินิจฉัยจุลชีพโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ

5.1 การตรวจสอบสิ่งส่งตรวจโดยตรง

การตรวจสอบสิ่งส่งตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีการวินิจฉัยโรคติดเชื้ออย่างรวดเร็ว การตรวจทางกล้องจุลทรรศน์อาจดูสด เช่น การตรวจสดในสารละลาย 10 - 30% Potassium hydroxide (KOH) การตรวจสดในอินเดียนิก (India ink preparation) หรือทำการย้อมสีต่างๆ ตามความเหมาะสม เช่น ย้อมแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ย้อม acid fast bacilli (AFB) เพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรีย ย้อม modified acid fast bacilli เพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อ *Nocardia* กับ *Rhodococcus* และวิธีย้อมสีพิเศษต่างๆ (ดูรายละเอียดวิธีย้อมและอ่านผลในบทที่ 3 และบทที่ 5 คู่มือปฏิบัติงานแบคทีเรียและรา)

5.2 การเพาะเชื้อจากเลือด

เชื้อที่เป็นสาเหตุก่อโรคที่พบบ่อย ได้แก่ เชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* group A and non-group A *Streptococcus*, viridans group *Streptococcus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus* spp., *Neisseria meningitidis* และ *Vibrio* spp. เป็นต้น เชื้อประจำถิ่น เช่น coagulase negative *Staphylococci* อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่ใส่สายต่างๆ เข้าไปในร่างกาย ผู้ป่วยมะเร็ง ผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ เป็นต้น การพิจารณาว่าเป็นเชื้อก่อโรคหรือปนเปื้อนจะพิจารณาพร้อมกับอาการทางคลินิกของไข้ ระยะเวลาการเจริญเติบโตของเชื้อที่ให้ผลบวกในแต่ละขวด จำนวนขวดที่ให้ผลบวก และแบบแผนความไวของสารต้านจุลชีพของแต่ละขวด การเพาะเชื้อจากเลือดจึงเป็นการวินิจฉัยที่ต้องคำนึงถึงความถูกต้อง การรายงานผลที่รวดเร็วเป็นแนวทางสำหรับแพทย์ในการเลือกใช้สารต้านจุลชีพที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วย

5.2.1 การเพาะเชื้อจากเลือดด้วยวิธีทั่วไป (Conventional method) การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้ออาจใช้ brain heart infusion (BHI) broth, tryptic soy broth (TSB) ที่เติมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 0.05% sodium polyanethol sulfonate (SPS) ปริมาณเลือดที่เก็บสำหรับผู้ป่วยผู้ใหญ่หรือเด็กที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 36.5 กิโลกรัมขึ้นไป ให้เจาะเลือด 8 - 10 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 45 มิลลิลิตร สำหรับผู้ป่วยเด็กที่มีน้ำหนักตัวต่ำกว่า 36.5 กิโลกรัม ให้เจาะเลือด 1 - 3 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 9 มิลลิลิตร โดยอัตราส่วนระหว่างเลือดและปริมาณอาหารประมาณ 1:5 ถึง 1:10 (ปริมาณที่เหมาะสมจะมีคำแนะนำจากบริษัทผู้ผลิตที่บ่งชี้ไว้ข้างขวด) นำขวด hemoculture อบที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C นาน 7 วัน ทำการเพาะเชื้อหลังอบขวดข้ามคืน และรายงานผลเบื้องต้น หากเชื้อยังไม่ขึ้นให้สังเกตดูการเจริญของเชื้อทุกวัน ขวดที่มีการเจริญของเชื้อจะมีลักษณะต่อไปนี้ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อมีความขุ่น บริเวณผิวหน้าหรือขุ่นทั้งขวด มีการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดง มีเม็ดสีขาวเล็กๆ อยู่บนผิวหน้า หรืออยู่เหนือชั้นเม็ดเลือด ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อมีฟองก๊าซ หรือก้อน clot หรือมีก้อนคล้ายล้าลี ในกรณีพบลักษณะดังกล่าว ให้เพาะเชื้อทันทีบน chocolate agar (CA), blood agar (BA) และ macconkey agar (MAC) อบ plate CA ในบรรยากาศ 5 - 10% CO₂ ที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C นาน 2 - 3 วัน สำหรับ BA และ MAC อบที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C นาน 2 - 3 วัน พร้อมกับป้ายลงสไลด์ทำการย้อมแกรม

5.2.2 การเพาะเชื้อจากเลือดด้วยระบบกึ่งอัตโนมัติ (Continuously monitored automated blood culture system) ปริมาณเลือดต่อขวดประมาณ 5 - 8 มิลลิลิตร ปริมาณที่เหมาะสมจะมีคำแนะนำจากบริษัทผู้ผลิตที่บ่งชี้ไว้ข้างขวด นำขวดใส่เครื่องเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C เครื่องจะทำการตรวจอัตโนมัติอย่างต่อเนื่อง ตามหลักการที่แตกต่างกันไปของแต่ละบริษัท ระยะเวลาในการบวคเพาะเชื้อภายใน 5 วัน ไม่มีความจำเป็นที่ต้องบวคเพาะเชื้อเกิน 5 วัน ยกเว้น เชื้อรา ระยะเวลาจะเกิน 5 วัน สำหรับเชื้อที่สงสัยในกลุ่ม HACEK, *Brucella*, *Capnocytophaga* และ *Campylobacter* และไม่มีคำแนะนำในการทำ blind subculture เมื่อพบการเจริญของเชื้อระบบจะมีการแจ้งเตือน (alarm) ผ่านหน้าจอ monitor นำขวดที่ให้ผลบวกออกมาทำการ subculture และย้อมแกรม พร้อมทั้งโทรแจ้งผลเบื้องต้น และออกใบรายงานผลเป็นลายลักษณ์อักษรตามไปด้วยทุกครั้ง

หมายเหตุ เพื่อลดอัตราการปนเปื้อนครูใช้ 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ทำความสะอาดบริเวณจุกยาง หรืออาจใช้แอลกอฮอล์ 70% ในการเช็ดจุกขวดเพาะเชื้อ ไม่แนะนำให้ใช้สารที่มีไอโอดีนเป็นส่วนประกอบเช็ดจุกยางเพราะอาจทำให้จุกยางเปลี่ยนสภาพได้

5.3 การเพาะเชื้อจากน้ำไขสันหลังและน้ำจากส่วนต่างๆของร่างกาย

เชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบประสาทส่วนกลาง มีความสัมพันธ์กับอายุของผู้ป่วย ดังตาราง 5.1

ตารางที่ 5.1 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบประสาทส่วนกลาง

อายุของผู้ป่วย	เชื้อแบคทีเรีย
เด็กแรกคลอด	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Listeria monocytogenes</i>
เด็กอายุต่ำกว่า 2 เดือน	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Escherichia coli</i>
เด็กอายุต่ำกว่า 10 ปี	<i>Hemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>
เด็กที่มีอายุมากกว่า 10 ปีและผู้ใหญ่	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus suis</i> <i>Neisseria meningitidis</i>
เด็กที่มีอายุมากกว่า 10 ปีและผู้ใหญ่	Gram negative bacilli <i>Listeria monocytogenes</i>

วิธีปฏิบัติงาน

1. ตรวจสอบลักษณะและปริมาณของ CSF

1.1 ถ้ามีเลือดปนหรือมีความขุ่นให้บันทึกไว้

1.2 ถ้ามีปริมาณมากกว่า 1 มิลลิลิตร และใส่ให้น้ำไปปั่นแยก โดยใช้ความเร็ว 2,500 rpm นาน 15 นาที ใช้ pasteur pipette ปราศจากเชื้อดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง เหลือตะกอนก้นหลอดประมาณ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าผสมตะกอนด้วย vortex mixer เพื่อใช้ย้อมและเพาะเชื้อต่อไป กรณี CSF มีปริมาณเพียงพอต่อการทดสอบ หรือมีปริมาณน้อยกว่า 1 มิลลิลิตร หรือขุ่น ไม่ต้องปั่น ทำการเพาะเชื้อได้เลย

2. ใช้ pasteur pipette ปราศจากเชื้อ ดูด CSF หยดลงบน BA, CA, MAC plate ละ 1 หยด ส่วนที่เหลือใส่ใน FTM และทำ smear บน slide เพื่อย้อมแกรม โดยทำการตรวจให้เร็วที่สุด

3. streak plate ทั้ง 3 ชนิด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นาน 3 วัน โดย BA และ CA บ่มในบรรยากาศ 5 - 10% CO_2 สำหรับ FTM ให้บ่มที่อุณหภูมิ $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นาน 7 วัน

หมายเหตุ ควรทำการเพาะเชื้อทันที เมื่อได้รับสิ่งตรวจ แต่ถ้ายังทำไม่ได้ให้เก็บในอุณหภูมิห้อง

ห้ามเก็บใส่ตู้เย็น

ตารางที่ 5.2 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แบ่งตามประเภทน้ำจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย

น้ำจากส่วนต่างๆของร่างกาย	เชื้อแบคทีเรีย
น้ำจากข้อ (joint/synovial fluid)	<i>Staphylococcus aureus</i> Group A beta-hemolytic streptococci (GAS) Group B beta-hemolytic streptococci (GBS) <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Enterococcus spp.</i> Other streptococci <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Moraxella osloensis</i> <i>Corynebacterium spp.</i>
น้ำจากเยื่อหุ้มปอด (pleural fluid)	<i>Mycobacterium spp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacteriaceae</i> Non-fermentative Gram-negative bacilli Other streptococci <i>Mycobacterium tuberculosis</i> และ <i>Nocardia spp.</i>

น้ำจากส่วนต่างๆของร่างกาย	เชื้อแบคทีเรีย
น้ำจากเยื่อช่องท้อง (peritoneal fluid)	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterococcus</i> spp. <i>Staphylococcus aureus</i> Coagulase negative staphylococci (CoNS) <i>Streptococcus pneumoniae</i> Group A streptococcus <i>Haemophilus</i> spp. Anaerobic bacteria Non-fermentative Gram-negative bacilli

หมายเหตุ ควรทำการเพาะเชื้อทันที เมื่อได้รับสิ่งตรวจ แต่ถ้ายังทำไม่ได้ให้เก็บในอุณหภูมิห้อง ห้ามเก็บใส่ตู้เย็น

วิธีปฏิบัติงาน

ใช้หลักการและวิธีการตรวจเช่นเดียวกับการเพาะเชื้อในน้ำไขสันหลัง โดยมีรายละเอียดเพิ่มเติม ในกรณีเก็บสิ่งส่งตรวจไม่สามารถส่งห้องปฏิบัติการได้ทันที สามารถฉีด Sterile body fluid 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวด hemoculture ได้

หมายเหตุ

1. FTM ควรอบจนครบ 7 วัน ดูการเจริญทุกวัน ถ้ามีความขุ่น ในส่วนล่าง อาจเป็น anaerobic bacteria ให้นำมาย้อมสีแกรม และเพาะบน BA ในบรรยากาศ CO_2 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ นาน 2 วัน ถ้าไม่มีเชื้อขึ้น ให้รายงานผลการย้อมแกรมพร้อมรูปร่างและส่งเพาะเชื้อ anaerobic bacteria ต่อไป
2. ควรดูความสอดคล้องของผล เพาะเชื้อที่ได้สัมพันธ์กับการย้อมแกรมหรือไม่
3. ในรายที่สงสัยเชื้อราให้เก็บ plate อย่างน้อย 1 สัปดาห์
4. ควรเก็บสไลด์ที่ย้อมแกรม เพื่อใช้ในการทวนสอบผล และสิ่งส่งตรวจไว้ระยะหนึ่ง ในกรณีที่แพทย์อาจขอเพิ่มรายการทดสอบ
5. เก็บ CSF ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในกรณีที่แพทย์ส่งตรวจ PCR เพิ่ม

5.4 การตรวจวินิจฉัย

การวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค ที่ได้จากการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจนั้น สามารถทำได้หลายวิธี แต่โดยส่วนใหญ่แล้วจะการใช้การวินิจฉัยชนิดของเชื้อด้วยการทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical test) เป็นหลัก ซึ่งระดับของการวินิจฉัยจะขึ้นอยู่กับจำนวนของการทดสอบที่แต่ละห้องปฏิบัติการเลือกใช้ ทำให้มีความหลากหลายของผลการวินิจฉัยในแต่ละห้องปฏิบัติการ ดังนั้น เพื่อให้การวินิจฉัยเชื้อเป็นไปอย่างมีระบบ และสอดคล้องกับการทดสอบและแปลผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพที่ถูกต้องและมีมาตรฐาน จึงกำหนดระดับ (genus หรือ species) ของการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค ไว้ดังนี้

5.4.1 แบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (Gram positive cocci)

ระดับสปีชีส์ (Species level)

Staphylococcus aureus

Staphylococcus lugdunensis

Staphylococcus pseudintermedius

Rothia mucilaginosa

Streptococcus pneumoniae

ระดับจีนัส (Genus level) หรือกลุ่มของเชื้อ

Coagulase negative staphylococci (CoNS)

Micrococcus spp.

Enterococcus spp. (ยกเว้น กรณีดื้อต่อยา Vancomycin ต้องวินิจฉัยแยกสปีชีส์ให้ได้ว่าเป็น *E. faecalis* หรือ *E. faecium*)

Beta-hemolytic streptococci (large colony)

Viridans Streptococci/Beta-hemolytic streptococci (small colony)

Abiotrophia/ Granulicatella spp.

Aerococcus spp.

Gemella spp.

Lactococcus spp.

Leuconostoc spp.

Pediococcus spp.

5.4.2 แบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งที่สร้างสปอร์ (Spore forming gram positive bacilli)

ระดับสปีชีส์ (Species level)

Bacillus anthracis

ระดับจีนัส (Genus level) หรือกลุ่มของเชื้อ

Bacillus spp. (ที่ไม่ใช่ *B. anthracis*)

5.4.3 แบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง ที่ไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming gram positive bacilli)

ระดับสปีชีส์ (Species level)

Corynebacterium diphtheriae

Erysipelothrix rhusiopathiae

Listeria monocytogenes

ระดับจีนัส (Genus level) หรือกลุ่มของเชื้อ

Corynebacterium spp. (ที่ไม่ใช่ *C. diphtheriae*) / *Coryneform*

Lactobacillus spp.

5.4.4 แบคทีเรียแกรมลบรูปกลม (Gram negative cocci)

ระดับสปีชีส์ (Species level)

Neisseria gonorrhoeae

Neisseria meningitidis

ระดับจิ้นัส (Genus level) หรือกลุ่มของเชื้อ

Neisseria spp. (ที่ไม่ใช่ *N. gonorrhoeae* หรือ *N. meningitidis*)

5.4.5 แบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง (Gram negative bacilli)

ระดับสปีชีส์ (Species level)

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella oxytoca

Proteus mirabilis

Moraxella catarrhalis

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter baumannii

Burkholderia cepacia complex

Burkholderia pseudomallei

Burkholderia mallei

Stenotrophomonas maltophilia

Campylobacter jejuni/coli

Helicobacter pylori

Yersinia pestis

Francisella tularensis

ระดับจิ้นัส (Genus level) หรือกลุ่มของเชื้อ

Aeromonas spp.

Brucella spp.

Salmonella spp.

Shigella spp.

Other *Enterobacteriaceae*

Acinetobacter spp. (ที่ไม่ใช่ *A. baumannii*)

HACEK group

Vibrio spp.

Pasteurella spp.

Non-fermentative bacilli (NFB)

5.4.6 เชื้อรา

ระดับสปีชีส์ (Species level)

Candida albicans
Candida dubliniensis
Cryptococcus neoformans
Talaromyces marneffe
Histoplasma capsulatum
Coocidioides immitis
Paracoccidioides brasiliensis
Blastomyces dermatitidis
Sporothrix schenckii
Pythium insidiosum

ระดับจิ้นัส (Genus level) หรือกลุ่มของเชื้อ

Candida spp. (not *C. albicans* / *C. dubliniensis*)
Dermatophytes
Zygomycetes (*Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*)
Hyaline mould
Dematiaceous mould

5.5 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

การทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ เป็นการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ เพื่อบ่งชี้ว่าแบคทีเรียก่อโรคที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจไวหรือดื้อต่อสารต้านจุลชีพใด เพื่อเป็นแนวทางสำหรับแพทย์ ในการเลือกใช้สารต้านจุลชีพ ในการรักษาผู้ป่วยอย่างมีประสิทธิภาพ วิธีการทดสอบมีหลายรูปแบบทั้งการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ นอกจากนี้ยังมีการตรวจหาเอนไซม์ที่ทำลายสารต้านจุลชีพ ซึ่งผู้ปฏิบัติงานควรพิจารณาเลือกใช้การทดสอบที่เหมาะสม ให้ทำการทดสอบกับเชื้อก่อโรคที่ไม่สามารถคาดได้ว่าไวหรือดื้อต่อยา ในกรณีติดเชื้อแบคทีเรียที่ทราบแน่ชัดว่าไวต่อยาที่ใช้รักษาเสมอ ก็ไม่จำเป็นต้องทำการทดสอบกับยาชนิดนั้นได้แก่ *Streptococcus pyogenes* ไวต่อ penicillin เป็นต้น ยกเว้น ทดสอบเพื่อติดตามเฝ้าระวังการดื้อยา หรือกรณีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อดื้อยาที่อุบัติใหม่

วิธีการทดสอบและการแปลผลของวิธี ดำเนินตามมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) หรือ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) สำหรับเชื้อแบคทีเรียเจริญเร็ว (Rapid growing bacteria) เชื้อแบคทีเรียเจริญยากและช้า (Fastidious bacteria) และแบคทีเรียไร้อากาศ (Anaerobes) หากมาตรฐานมีหลักฐานทางวิชาการใหม่ที่จะต้องปรับปรุงวิธีการ หรือการแปลผลจะมีการแจ้งการปรับปรุง ในเอกสารที่พิมพ์ใหม่ทุกปี และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จะเป็นผู้แจ้งต่อห้องปฏิบัติการต่อไป

5.5.1 วิธีการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการระดับโรงพยาบาลศูนย์ ควรทำได้มีดังนี้

5.5.1.1 Disk diffusion หรือ Kirby Bauer's method

5.5.1.2 MIC determination by broth dilution และ E-test

5.5.1.3 Beta-lactamase tests

5.5.1.4 Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) detection (เฉพาะกรณีสอบสวนโรคเท่านั้น)

5.5.1.5 Carbapenemases (Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae) Detection

5.5.1.6 Screen test to detect high-level aminoglycoside resistance in enterococci

5.5.1.7 Agar screening to detect vancomycin resistance in enterococci

5.5.1.8 Agar screening to detect vancomycin resistance in staphylococci

5.5.1.9 D-test

หมายเหตุ: ดูรายละเอียดวิธีการทดสอบและการควบคุมคุณภาพในคู่มือปฏิบัติงานแบคทีเรียและรา

5.5.2 การจัดทำรายงาน antibiogram

5.5.2.1 หัวข้อปฏิบัตินี้ มีเพื่อให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ ใช้เป็นแนวทางในการวิเคราะห์ข้อมูล ผลการทดสอบความไวเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ และจัดทำรายงาน cumulative antibiogram report (CAR) และการกำหนดรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพบนพื้นฐานของวิธีมาตรฐานสากลที่สามารถใช้เปรียบเทียบผลระหว่างหน่วยงาน

5.5.2.2 ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ จัดทำรายงาน cumulative antibiogram report (CAR) โดยการวิเคราะห์ข้อมูลรวมของการทดสอบความไวเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพที่ได้จากการรายงานผลของผู้ป่วยแต่ละรายของแต่ละโรงพยาบาล ในช่วงเวลาที่กำหนด เพื่อให้แพทย์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกจ่ายยา ในการรักษาเบื้องต้น ก่อนทราบผลการเพาะเชื้อ และผลทดสอบความไวต่อยาของผู้ป่วย ที่เรียกว่า empirical antimicrobial therapy ได้อย่างเหมาะสม ใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบกับข้อมูลย้อนหลัง เพื่อดูแนวโน้มการดื้อยาในหน่วยงาน และเปรียบเทียบระหว่างหน่วยงานและยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน ในการจัดทำรายงานในระดับประเทศ และระดับนานาชาติต่อไป

5.5.3 เกณฑ์การจัดทำรายงาน Cumulative antibiogram report (CAR) เป็นการรายงานผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบความไวเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดต่อยาต้านจุลชีพ ในภาพรวมที่ได้จากผู้ป่วยหลายๆ ราย โดยรายงานเป็นร้อยละของความไว (susceptible, S) ค่อนข้างไวต่อยา (intermediate, I) และดื้อต่อยา (Resistant, R) โดยมีหลักเกณฑ์การวิเคราะห์ ดังนี้

5.5.3.1 การวิเคราะห์ข้อมูลและรายงานผล อย่างน้อยปีละครั้ง โดยแนะนำว่าควรจัดทำทุก 3 หรือ 6 เดือน กรณีพบมีการเปลี่ยนแปลงของความไว ในช่วงเวลาดังกล่าว และมีข้อมูลมากพอสำหรับการวิเคราะห์ เนื่องจากจะสะท้อนสถานภาพจริงของการดื้อยาในองค์กร ในแต่ละช่วงของเวลา และสามารถชี้เฝ้าระวัง และป้องกันการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาได้ทันกาล

5.5.3.2 เลือกรวบรวมข้อมูลและรายงานผลเฉพาะเชื้อ species ที่มีจำนวนรวมอย่างน้อย 30 สายพันธุ์ การรวบรวมผลการวิเคราะห์ความไวของเชื้อในระยะเวลามากกว่าหนึ่งปี สามารถทำได้ สำหรับเชื้อที่แยกไม่ได้บ่อยมีจำนวนไม่เพียงพอ สำหรับการวิเคราะห์ หรือการรวบรวมรายงานผลของเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่ในภูมิศาสตร์เดียวกัน เพื่อให้มีจำนวนวิเคราะห์มากพอ

5.5.3.3 เลือกวเคราะห์ข้อมูลและรายงานผลเฉพาะยาต้านจุลชีพที่มีทดสอบเป็นงานประจำวัน และเป็นกลุ่มของยาที่ใช้รักษาเชื้อในแต่ละกลุ่ม เช่น รายงานผลความไวของเชื้อกลุ่มแกรมบวกเฉพาะยาที่ใช้รักษา เชื้อกลุ่มนี้ และในทำนองเดียวกัน รายงานผลความไวของเชื้อกลุ่มแกรมลบด้วยยาที่ใช้รักษาเชื้อกลุ่มนี้เท่านั้น

5.5.3.4 ความน่าเชื่อถือหรือความแม่นยำของ cumulative antibiogram report ขึ้นอยู่กับ คุณภาพรายงานผลการแยกชนิดของเชื้อ และผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ดังนั้นห้องปฏิบัติการ จะต้องมีการประกันคุณภาพ การวิเคราะห์ที่ครอบคลุม ทั้งด้านบุคลากรที่มีการกำหนดจำนวนบุคลากรที่ เพียงพอ กำหนดสมรรถภาพ ในการปฏิบัติงานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ โดยเฉพาะการปฏิบัติงาน ด้านแยกวินิจฉัยเชื้อและการทดสอบความไวของเชื้อ มีการสอบเทียบเครื่องมือที่มีผลกระทบต่อคุณภาพการ วิเคราะห์ มีการตรวจสอบคุณภาพตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ และควบคุมระยะเวลาและอุณหภูมิการนำส่ง สิ่งตรวจ มีระบบการควบคุมคุณภาพทั้งภายในห้องปฏิบัติการ (Internal quality control) มีระบบการควบคุม คุณภาพภายนอกห้องปฏิบัติการ (External quality assessment) หรือการควบคุมคุณภาพระหว่างห้องปฏิบัติ การ (Inter-laboratory quality control) และมีการรายงานผลที่เป็นสากลมีการตรวจสอบผลก่อนการรายงาน

5.5.3.5 วิเคราะห์เฉพาะรายงานผลที่ทำ เพื่อการวินิจฉัยหาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อ โดยไม่รวมผลของเชื้อที่ทำ เพื่อการเฝ้าระวัง (surveillance culture) เช่น การสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ carbapenem- resistant *Enterobacteriaceae* (CRE)

5.5.3.6 วิเคราะห์เฉพาะเชื้อสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยเป็นครั้งแรกในการติดเชื้อแต่ละรอบของ การวิเคราะห์ เช่น รอบ 6 เดือน หรือ 1 ปี

5.5.3.7 โดยทั่วไปการจัดทำ cumulative antibiogram report จะรายงานเป็นร้อยละของ ความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพแต่ละชนิด โดยไม่รวมผลของเชื้อที่เป็น intermediate susceptible หรือเชื้อที่ ดื้อยาแต่มีข้อกำหนดพิเศษ สำหรับเชื้อบาง species ดังนี้

i. เชื้อกลุ่ม Viridans group *Streptococci* แยกจากสิ่งตรวจที่ไม่มีเชื้อประจำถิ่น (sterile site) ให้รายงานทั้งร้อยละของความไว และผล intermediate susceptible (% S และ % I) เนื่องจาก ใช้เป็นข้อมูลเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาที่อุบัติใหม่ชนิด reduced susceptibility ซึ่งจะมีค่า MIC หรือ inhibition zone อยู่ในช่วงที่ไม่ไวมากแต่ไม่ดื้อ คือ Non susceptible หรือ intermediate

ii. *Streptococcus pneumoniae* ผลการทดสอบกับยา cefotaxime หรือ ceftriaxone และ penicillin ให้วิเคราะห์แยกเชื้อ ที่แยกได้จากน้ำไขสันหลังกับเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างอื่นๆ และควรวิเคราะห์ผลของยา penicillin ชนิดกิน ด้วยการใช้อxacillin ทดสอบ *S. pneumoniae* แต่รายงานเป็น %S ของ penicillin

Organism	No. Strains	% Susceptible									
		AMX	CTX	CRO	CLI	ERY	LVX	PEN (IV)	PEN (oral)	SXT	VAN
<i>S. pneumoniae</i>	110	94	— [*]	— [*]	81	64	99	— [*]	64 ^s	69	100
Meningitis	110	—	85 [†]	84 [†]	—	—	—	64 [†]	—	—	—
Nonmeningitis	110	—	95 [†]	96 [†]	—	—	—	84 [†]	—	—	—

* การทดสอบความไวของ *Streptococcus pneumoniae* กับยา cefotaxime, ceftriaxone และ penicillin ให้วิเคราะห์ตามการวินิจฉัย

[†] เชื้อที่แยกจากน้ำไขสันหลัง ใช้ค่าแปลผลสำหรับกลุ่มผู้ป่วย Meningitis

[†] เชื้อที่แยกจากตัวอย่างอื่นใช้ค่าแปลผลสำหรับกลุ่มผู้ป่วย Nonmeningitis

^s กรณีทดสอบกับยา penicillin ชนิดกิน หากใช้วิธี Kirby bauer ให้ทดสอบกับ oxacillin รายงานเป็น %S ของ penicillin หากใช้วิธี agar dilution ใช้ค่าแปลผลของยา penicillin V ซึ่งเป็นชนิดกิน

iii. วิเคราะห์ผลความไวของ *Staphylococcus aureus* โดยรวมทุกสายพันธุ์ และให้แยกรายงานผลความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพสายพันธุ์ที่เป็น Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) แยกจากเชื้อ Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) โดยให้รายงานเป็น oxacillin หรือ methicillin แม้ว่าจะทดสอบด้วยแผ่นยา ceftioxin

Organism	No. Strains	%S								
		CLI	DOX	ERY	GEN	OXA	PEN	RIF	SXT	VAN
All <i>S. aureus</i>	1317	80	98	50	93	68	13	98	96	100
Oxacillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA)	449	44	96	4	79	0	0	95	94	100
Oxacillin-susceptible <i>S. aureus</i> (MSSA)	904	97	99	72	99	100	18	99	97	100

iv. วิเคราะห์ผลความไวของ *Enterococcus* spp. ทุกสายพันธุ์ และให้แยกรายงานสายพันธุ์ที่เป็น *E. faecalis* และสายพันธุ์ *E. faecium* โดยมีข้อสังเกตว่า *E. faecium* มักจะดื้อต่อยามากกว่า *E. faecalis* ห้องปฏิบัติการจึงควรมีสักยภาพในการแยก *Enterococcus* ในระดับ species ได้

v. การตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลที่วิเคราะห์ โดยใช้ expert system ในโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อทวนสอบผลการตรวจความไวต่อยา หารายงานที่ไม่เป็นไปตามปกติ (Appendix A ใน CLSI M39-A4) เช่น *E. coli* ดื้อ meropenem หรือ *S. pneumoniae* ดื้อ vancomycin

vi. ตรวจสอบจากชื่อยกเว้นใน CLSI M100 เช่น *Enterobacteriaceae* กำหนดให้ทดสอบกับ 1st และ 2nd generation cephalosporins ยกเว้น *Salmonella* และ *Shigella*

vii. เชื้อที่ดื้อยาแบบ intrinsic resistance จะไม่รายงานเป็นเชื้อที่ดื้อยา และไม่นับกลุ่มของยานี้เป็นกลุ่มยาที่ดื้อ (ดูรายละเอียดในคำจำกัดความรูปแบบการดื้อยา)

5.5.4 การนำเสนอรายงาน Cumulative antibiogram

5.5.4.1 นำเสนอรายงาน Cumulative antibiogram ในรูปตาราง บอกชนิดของเชื้อ และยาที่ใช้ทดสอบ โดยมีข้อมูลประกอบ เช่น ระยะเวลาของข้อมูลที่ทำกรวิเคราะห์ ชื่อสถาบันหรือโรงพยาบาล ชื่อห้องปฏิบัติการ เช่น รายงานร้อยละของความไวจากเชื้อที่เฉพาะที่เป็น first isolate หรือเป็นข้อมูลที่สะสมจากผลของผู้ป่วยในหนึ่งปีหรือ หกเดือน

5.5.4.2 ชนิดของเชื้อ จำนวนเชื้อที่ทดสอบ สำหรับยาทั้งหมด และจำนวนเชื้อที่ทดสอบต่อยาแต่ละตัว

5.5.4.3 ชื่อยาที่ทดสอบและกลุ่มยา

5.5.4.4 ใส่ผลตัวเลข %S และใส่ “-” ในช่องที่ไม่ได้ทดสอบ หรือมีข้อมูลไม่มากพอ

5.5.4.5 แยกรายงานเป็นส่วนย่อย (subset) เช่น แยกตามหอผู้ป่วย เชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยใน ICU และ non ICU หรือแยกรายงานตามชนิดของสิ่งตรวจของระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่น แยกจากเลือด ระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร หรือระบบปัสสาวะ เป็นต้น

5.6 การตรวจด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

5.6.1 เทคนิคทางอณูชีววิทยา แบ่งตามวัตถุประสงค์ ดังนี้

5.6.1.1 การตรวจหาจุลชีพโดยตรง ไม่ต้องเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิก (Without nucleic acid amplification)

5.6.1.2 การตรวจหาพิสูจน์ชนิดหรือปริมาณจุลชีพ โดยมีขั้นตอนการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid amplification)

5.6.1.3 การตรวจพิสูจน์ความเป็นสายพันธุ์เดียวกันของเชื้อ (Strain typing)

5.6.2 เทคนิคทางอณูชีววิทยา แบ่งตามวิธีการ ดังนี้

5.6.2.1 Signal amplification method

- i. NUCLEIC ACID PROBE
- ii. HYBRID CAPTURE (HC)
- iii. BRANCHED-CHAIN DNA (BDNA)
- iv. IN SITU HYBRIDIZATION (ISH)

5.6.2.2 Nucleic ACID amplification

- i. Polymerase Chain Reaction (PCR)
- ii. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)
- iii. REVERSE TRANSCRIPTION-PCR (RT-PCR)
- iv. BROAD-RANGE PCR
- v. MULTIPLEX PCR
- vi. Nested PCR

5.6.2.3 Postamplification analysis

- i. GEL ELECTROPHORESIS/SOUTHERN BLOT HYBRIDIZATION
- ii. ENZYMATIC DETECTION OF AMPLIFIED PRODUCTS
- iii. REVERSE HYBRIDIZATION
- iv. DNA SEQUENCING
- v. Next-generation sequencing (NGS)
- vi. MICROARRAY analysis
- vii. REAL-Time NUCLEIC acid amplification (Rapid-cycle PCR)

5.7 เทคนิคอื่นในการตรวจวินิจฉัยจุลชีพโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ

5.7.1 Mass spectrometry โดยหลักการของ Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization-Time-of-Flight (MALDI-TOF) ในการตรวจวินิจฉัยชนิดของจุลชีพ จากโคโลนีหรือจากสิ่งส่งตรวจโดยตรง เป็นการวิเคราะห์โปรตีน (ส่วนใหญ่เป็น rRNA protein) ชนิดต่างๆ ของเชื้อ โดยการทำให้เกิดไอออนด้วยเทคนิค MALDI และวิเคราะห์มวลด้วย TOF MS

เอกสารอ้างอิง

1. มาลัย วรจิตร, วันทนา ปวีณกิตติพร, สุวรรณ ตระกูลสมบุรณ์, สุรางค์ เดชศิริเลิศ. คู่มือการปฏิบัติงานแบคทีเรียและราสำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ธนาเพลส; 2557.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100 Performance Standards for Antimicrobial. Susceptibility Testing. 27th ed. Pennsylvania: CLSI; 2017.
3. European Centre for Disease Prevention and Control [Internet]. Antimicrobial Resistance and Healthcare-associated Infections Programme [cited 2017 June 20]. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/ARHAI/Pages/public_consultation_clinical_microbiology_infection_article.aspx.
4. Jorgensen J, Pfaller M, Carroll K, Funke G, Landry M, Richter S, et al. Manual of Clinical Microbiology. 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015.
5. Procop G, Koneman E. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 7th ed. Alphen aan den Rijn, Netherlands: Wolters Kluwer; 2016.

บทที่ 6

การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ

- 6.1 เกณฑ์ในการพิจารณารับหรือปฏิเสธสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์
- 6.2 การควบคุมคุณภาพของเครื่องมือ
- 6.3 การควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 6.4 การควบคุมคุณภาพของสีย้อม

การควบคุมคุณภาพของงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา มีขั้นตอนและความละเอียดที่มากกว่าการควบคุมคุณภาพทางปฏิบัติการทั่วไป เนื่องจากกระบวนการตรวจวินิจฉัย วิเคราะห์ มีความซับซ้อนและความหลากหลายของลักษณะงาน ตั้งแต่ชนิดของสิ่งส่งตรวจ ไปจนถึงชนิดของเชื้อก่อโรค รวมทั้งกระบวนการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ และการแปลผลการทดสอบ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อคุณภาพของงาน นอกจากนี้วิธีที่ใช้ในการวินิจฉัยจุลชีพแต่ละชนิดก็ยังมีความจำเพาะ และงานส่วนใหญ่ โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยง การแยกเชื้อ การจำแนกเชื้อ ยังคงต้องอาศัยการทดสอบ โดยบุคลากรผู้มีความชำนาญและประสบการณ์เฉพาะทางจุลชีววิทยา ดังนั้นความสามารถเฉพาะตัว และคุณภาพของผู้ปฏิบัติงานจึงเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญ นอกจากนี้การควบคุมคุณภาพของงานทดสอบที่ให้ผลเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ จะทำได้ยากกว่าการควบคุมคุณภาพของงานทดสอบที่ให้ผลเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ การควบคุมคุณภาพในงานจุลชีววิทยาจึงมีขั้นตอนรายละเอียดค่อนข้างมาก และเกี่ยวข้องกับบุคลากรเป็นหลักใหญ่ ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจว่าห้องปฏิบัติการมีสมรรถนะเป็นไปตามมาตรฐาน และการปฏิบัติที่สอดคล้องกับระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ห้องปฏิบัติการจึงต้องเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เริ่มตั้งแต่การเก็บสิ่งส่งตรวจ ถึงแม้ว่าขั้นตอนนี้มักจะเกิดขึ้นนอกห้องปฏิบัติการ แต่มีผลกระทบโดยตรงต่อการวิเคราะห์ และผลของการวิเคราะห์ที่เกิดขึ้น สิ่งส่งตรวจที่จะนำมาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยานั้น มีความหลากหลายและรายละเอียดปลีกย่อย ซึ่งแตกต่างจากการตรวจวิเคราะห์ในด้านอื่น ที่สิ่งส่งตรวจส่วนใหญ่มักเป็น เลือดหรือปัสสาวะเท่านั้น โดยหลักทั่วไปแล้วการควบคุมคุณภาพของสิ่งส่งตรวจทางจุลชีววิทยา จะเน้นที่เทคนิคปลอดเชื้อ (sterile technique) เพื่อให้ได้มาซึ่งสิ่งส่งตรวจที่ปราศจากการปนเปื้อนจากเชื้อประจำถิ่น นอกจากวิธีการเก็บที่เหมาะสมแล้ว วิธีการนำส่ง ก็มีความสำคัญที่ต้องควบคุมคุณภาพเช่นกัน

6.1 เกณฑ์ในการพิจารณารับหรือปฏิเสธสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์

กระบวนการคัดเลือกสิ่งส่งตรวจที่เหมาะสมเข้าสู่ระบบการทำงานของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา เป็นขั้นตอนที่นับได้ว่ามีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าการเก็บและส่งสิ่งส่งตรวจอย่างถูกวิธี ทั้งนี้ระบบการคัดกรองที่มีประสิทธิภาพ จะช่วยให้ห้องปฏิบัติการได้มาซึ่งสิ่งส่งตรวจที่มีคุณภาพเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ต่อไป โดยประเด็นสำคัญในการตรวจสอบกำหนดให้ห้องปฏิบัติการต้องมีระบบคัดกรองและปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ อย่างน้อยดังนี้

6.1.1 ความถูกต้องและรายละเอียดผู้ป่วย เช่น ชื่อ นามสกุล เพศ อายุ ที่ระบุมาในใบส่งตรวจ หรือในคำสั่งตรวจผ่านระบบออนไลน์ กับสลากที่ติดมาพร้อมกับภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ

6.1.2 ความถูกต้องและรายละเอียดของสิ่งส่งตรวจที่ระบุมาในใบส่งตรวจ หรือในคำสั่งตรวจผ่านระบบออนไลน์ กับสลากที่ติดมาพร้อมกับภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ

6.1.3 ความถูกต้องเหมาะสมของสิ่งส่งตรวจ ปัญหาที่พบได้บ่อย คือ

6.1.3.1 เสมหะไม่เหมาะสมในการเพาะเชื้อ เนื่องจากการปนเปื้อนของน้ำลาย หรือสารคัดหลั่งบริเวณทางเดินหายใจส่วนบน ซึ่งห้องปฏิบัติการต้องมีการตรวจสอบในเบื้องต้น ด้วยการย้อมแกรม และมีเกณฑ์อ้างอิงที่เป็นสากล

6.1.3.2 ตัวอย่างตรวจมีปริมาณน้อยเกินไปที่จะทำการทดสอบ

6.1.3.3 ตัวอย่างตรวจถูกนำส่งในน้ำยาผิดประเภท

6.1.3.4 อุณหภูมิในการนำส่งไม่เหมาะสม

6.1.4 การส่งสิ่งส่งตรวจซ้ำในวันเดียวกัน (duplicate specimen) มักพบได้บ่อยในกรณีที่ขาดการประสานงาน หรือส่งต่องานที่ดี ซึ่งนอกจากจะทำให้ผู้ป่วยต้องเจ็บตัวเพิ่มแล้ว ยังต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มโดยไม่จำเป็นอีก ดังนั้นห้องปฏิบัติการต้องมีระบบในการคัดกรอง duplicate specimen ออก ยกเว้น hemoculture ที่มีความจำเป็นต้องส่งเลือด เพื่อเพาะเชื้อมากกว่า 1 ตัวอย่างต่อวัน

6.1.5 ความถูกต้องชัดเจนของวิธีการทดสอบที่ต้องการ เช่น การย้อมแกรม การเพาะเชื้อชนิด aerobes anaerobes เชื้อรา หรือ mycobacteria เนื่องจากการทดสอบแต่ละชนิดนั้น มีความจำเพาะและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน

6.1.6 ความถูกต้องเหมาะสมของภาชนะที่ใส่สิ่งส่งตรวจ โดยส่วนใหญ่แล้วภาชนะที่ใช้ในงานด้านจุลชีววิทยา จะต้องเป็นภาชนะที่ใหม่และผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จะมีข้อยกเว้นได้บ้างในกรณีที่สิ่งส่งตรวจนั้นไม่นำมาทำการเพาะเชื้อ เช่น การส่งมาเพื่อย้อมสีแกรม หรือ acid fast เป็นต้น ยังต้องตรวจ ดูว่ามีสิ่งส่งตรวจหกเลอะภายนอกภาชนะหรือไม่ ซึ่งประเด็นนี้มีความสำคัญในเรื่องของการปนเปื้อนและความเสี่ยงในการติดเชื้อจากสิ่งส่งตรวจของผู้ปฏิบัติงาน

6.1.7 การระบุเวลาเก็บสิ่งส่งตรวจ ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจน ได้แก่ การส่งปัสสาวะ เพื่อเพาะเชื้อ ระยะเวลาจากเมื่อเก็บตัวอย่างตรวจจนถึงระยะเวลาที่ทำการทดสอบ มีความสำคัญต่อความถูกต้องของผลที่ได้เป็นอย่างมาก เนื่องจากปริมาณของเชื้อที่พบในปัสสาวะถือได้ว่าเป็นตัวแปรสำคัญที่ระบุว่ามี การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ซึ่งจะใช้ร่วมกับการตรวจนับปริมาณของเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะนั้นๆ ดังนั้นการที่ผู้เก็บปัสสาวะเพื่อเพาะเชื้อหากไม่มีการระบุเวลาที่เก็บอย่างชัดเจน จะทำให้ห้องปฏิบัติการไม่สามารถตัดสินได้ว่าควรจะทำการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพกับเชื้อที่พบในปัสสาวะนั้นหรือไม่

นอกเหนือจากสิ่งส่งตรวจที่ต้องมีกระบวนการคัดกรองแล้ว ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพก่อนการตรวจวิเคราะห์ยังครอบคลุมถึงส่วนที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำยาและสารเคมี รวมทั้งเครื่องมือต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งแต่ละส่วนย่อยเหล่านี้ล้วนแล้วแต่มีความสำคัญทั้งสิ้น

6.2 การควบคุมคุณภาพของเครื่องมือ

นอกจากจะพิจารณาในแง่ของราคา ความคุ้มค่า และความสะดวกในการใช้งานแล้ว ยังต้องมีปัจจัยสำคัญด้านอื่นๆ ประกอบด้วย เพื่อให้การใช้เครื่องมือเกิดประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่

- i. ติดตั้งในสถานที่เหมาะสม
- ii. มี calibration
- iii. มี validation
- iv. ตรวจเช็คสภาพการใช้งานตามระยะเวลาที่เหมาะสม
- v. ผู้ปฏิบัติงานได้รับการสอนทักษะเป็นอย่างดี

6.2.1 การควบคุมคุณภาพสำหรับการทดสอบความไร้เชื้อ (sterility test) ของเครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง ทำได้ 2 วิธี คือ

6.2.1.1 วิธี Spore test เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของการทำลายเชื้อโดยตรง เป็นวิธีที่ได้ผลแน่นอนที่สุดทำได้โดยนำหลอดบรรจุสปอร์ของเชื้อ *Geobacillus stearothermophilus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทนทานต่อความร้อน จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 121 °C ในเวลา 15 นาที วางไว้ตรงกลางกองห่อของที่ต้องการนำไปออโตเคลฟ หลังจากออโตเคลฟตามอุณหภูมิและเวลาที่กำหนด นำหลอดบรรจุสปอร์ออกมาบีบเบาๆ ให้หลอดขึ้นในที่บรรจุสปอร์แตก สปอร์จะออกมาสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อ นำหลอดไปอบที่อุณหภูมิ 56 °C ถ้าสปอร์ยังมีชีวิตอยู่ จะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดเปลี่ยนสี โดยทั่วไปจะเปลี่ยนสีภายใน 24 ชั่วโมง ควรเก็บหลอดไว้ในกล่องอบนาน 3 วัน ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสีหลังอบ 3 วัน จึงจะแน่ใจว่าสปอร์ถูกทำลายหมด แสดงว่าการออโตเคลฟได้ผล

6.2.1.2 วิธี Pack test ใช้ตรวจสอบการกระจายของความร้อนภายในเครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูงว่าสม่ำเสมอทั่วกันทั้งตู้หรือไม่ ไม่ใช้การทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อโดยตรง ทำได้โดยใช้แผ่นเทปซึ่งซึบสารเคมีบางอย่าง ซึ่งสีจะเข้มขึ้น เมื่อถูกความร้อนและไอน้ำ เรียก autoclave indicator tape ในการปฏิบัติจะติดแผ่นเทปที่บนห่อของที่ต้องการนำไป autoclave เมื่อแผ่นเทปสัมผัสความร้อนและไอน้ำจะเปลี่ยนสีเป็นสีดำ ถ้าความร้อนแทรกซึมได้ทั่วถึง แถบสีบนแผ่นเทปจะมีสีดำเท่ากันตลอดทั้งเส้น ถ้าความร้อนแทรกซึมไม่ทั่วถึง แถบสีบนแผ่นเทปจะต่างกัน แสดงว่าเครื่องทำงานบกพร่องจำเป็นต้องแก้ไข และวัสดุที่นี้ไม่ปลอดเชื้อใช้ไม่ได้ ต้องทำให้ปลอดเชื้อใหม่ นอกจากนี้การติดเทปไว้ที่ห่อของยังใช้เป็นเครื่องหมายแสดงว่าห่อนั้นได้นำไปออโตเคลฟแล้ว

ตารางที่ 6.1 วิธีทำ QC สำหรับการทดสอบความไร้เชื้อ

วิธี	Physical method	Chemical method	Biological test organism
1. นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave)	มี chart บันทึกอุณหภูมิ	การเปลี่ยนสี indicator	<i>G. stearothermophilus</i>
2. ฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแห้ง (Hot air oven)			<i>B. atrophaeus</i>

6.2.2 การควบคุมคุณภาพตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)

บันทึกอุณหภูมิทุกวันและต้องบันทึกก่อนเปิดตู้บ่มเพาะเชื้อ เพื่อให้ได้ค่าตอบตามความเป็นจริง

6.2.3 การควบคุมคุณภาพเครื่องวัดค่ากรด-ด่าง (pH meter)

จำเป็นต้องทำ QC ทุกครั้งที่ใช้งาน เนื่องจากเครื่องวัด pH ไม่ได้เปิดใช้งานตลอดเวลา การทำ QC จำเป็นต้องใช้ standard buffer pH 7.0 ทุกครั้ง และในกรณีที่ต้องการวัดสารละลายที่มีค่า pH ต่ำกว่า 6.0 ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการสากลแนะนำให้ใช้ standard buffer pH 4.0 ร่วมกับ standard buffer pH 7.0

สำหรับ standard buffer ทั้ง 2 ชนิดนี้ ควรทำการตรวจเช็คทุกเดือนๆ โดยใช้เครื่องวัด pH เครื่องอื่นที่ได้มาตรฐานแล้ว หากวัดได้ค่าเบี่ยงเบนจากที่ควรจะเป็น มากกว่า ± 0.4 หรือพบว่า standard buffer มีการปนเปื้อนด้วยจุลชีพ ให้ทิ้ง buffer นั้น

6.2.4 การควบคุมคุณภาพเครื่องควบคุมอุณหภูมิ

เครื่องมือต่อไปนี้ต้องมีการตรวจสอบอุณหภูมิ โดยการวัดและจดบันทึกทุกวัน คือ

- i. อ่างน้ำร้อน (Water bath)
- ii. ตู้เย็น (Refrigerator)
- iii. ตู้อบร้อน (Hot air oven)
- iv. ตู้แช่แข็ง (Freezer)

6.3 การควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ

6.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ มี 2 ชนิด คือ ชนิดสำเร็จรูป (commercially prepared media) และชนิดเตรียมขึ้นใช้เอง (user-prepared media) ดังนี้

6.3.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดสำเร็จรูป (Commercially prepared media) นอกเหนือจากเอกสารแสดงวันเดือนปีที่ผลิต และหมดอายุ Lot number ของการผลิตแล้ว จะต้องมียกเอกสารจากทางบริษัทผู้ผลิตที่ระบุว่าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นๆ ได้ผ่านการตรวจสอบคุณภาพ โดยเชื่อมาตรฐานที่เหมาะสมในการทดสอบหรือดำเนินการตามมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) หมายเลขเอกสาร M 22-A ซึ่งในกรณีนี้ อาจอนุโลม ยกเว้น การสุ่มทดสอบ sterility test โดยทดสอบเพียงคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อตามคุณสมบัติ

6.3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเตรียมขึ้นใช้เอง (User-prepared และ nonexempt, commercially prepared media)

6.3.2 แบบฟอร์มบันทึก QC สำหรับอาหารเพาะเชื้อที่จัดเตรียมขึ้นใช้เองในห้องปฏิบัติการ ควรประกอบด้วยรายละเอียดที่สำคัญ คือ จำนวนที่เตรียมในแต่ละครั้ง, แหล่งที่มาของสารประกอบแต่ละชนิด, หมายเลขผลิต (lot number), วิธีการทำให้อาหารเพาะเชื้อ sterile, วันที่ผลิตและวันหมดอายุ ซึ่งโดยมาตรฐานทั่วไประบุว่าสำหรับ agar plate จะเป็น 1 เดือน หลังจากวันที่ผลิต และสำหรับอาหารเพาะเชื้อที่บรรจุในหลอดทดลองจะเป็น 6 เดือน หลังจากวันที่ผลิต และชื่อผู้ทำการผลิตอาหารนั้น ซึ่งอาจเป็นอาหารเพาะเชื้อที่เตรียมขึ้นเองและเป็นอาหารชนิดสำเร็จรูป ซึ่งไม่มีใบเอกสารที่ระบุว่าได้ผ่านการตรวจสอบ QC ตามมาตรฐานของ CLSI แล้ว ในทั้งสองกรณีทางห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพ โดยตรวจสอบดูสี และถ้าเป็นอาหารวุ้นแข็ง จำเป็นต้องตรวจดูความหนาของวุ้น ตรวจดูการเกิดสลายตัวของเม็ดเลือดแดง ถ้ามีเม็ดเลือดแดงเป็นส่วนประกอบ การมีฟองอากาศมากเกินไปปรากฏให้เห็นในอาหารเพาะเชื้อ และการปราศจาก contamination ด้วยจุลชีพหรือสิ่งสกปรกอื่นๆ

6.3.3 การควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา นับว่ามีส่วนสำคัญอย่างยิ่ง ในการที่จะได้มาซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ ซึ่งการควบคุมคุณภาพเริ่มตั้งแต่เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้รวมถึงคุณภาพของน้ำและสารเคมีต่างๆ และเมื่อผ่านกระบวนการเตรียมแล้ว ยังต้องมีการควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้ออีกอย่างน้อย 2 ขั้นตอน คือ

6.3.3.1 การควบคุมด้านการปลอดเชื้อปนเปื้อน (Sterility check) จะทำการทดสอบโดยสุ่มตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 5 เมื่อเตรียมจำนวน 100 หน่วย และสุ่มตัวอย่างสูงสุด 10 หน่วย เมื่อเตรียมจำนวนมากกว่านี้ โดยนำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วไป incubate ไว้ ตรวจดูการเจริญเติบโตของเชื้อที่ contaminate

6.3.3.2 การทดสอบความถูกต้องของคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นๆ เป็นการทดสอบคุณสมบัติของอาหารแต่ละชนิด โดยใช้เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน เมื่อห้องปฏิบัติการเตรียมอาหารเพาะเชื้อเสร็จแล้ว ต้องทำการควบคุมคุณภาพ โดยดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารแต่ละชนิดนั้น เช่น ใช้เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อจาก American Type Culture Collection (ATCC) ที่ทราบถึงลักษณะการเจริญเติบโตบนอาหารเพาะเชื้อ ตลอดจนการให้ผลปฏิกิริยาในการทดสอบทางชีวเคมีชนิดต่างๆ โดยใช้ทั้งเชื้อสายพันธุ์ที่ให้ผลบวก และสายพันธุ์ที่ให้ผลลบ มาทำการทดสอบแต่ละครั้ง ดูตารางที่ 6.2

6.3.4 หลักการควบคุมคุณภาพอาหารเพาะเชื้อ ให้จัดทำบันทึกคุณสมบัติของอาหารเพาะเชื้อแต่ละชนิดดังนี้

6.3.4.1 ลักษณะทางกายภาพ (physical appearance)

i. ถ้าขุ่นหรือมีตะกอน แสดงว่ามีส่วนประกอบบางอย่างในอาหารเพาะเชื้อที่ไม่สามารถละลายน้ำ

ii. สีเปลี่ยนจากที่ควรจะเป็น เช่น สีเข้มขึ้น อาจเกิดจากใช้ความร้อนมากเกินไป หรือใช้อุณหภูมิของเครื่องนิ่งไอน้ำแรงดันสูงถูกต้อง แต่เวลานานเกินไป

iii. เตรียมอาหารเพาะเชื้อแล้วเก็บไว้นานเกินไป ทำให้เกิดการแห้ง ซึ่งไม่เหมาะสมกับการใช้งาน ดังนั้นการเตรียมอาหารเพาะเชื้อแต่ละครั้ง ควรมีจำนวนเพลทหรือปริมาณพอเหมาะ ถ้าต้องการเก็บไว้ใช้งานนาน ควรเก็บใส่ถุงพลาสติกแล้วผูกปากถุงให้แน่น

6.3.4.2 ภาวะไร้ออกซิเจนก่อนนำมาใช้งาน ทำการทดสอบ โดยการนำอาหารเพาะเชื้อไปอบที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 18 - 24 ชั่วโมง

6.3.4.3 ผลการตรวจสอบความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อ (ตารางที่ 6.2)

ตารางที่ 6.2 ตัวอย่างการทำ QC ของอาหารเพาะเชื้อที่ใช้บ่อย

ชื่ออาหารเพาะเชื้อ	เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ปฏิกิริยา
Blood agar	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Alpha-hemolysis
	Group A <i>streptococci</i>	Beta-hemolysis
Chocolate agar	<i>Haemophilus influenzae</i>	เจริญเติบโตดี
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	เจริญเติบโตดี
MacConkey agar	<i>Escherichia coli</i>	โคโลนีสีชมพู
	<i>Proteus mirabilis</i>	โคโลนีไม่มีสี
	Gram positive strain	ไม่สามารถเจริญเติบโต
SS agar	<i>Salmonella</i> group	โคโลนีไม่มีสี และมีจุดดำ
	<i>Escherichia coli</i>	ไม่สามารถเจริญเติบโต หรือโคโลนีสีชมพู
TCBS agar	<i>Vibrio cholerae</i>	โคโลนีสีเหลือง
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	โคโลนีสีเขียว
	<i>Escherichia coli</i>	ไม่สามารถเจริญเติบโต
Tellurite agar	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	โคโลนีสีดำ
	<i>Viridans streptococci</i>	ไม่สามารถเจริญเติบโต

ชื่ออาหารเพาะเชื้อ	เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ปฏิกิริยา
Bile-esculin agar	<i>Enterococcus faecalis</i>	สีดำ (+)
	Other streptococci, not group D	ไม่มีสี (-)
Urea agar	<i>Proteus mirabilis</i>	สีชมพู (+)
	<i>Escherichia coli</i>	สีเหลือง (-)
Simmon citrate agar	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	สีน้ำเงิน (+)
	<i>Escherichia coli</i>	สีเขียว (-)
Triple sugar iron slant (TSI)	<i>Salmonella</i> group	K/A H ₂ S
	<i>Shigella</i> spp.	K/A
	<i>Escherichia coli</i>	A/AG
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K/K
Motility test medium (0.4% agar)	<i>Escherichia coli</i>	ขุ่น (+)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	เชื้อขึ้นเฉพาะที่รอย stab และวุ้นใส (-)
DNase agar	<i>Staphylococcus aureus</i>	Clear zone (+)
Indole	<i>Escherichia coli</i>	สีแดง (+)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ไม่มีสี (-)
Mannitol broth	<i>Escherichia coli</i>	สีฟ้า (+)
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	สีเขียว (-)
Lactose broth	<i>Escherichia coli</i>	สีชมพู (+)
	<i>Salmonella</i> group	ไม่มีสี (-)
Voges-Proskauer	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	สีแดง (+)
	<i>Escherichia coli</i>	ไม่มีสี (-)
Lysine decarboxylase	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	สีม่วง (+)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	สีเหลือง (-)
Ornithine decarboxylase	<i>Enterobacter cloacae</i>	สีม่วง (+)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	สีเหลือง (-)
Arginine dihydrolase	<i>Enterobacter cloacae</i>	สีม่วง (+)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	สีเหลือง (-)
Nitrate broth	<i>Escherichia coli</i>	สีแดง (+) หลังจากหยด Sol ⁿ A และ B
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ไม่มีสี (+) หลังจากหยด Sol ⁿ A และ B และผงสังกะสี
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	สีแดง (-) หลังจากหยด Sol ⁿ A และ B และผงสังกะสี
6.5% NaCl broth	<i>Enterococcus faecalis</i>	สีเหลือง (+)
	Group A streptococci	สีม่วง (-)

ตารางที่ 6.3 ตัวอย่างตารางบันทึกการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาต่างๆ

Medium (plate): _____

Medium (tube): _____

Reagent: _____

Interpretation*	Date prepared	Source	Lot No.	Positive control	Reaction	Negative control	Reaction	Date performed	Checked by

* A = Acceptable และ NA = Non-acceptable

6.4 การควบคุมคุณภาพของสีย้อม

ควรทำ QC ของสีย้อม โดยทดสอบย้อมกับเชื้อควบคุมบวก (positive control) และเชื้อควบคุมลบ (negative control) สัปดาห์ละหนึ่งครั้ง และทุกครั้งเมื่อมีการจัดซื้อผงสีย้อม lot ใหม่ หรือเตรียมสีย้อม lot ใหม่

ตารางที่ 6.4 การควบคุมคุณภาพของสีย้อม

ชนิดสีย้อม	ชื่อเชื้อควบคุม	หมายเลขเชื้อ ATCC	ผลย้อม
Gram	<i>Escherichia coli</i>	25922	แบคทีเรียรูปแท่ง ติดสีแดง
	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	แบคทีเรียรูปทรงกลม ติดสีม่วง
Ziehl-Neelsen (AFB)	<i>Mycobacterium species</i>	25177	แบคทีเรียรูปแท่งติดสีแดง
	<i>Escherichia coli</i>	25922	แบคทีเรียรูปแท่งติดสีน้ำเงิน
Acridine orange	<i>Escherichia coli</i>	25922	ติดสีเรืองแสง รูปแท่ง
	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	ติดสีเรืองแสง รูปทรงกลม
Spore	<i>Bacillus species</i>		สปอร์ติดสีแรกที่ย้อม ตัวเซลล์ แบคทีเรียติดสีย้อมทับ (counter stain)

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข. ความหมายของการสอบเทียบ [อินเทอร์เน็ต]. (ม.ป.ท.) [เข้าถึงเมื่อ 2 กรกฎาคม 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://medi.moph.go.th/system2533/Masses-Calibration.pdf>.
2. รู้จักกับเครื่องวัด pH และวิธีการสอบเทียบ [อินเทอร์เน็ต]. (ม.ป.ท.). [เข้าถึงเมื่อ 10 กรกฎาคม 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://ursi2011.org/เครื่องวัด-pH/รู้จักกับเครื่องวัด-pH-และวิธีการสอบเทียบ.html>.
3. มาลัย วรจิตร, วันทนา ปวีณกิตติพร, สุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์, สุรางค์ เดชศิริเลิศ. คู่มือการปฏิบัติงานแบบที่เรียบง่ายและราสำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ธนาเพลส; 2557.
4. สมาทศนคการแพทย. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย 2560 ฉบับ "60 ปี เทคนิคการแพทยไทย". พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: สมาทศนคการแพทย; 2560.
5. สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. คู่มือแนวทางการตรวจประเมินเพื่อขึ้นทะเบียนเป็นหน่วยบริการที่รับการส่งต่อทั่วไป ฉบับปรับปรุงเดือน มีนาคม ปีงบประมาณ 2560. 2560.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100 Performance Standards for Antimicrobial. Susceptibility Testing. 27th ed. Pennsylvania: CLSI; 2017.
7. National Association of Testing Authorities (NATA). General Equipment - Calibration and checks. Australia: NATA; 2015.

บทที่ 7

กระบวนการหลังการวิเคราะห์และ การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจหลังวิเคราะห์

7.1 การทบทวนผลการวิเคราะห์

7.2 การเก็บรักษาและทำลายสิ่งส่งตรวจหลังวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการต้องมีแนวทางการทบทวนผลการวิเคราะห์ก่อนรายงานผล โดยการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลผู้ป่วย ความถูกต้องของรายงานผล และความสัมพันธ์ของผลการวิเคราะห์ต่างๆ ตลอดจนกำหนดแนวทางการเก็บรักษา และทำลายสิ่งส่งตรวจหลังวิเคราะห์ เพื่อให้มั่นใจว่ากระบวนการ เป็นไปตามขั้นตอนที่กำหนด

7.1 การทบทวนผลการวิเคราะห์

ระเบียบวิธีการตรวจสอบทบทวนผลวิเคราะห์ที่ได้ ดังนี้

7.1.1 ดูความครบถ้วนของ request และ report รวมถึง request พิเศษด้วย เช่น กรณีแพทย์ขอทดสอบยาเพิ่ม

7.1.2 การทบทวนผลการวินิจฉัยชนิดเชื้อ ควรดูความสอดคล้องกับผลย้อมแกรม และชนิดสิ่งส่งตรวจ/อวัยวะที่เกิดโรคนั้น

7.1.3 การทบทวนผลการทดสอบความไวของเชื้อ ควรดูความสอดคล้องของแบบแผนความไวกับชนิดของเชื้อที่พบ

7.1.4 การเปรียบเทียบผลครั้งนี้กับผลครั้งที่แล้ว หรือผลในสิ่งส่งตรวจอื่นๆ ของผู้ป่วย (โดยเฉพาะใน sterile site)

7.1.5 กรณีพบเชื้อที่ไม่เคยมีรายงาน/ไม่ค่อยพบ ควรมีการตรวจสอบให้ชัดเจน (ทั้งกระบวนการ) ก่อนรายงาน และควรเก็บตัวอย่างเชื้อส่งยืนยันต่อไป

7.1.6 ควรมีตาราง natural resistance typical of common pathogen เพื่อใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยเชื้อ และการตรวจสอบทบทวนผลวิเคราะห์

7.2 การเก็บรักษาและทำลายสิ่งส่งตรวจหลังวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการต้องมีคู่มือวิธีการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจและเชื้อต่างๆ หลังวิเคราะห์เสร็จสิ้น โดยระบุวิธีการ อุณหภูมิ ระยะเวลา สถานที่เก็บ และผู้รับผิดชอบ ตลอดจนวิธีการป้องกันการเข้าถึง การป้องกันการสูญหาย และวิธีการทำลายเชื้อและสิ่งส่งตรวจ (สามารถดูรายละเอียดในคู่มือมาตรฐานความปลอดภัยฯ) โดยคำนึงถึงการรักษาความลับของผู้ป่วยและความปลอดภัย ห้องปฏิบัติการควรระบุวิธีการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจ และตัวอย่างเชื้อหลังวิเคราะห์ให้ชัดเจน อย่างน้อยดังต่อไปนี้

7.2.1 Primary (10) specimen เก็บเพื่อการตรวจสอบย้อนหลัง (ไม่ควรนำมาตรวจซ้ำ) เก็บในตู้เย็น นานอย่างน้อย 1 วัน หลังจากที่ยังรายงานผลไปให้แพทย์แล้ว

7.2.2 Plate เช่น CA, Mc ฯลฯ เก็บในตู้เย็น อย่างน้อย 1 plate นานอย่างน้อย 3 วันหลังจากที่ยังรายงานผลไปให้แพทย์แล้ว

7.2.3 Tube เช่น Broth/TSI ฯลฯ เก็บในตู้เย็น โดยเก็บอย่างน้อย 1 หลอด นานอย่างน้อย 3 วัน หลังจากที่ยังรายงานผลไปให้แพทย์แล้ว

7.2.4 Slide ที่ตรวจวิเคราะห์แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง นานอย่างน้อย 7 วัน (ยกเว้น AFB เก็บตามที่สำนักวิจัยโรคกำหนด)

7.2.5 ระบุวิธีการกำจัดและทำลายขยะติดเชื้อ เช่น specimen slide จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ Biochemical test ขวด hemoculture เข็มเจาะขวด hemoculture (ถ้ามี) โดยกำหนดรายละเอียดและเส้นทางขยะตามนโยบายที่เป็นลายลักษณ์อักษรของผู้บริหารหน่วยงาน หรือ คณะกรรมการควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล

7.2.6 ระบุวิธีการเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อ และใช้ความเข้มข้นถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

1. มัลลย์ วรจิตร, วันทนา ปวีณกิตติพร, สุวรรณา ตระกูลสมบุญ, สุรางค์ เดชศิริเลิศ. คู่มือการปฏิบัติงานแบบที่เรียและราสำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ธนาเพลส; 2557.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100 Performance Standards for Antimicrobial. Susceptibility Testing. 27th ed. Pennsylvania: CLSI; 2017.
3. International Organization for Standardization (ISO). ISO 15189:2012 Medical laboratories - Requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva: ISO; 2012.
4. International Organization for Standardization (ISO). ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment — General requirements for proficiency testing. Geneva: ISO; 2010.
5. World Health Organization. Laboratory quality management system: handbook. Geneva: WHO; 2011.

บทที่ 8

การรายงานผล

8.1 การรายงานผล

8.1 การรายงานผล

ห้องปฏิบัติการต้องรายงานผลตามวิธีการที่แต่ละที่กำหนดใน SOP

8.1.1 กรณีพบเชื้อดื้อยา เชื้อโรคที่อยู่ในกลุ่มที่ 2 ขึ้นไป ตาม พรบ. เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 ให้ดำเนินการตามพรบ. เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ ส่วนการครอบครองเชื้อโรคในกลุ่มที่ 1 เช่น เชื้อมาตรฐานในการทำความไวต่อยาปฏิชีวนะทั่วไปต้องแจ้งการครอบครองเช่นกัน

8.1.2 กรณีพบเชื้อที่ก่อโรคติดต่อได้/เชื้ออุบัติใหม่ ตามพรบ. โรคติดต่อ พ.ศ.2558 ต้องรายงานเชื้อตามที่กำหนด โดยทีมเฝ้าระวังการแพร่กระจายเชื้อของจังหวัด และหากเป็นห้องปฏิบัติการตรวจยืนยัน ต้องรายงานผลเชื้อโดยตรงต่อสำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

8.1.3 กรณีพบ Hemoculture positive ต้องรายงานผลแกรม ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมง โดยให้ดำเนินการรายงานผล ตามแนวปฏิบัติการรายงานค่าวิกฤติของหน่วยงาน

บทที่ 9

ระบบการส่งต่อสิ่งส่งตรวจ

- 9.1 การเตรียมสิ่งส่งตรวจ
- 9.2 การส่งต่อหน่วยงานภายในประเทศ
- 9.3 การส่งต่อหน่วยงานระหว่างประเทศ

การส่งต่อสิ่งส่งตรวจโดยเฉพาะสิ่งส่งตรวจทางจุลชีววิทยาไปยังหน่วยงานอื่นทั้งในและนอกประเทศ จะต้องคำนึงความปลอดภัยของผู้เกี่ยวข้อง ต้องระมัดระวังและป้องกันอย่างดีไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปยังบุคคลอื่น หรือเกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปยังสิ่งแวดล้อม องค์การอนามัยโลกได้มีการแบ่งประเภทของสิ่งส่งตรวจติดเชื้อออกเป็น 2 ประเภท (Category) ได้แก่

Category A : สิ่งส่งตรวจ/ตัวอย่างที่มีเชื้อก่อโรคในคนหรือทั้งคนและสัตว์ จะใช้รหัส UN (United Nations number) เป็น 2814 แต่ถ้าก่อโรคเฉพาะในสัตว์ ใช้รหัส UN 2900 ตามตารางที่ 1

Category B : สิ่งส่งตรวจ/ตัวอย่างติดเชื้ออื่นๆ ที่ไม่เข้าเกณฑ์ Category A โดย Category B นี้ กำหนดรหัสเป็น UN 3373

ตารางที่ 9.1 ตัวอย่างวัตถุติดเชื้อที่จัดอยู่ใน Category A

UN Number and Proper Shipping Name	Microorganism
UN 2814 Infectious substance, affecting humans	<i>Bacillus anthracis</i> (cultures only) <i>Bacillus abortus</i> (cultures only) <i>Brucella melitensis</i> (cultures only) <i>Brucella suis</i> (cultures only) <i>Burkholderia mallei</i> – <i>Pseudomonas mallei</i> – glanders (cultures only) <i>Burkholderia pseudomallei</i> – <i>Pseudomonas pseudomallei</i> (cultures only) <i>Chlamydia psittaci</i> – avian strains (cultures only) <i>Clostridium botulinum</i> (cultures only) <i>Coccidioides immitis</i> (cultures only) <i>Coxiella burnetii</i> (cultures only) Crimean-Congo haemorrhagic fever virus Dengue virus (cultures only) Eastern equine encephalitis virus (cultures only) <i>Escherichia coli</i> , verotoxigenic (cultures only) Ebola virus Flexal virus <i>Francisella tularensis</i> (cultures only) Guanarito virus Hantaan virus Hantaviruses causing haemorrhagic fever with renal syndrome Hendra virus Hepatitis B virus (cultures only)

UN Number and Proper Shipping Name	Microorganism
	Herpes B virus (cultures only) Human immunodeficiency virus (cultures only) Highly pathogenic avian influenza virus (cultures only) Japanese Encephalitis virus (cultures only) Junin virus Kyasanur Forest disease virus Lassa virus Machupo virus Marburg virus Monkeypox virus <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (cultures only) Nipah virus Omsk haemorrhagic fever virus Polio virus (cultures only) Rabies virus (cultures only) <i>Rickettsia prowazekii</i> (cultures only) <i>Rickettsia rickettsii</i> (cultures only) Rift Valley fever virus (cultures only) Russian spring-summer encephalitis virus (cultures only) Sabia virus <i>Shigella dysenteriae</i> type I (cultures only) Tick-borne encephalitis virus (cultures only) Variola virus Venezuelan equine encephalitis virus (cultures only) West Nile virus (cultures only) Yellow fever virus (cultures only) <i>Yersinia pestis</i> (cultures only)
UN 2900 Infectious substance, affecting animal only	African swine fever virus (cultures only) Avian paramyxovirus Type I – Velogenic Newcastle disease virus (cultures only) Classical swine fever virus (cultures only) Foot and mouth disease virus (cultures only) Lumpy skin disease virus (cultures only)

UN Number and Proper Shipping Name	Microorganism
	<i>Mycoplasma mycoides</i> – contagious bovine pleuropneumonia (cultures only) Peste des petits ruminants virus (cultures only) Rinderpest virus (cultures only) Sheep-pox virus (cultures only) Goatpox virus (cultures only) Swine vesicular disease virus (cultures only) Vesicular stomatitis virus (cultures only)

9.1 การเตรียมสิ่งส่งตรวจ

9.1.1 อาหารนำส่ง

เลือกอาหารนำส่ง/ภาชนะบรรจุที่ถูกต้อง รวมทั้งระยะเวลาการเก็บ และการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจที่เหมาะสม ตัวอย่างเช่น

9.1.1.1 Nutrient agar สำหรับเชื้อกลุ่ม *Enterobacteriaceae*, Glucose non-fermentative gram negative bacilli, *Corynebacterium* และ *Bacillus* บางสายพันธุ์

9.1.1.2 Nutrient agar ที่ปรับ pH 7.6 with 1% NaCl สำหรับเชื้อกลุ่ม *Vibrionaceae*

9.1.1.3 Blood agar หรือ Chocolate agar หรือ หลอด Dorset egg medium slant สำหรับเชื้อกลุ่ม *Streptococci*, *Neisseria* หรือเชื้อที่ตายง่าย

9.1.1.4 Bordet gengou agar หรือ Charcoal agar (Regan-Lowe medium) สำหรับเชื้อ *Bordetella pertussis*

9.1.1.5 Brucella blood agar หรือ อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว 0.16% agar Cary-Blair medium, alkaline peptone water with thioglycolate and cystine หรือ modified stuart medium สำหรับเชื้อกลุ่ม *Campylobacter*

9.1.1.6 Cooked meat broth, Brain heart infusion broth หรือ thioglycolate broth ที่บรรจุเกือบเต็มหลอด/ขวด หรือหยอด sterile paraffin ในหลอด เพื่อให้อากาศในหลอดเหลือน้อยที่สุด สำหรับนำส่งแบคทีเรียไร้อากาศ

9.1.2 การเตรียมสิ่งส่งตรวจ

9.1.2.1 ภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจต้องปราศจากเชื้อ มีความคงทนไม่แตกหักง่าย กันน้ำหรือของเหลวซึมผ่าน เช่น หลอดหรือขวดที่ทำด้วยแก้ว พลาสติก โลหะ ที่มีฝาปิดสนิท

9.1.2.2 ใช้หลอดเข็มแทงปลายตรง (needle) เข็มแทงที่สงสัย แทงลงไป (stab) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง 2-3 ครั้ง หรือ streak บนอาหารที่มีลักษณะเป็น slant ที่บรรจุในหลอด/ขวด ที่มีฝาปิดมิดชิด ถ้าเป็นจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate) ให้ streak บนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ

9.1.2.3 นำหลอด/ขวด/จานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °C นาน 16 - 24 ชั่วโมง ในสภาวะบรรยากาศที่เหมาะสม เช่น

- i. *Neisseria Haemophilus* บ่มใน Candle jar ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 - 10%
- ii. *Campylobacter* และแบคทีเรียไร้อากาศ บ่มในสภาวะ microaerobic (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) หรือใช้ anaerobic jar/anaerobic transporting bag ที่ใส่ microaerobic gas generation bag แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง
- iii. แบคทีเรียอื่นๆ บ่มในสภาวะบรรยากาศปกติ

9.1.2.4 ปิดฝาหลอด/ขวด ให้แน่น แล้วพันทับด้วยพาราฟิล์ม หรือพันพาราฟิล์มรอบฝาและจานเลี้ยงเชื้อให้แน่นสนิท ป้องกันไม่ให้ฝาหลุดออกจากจาน

9.1.2.5 ติดฉลากที่หลอด/ขวด/จานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยระบุรายละเอียดของสิ่งส่งตรวจ เช่น ชื่อ-สกุล HN ชนิดของสิ่งส่งตรวจ วันที่เก็บสิ่งส่งตรวจ ติดบนภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ และใบส่งตรวจให้ถูกต้อง ตรงกับชื่อเชื้อที่ส่งตรวจยืนยัน หรือส่งตรวจเพิ่มเติม

9.1.3 ภาชนะบรรจุ

9.1.3.1 บรรจุหลอด/ขวด/จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใส่ถุงซิปล็อค หรือถุงพลาสติกรัดยางให้แน่น แยกแต่ละตัวอย่าง สำหรับใบส่งตรวจให้รวมใส่ถุงแยก

9.1.3.2 กรณีตัวอย่างเชื้อโรคที่ขนส่งอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลว ให้ใช้วัสดุอุดซับของเหลว เช่น กระดาษทิชชูพันรอบภาชนะบรรจุตัวอย่างอีกชั้น ให้นำพาพที่จะอุดซับของเหลวได้หมด เพื่อป้องกันการรั่วซึมออกภายนอก ในกรณีที่ภาชนะบรรจุเชื้อรั่วหรือแตกหัก ก่อนใส่ในถุงพลาสติก และปิดปากถุงให้แน่น

9.1.3.3 กรณีตัวอย่างเชื้อโรคที่จะส่งไปตรวจยืนยันอยู่บนสไลด์ ต้อง fix เชื้อให้ติดแน่นบนสไลด์ และทำลายเชื้อด้วย 70% แอลกอฮอล์ แล้วรอให้ตัวอย่างเชื้อแห้ง ก่อนใส่สไลด์สะอาดอีกแผ่นประกบด้านหน้า ห่อสไลด์ด้วยกระดาษก่อนบรรจุในภาชนะชั้นกลางที่มีความคงทนต่อการเจาะทะลุที่มิดชิด หรือวางสไลด์บนโฟมที่เจาะเป็นช่องวางสไลด์

9.1.3.4 บรรจุลงในภาชนะชั้นนอกที่ใส่วัสดุกันกระแทก หรือวัสดุอื่นที่สามารถป้องกันการกระแทกได้ ในช่องว่างระหว่างภาชนะชั้นกลาง และภาชนะชั้นนอกสุดที่ใช้สำหรับการขนส่ง ถ้าเป็นตัวอย่างที่ต้องแช่เย็น ให้นำ ice pack หรือ น้ำแข็งก้อนห่อด้วยกระดาษวางรอบๆ สิ่งส่งตรวจ เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้เย็น เป็นการรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจในระหว่างการขนย้าย

9.1.3.5 ระบุจำนวนใบส่งตรวจ จำนวนสิ่งส่งตรวจ และเอกสารอื่นๆ เช่น ใบส่งตรวจประวัติผู้ป่วย (ในกรณีจำเป็นต้องใช้ร่วมเพื่อการวินิจฉัย) ใส่ลงในกล่องด้วย

9.1.3.6 บนกล่องบรรจุสิ่งส่งตรวจชั้นนอกสุด ต้องระบุชื่อที่อยู่ พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ของผู้รับ และผู้ส่งที่ติดต่อได้ในกรณีฉุกเฉิน

9.1.3.7 ถ้ามีการปนเปื้อนภายนอกภาชนะ ให้ทำความสะอาด โดยเช็ดด้วย 70% alcohol หรือ 1% ไฮโปคลอไรท์ เพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ

9.2 การส่งต่อหน่วยงานภายในประเทศ

9.2.1 การส่งสิ่งส่งตรวจด้วยยานพาหนะขนส่งทางบก

9.2.1.1 กรณีใช้ยานพาหนะของหน่วยงานในการขนส่งสิ่งส่งตรวจ ต้องมีบุคคลที่ได้รับมอบหมายควบคุมดูแลไปด้วย โดยเตรียมตัวอย่างตามที่ระบุไว้ข้างต้น

9.2.1.2 กรณีส่งทางรถขนส่ง ผู้ส่งต้องแจ้งวัน เวลา สถานที่ขนส่งที่ให้บริการ ระบุชื่อบริษัท หมายเลขทะเบียนรถ หมายเลขโทรศัพท์ของบริษัทฯ ณ สถานที่รับ ทางโทรศัพท์ หรือ โทรสาร หรือทางไลน์

9.2.2 การส่งสิ่งส่งตรวจด้วยยานพาหนะขนส่งทางอากาศ

9.2.2.1 กรณีการส่งทางเครื่องบิน ต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดของสายการบิน และต้องติดเครื่องหมายชีวภยันตรายบนบรรจุภัณฑ์ชั้นนอกสุด

9.2.2.2 ประสานงานกับหน่วยรับตัวอย่าง โดยแจ้งสายการบินที่ส่งตัวอย่างไป ระบุเวลา จุดรับปลายทาง ณ ท่าอากาศยานใดที่ชัดเจน แจ้งหมายเลขเอกสารนำส่งทางโทรศัพท์ หรือ โทรสาร หรือทางไลน์ เพื่อให้เจ้าหน้าที่สามารถไปรับตัวอย่างตามเวลา

9.2.3 กรณีส่งสิ่งส่งตรวจทางพัสดุภัณฑ์

9.2.3.1 การส่งควรส่งเป็นพัสดุภัณฑ์ด่วน หรือ EMS ส่งให้ถึงปลายทางในวันและเวลาราชการ หรือมีการติดต่อประสานงานเป็นกรณีไป และควรมีระบบป้องกันความปลอดภัยของสิ่งส่งตรวจที่เพียงพอ ภาชนะที่บรรจุสิ่งส่งตรวจต้องมีฝาปิดสนิท อาจเป็นฝาเกลียวหรือจุกยาง เช่น หลอดหรือขวดที่พันทับปากหลอด หรือขวดด้วยพาราฟิล์ม แล้วพันรอบภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจด้วยวัสดุอุดซับของเหลว ก่อนใส่ในถุงที่ปิดสนิท ห้ามส่งในรูปแบบของ petri dish และควรใส่วัสดุกันกระแทกในช่องว่างระหว่างภาชนะชั้นกลางและภาชนะชั้นนอกสุด ถ้าสิ่งส่งตรวจที่ต้องควบคุมความเย็น ให้นำ ice pack ใส่ในกล่องพัสดุภัณฑ์ด้วย โดยห่อ ice pack ด้วยกระดาษ แล้วใส่ในถุงพลาสติกอย่างดีไว้แน่น เพื่อป้องกันการเสียหายของกล่องพัสดุ

9.2.3.2 ประสานงานกับหน่วยรับตัวอย่าง โดยแจ้งหมายเลขพัสดุเพื่อติดตามตัวอย่าง

9.3 การส่งต่อหน่วยงานระหว่างประเทศ

การขนส่งระหว่างประเทศทั้งทางบกและทางอากาศ ต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดของประเทศต้นทางและปลายทางที่บังคับใช้ รวมทั้งการเลือกชนิดของหีบห่อ การบรรจุ การติดฉลาก และเครื่องหมายต่างๆ ที่ภาชนะชั้นนอกตามข้อกำหนดของสายการบิน การมีใบอนุญาตนำเข้าหรือส่งออก การแจ้งหรือขออนุญาตนำเข้าหรือส่งออก นอกจากนี้ต้องตรวจสอบกับประเทศที่จะมีการขนส่งผ่านระหว่างทางและประเทศปลายทางที่จะรับตัวอย่างว่าต้องการเอกสารพิเศษอื่นๆหรือไม่ หรือมีข้อกำหนดห้ามนำเข้าเชื้อโรคและพิษจากสัตว์บางประเภทหรือไม่

เอกสารอ้างอิง

1. วัฒนพงศ์ วุทธา, ศรีวรรณ หัตยานนท์. วิธีการเก็บตัวอย่างอาหาร น้ำ สิ่งแวดล้อม เชื้อจุลินทรีย์ ใน: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. คู่มือการเก็บตัวอย่างและความปลอดภัย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น ; 2557. หน้า 48-56.
2. วัฒนพงศ์ วุทธา. วิธีการขนส่งตัวอย่าง. ใน:สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. คู่มือการเก็บตัวอย่างและความปลอดภัย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น ; 2557 : 57-62.
3. World Health Organization [Internet]. Geneva : Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2015-2016. 2015 [updated 2015 January 1; cited 2017 June 25]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149288/1/WHO_HSE_GCR_2015.2_eng.pdf.



บทที่ 10

การจัดการข้อมูลสารสนเทศ ทางจุลชีววิทยา

- 10.1 การเข้าถึงข้อมูล
- 10.2 การกำหนดรหัส
- 10.3 การแก้ไขข้อมูล
- 10.4 การส่งข้อมูลเพื่อการพัฒนาบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา

ในปัจจุบัน ระบบสารสนเทศ หรือ Laboratory information management system (LIMS) หรือ Laboratory information system (LIS) มีบทบาทมากขึ้น ในการจัดการข้อมูลทางการแพทย์ โดยเฉพาะข้อมูลทางห้องปฏิบัติการ ระบบบริหารจัดการข้อมูลที่ดีจะต้องมีความยืดหยุ่น เพื่อสามารถปรับเข้ากับทุกสถานการณ์ สะดวกและง่ายต่อผู้ใช้ ลดเวลาการทำงาน ลดข้อผิดพลาดในการบันทึกข้อมูลตลอดจนการรายงานผลและการประมวลผล สามารถควบคุมคุณภาพผลการทดสอบได้ มีระบบสืบค้นข้อมูลและสามารถนำข้อมูล รวมทั้งผลการทดสอบมาวิเคราะห์ เพื่อใช้ประโยชน์ในอนาคต เช่น แนวโน้มการดื้อยา สถานการณ์เพื่อการป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค หรือ DATA mining หรือ ใช้เพื่อ Business intelligence เป็นต้น หากสามารถช่วยวิเคราะห์ด้านการเงินหรือต้นทุน เช่น ราคาค่าทดสอบผู้ป่วยแต่ละราย ราคาต้นทุนอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือราคาแผ่นยาต้านจุลชีพที่ใช้แต่ละเดือน ก็จะเป็นประโยชน์เชิงบริหารจัดการมากขึ้น ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยามีความซับซ้อน แตกต่างจากข้อมูลของห้องปฏิบัติการอื่น กล่าวคือ มีความหลากหลายทั้งด้านสิ่งส่งตรวจ ด้านการทดสอบ ด้านการรายงานผล รวมทั้งผลการทดสอบ จึงอาจต้องมีการจัดการข้อมูลที่สรุปพอเป็นสังเขป ดังนี้

10.1 การเข้าถึงข้อมูล

เริ่มต้นจากการจัดระดับความสำคัญของข้อมูลและสิทธิการใช้งาน (user level authorization) มีการกำหนดผู้เข้าถึงข้อมูล (username) และรหัสผ่าน (password) ในการเข้าถึงข้อมูล โดยเฉพาะข้อมูลที่มีความสำคัญ หรือเป็นสิทธิส่วนบุคคล ต้องมีการบันทึกประวัติการเข้าถึงข้อมูล ได้แก่ รายชื่อผู้เข้าถึงข้อมูล วันที่เวลาที่เข้า อาจใช้เป็นแบบบันทึก หรือ มีระบบที่สามารถตรวจสอบได้ (track changes) ในกรณีที่ข้อมูลแบบแก้ไขไม่ได้ หรือ read only

10.2 การกำหนดรหัส

- การใช้ username และ password
- การใช้วัตถุใดๆ เพื่อการเข้าสู่ระบบ ได้แก่ บัตร กุญแจ
- การใช้บัตร ATM ควบคู่กับ PIN 4 หลัก (personal identification number), Radiofrequency identification devices (RFID)
- การใช้อุปกรณ์ทางชีวภาพ (biometric devices) เสียง ลายนิ้วมือ ฝ่ามือ ลายเส้นต่า ม่านตา รูปหน้า โดยแปลงลักษณะบุคคลให้อยู่ในรูปดิจิทัลที่สามารถเปรียบเทียบได้
- ระบบเรียกกลับ callback system ผู้ใช้ระบุชื่อและรหัสผ่านเพื่อขอใช้ระบบปลายทาง ถ้าข้อมูลถูกต้องระบบจะเรียกกลับให้เข้าใช้งานเอง
- Remote log-in via secure Web browser

อย่างไรก็ตาม ระบบต้องมีความยืดหยุ่น เพื่อให้สามารถปรับเข้ากับทุกสถานการณ์ในขณะเดียวกันต้องเชื่อถือได้ และมีความปลอดภัย

10.3 การแก้ไขข้อมูล

การแก้ไขข้อมูลซึ่งมีการรายงานผลแล้ว ควรต้องมีการบันทึกข้อมูลเดิมก่อนแก้ไข ข้อมูลที่ถูกแก้ไข ชื่อผู้แก้ไขและวันเวลาที่มีการแก้ไข ในแบบบันทึกการแก้ไขข้อมูล หรือระบบสารสนเทศที่สามารถตรวจสอบได้ อาจต้องมีการจัดระดับความสำคัญของข้อมูลที่ถูกแก้ไข เนื่องจากข้อมูลทางจุลชีววิทยามีความหลากหลาย ตัวอย่างเช่น การเพิ่มข้อมูลผลเพาะเชื้อ การแก้ไขข้อมูลสิ่งส่งตรวจจากเสมหะเป็นน้ำล้างหลอดลม การแก้ไขข้อมูลสิ่งส่งตรวจจากน้ำเจาะปอดเป็นน้ำไขสันหลัง การเปลี่ยนแปลงข้อมูลชื่อเชื้อจากการรายงานเบื้องต้น “yeast” เป็น “*Candida albicans*” การเปลี่ยนแปลงข้อมูลผลการทดสอบความไวของเชื้อ การเพิ่ม หรือการเปลี่ยนแปลงข้อมูลต่างๆ เหล่านี้ น่าจะมีระดับความสำคัญที่แตกต่างกัน

10.4 การส่งข้อมูลเพื่อพัฒนาระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา

ระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาทางห้องปฏิบัติการที่มีศักยภาพ จำเป็นต้องได้รับข้อมูลผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อ และผลการทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาที่มีความถูกต้อง ทั้งนี้ เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลแนวโน้มการดื้อยา และการรายงานสถานการณ์เชื้อดื้อยา มีความน่าเชื่อถือและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการบ่งชี้ปัญหา กำกับ ติดตาม และแจ้งเตือนการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาที่สำคัญได้อย่างทันสถานการณ์ โรงพยาบาลควรนำส่ง ข้อมูลเดือนละครั้งอย่างต่อเนื่อง โดยไฟล์ที่ส่งเป็นไฟล์ประเภทฐานข้อมูล (นามสกุล .DBF, .MDB, .XLS และอื่นๆ) และต้องกำหนดรหัสผ่าน เพื่อเข้าถึงข้อมูลโดยเปลี่ยนรหัสผ่านทุกครั้งที่น่าส่ง พร้อมทั้งแจ้งรหัสผ่านทุกครั้ง ในเอกสารหรืออีเมลอีกฉบับ (ไม่ใช่ฉบับที่น่าส่งข้อมูล) เพื่อให้การนำส่งข้อมูลมีความปลอดภัยและป้องกันการเข้าถึงข้อมูลจากบุคคลที่ไม่เกี่ยวข้อง

ระบบเฝ้าระวังการดื้อยาระดับชาติ ประกอบด้วย 2 ระบบหลัก คือ

1. ระบบเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพ หรือ NARST คือ การเฝ้าระวังว่าตัวเชื้อเปลี่ยนแปลงความไวต่อยาด้านจุลชีพหรือไม่ อย่างไร ในระดับประเทศ (ดำเนินการโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)
2. ระบบเฝ้าระวังแบบค้นหาผู้ป่วย หรือ case finding based surveillance คือ การเฝ้าระวังผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลและชุมชน ที่มารับการรักษา ณ โรงพยาบาล (ดำเนินการโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมควบคุมโรค กรมการแพทย์ ร่วมกัน)

ในการนี้ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาต้องส่งข้อมูลการเฝ้าระวังการดื้อยาด้านจุลชีพ ตามที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด มายังระบบเฝ้าระวังทั้ง 2 ระบบ ซึ่งรายการข้อมูลระบบเฝ้าระวังการดื้อยาระดับชาติได้แสดงอยู่ในภาคผนวก

เอกสารอ้างอิง

1. International Organization for Standardization (ISO). ISO 15189:2012 Medical laboratories - Requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva: ISO; 2012.
2. International Organization for Standardization (ISO). ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment — General requirements for proficiency testing. Geneva: ISO; 2010.
3. Sepulveda JL, Young DS. The ideal laboratory information system. Archives of pathology & laboratory medicine. 2013;137(8):1129-40.
4. Rhoads DD, Sintchenko V, Rauch CA, Pantanowitz L. Clinical microbiology informatics. Clinical microbiology reviews. 2014;27(4):1025-47.
5. World Health Organization. Laboratory quality management system: handbook. Geneva: WHO; 2011.

บทที่ 11

การทบทวน จัดการ

การทบทวนปรับปรุงมาตรฐานในระดับห้องปฏิบัติการ ระดับประเทศ โดยข้อมูลนำเข้ามาที่คณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการ เพื่อทบทวน โดยข้อมูลนำเข้าควรเป็นข้อมูล ดังนี้

1. ข้อร้องเรียน ข้อเสนอจากประชาชน
2. ข้อร้องเรียน ข้อเสนอจากผู้ปฏิบัติงาน หรือห้องปฏิบัติการ
3. ข้อเสนอจากการตรวจรับรองตามระบบคุณภาพ
4. การตรวจราชการ
5. ความก้าวหน้าทางวิชาการ

ทั้งนี้ จังหวัด หรือโรงพยาบาล หรือสำนักตรวจราชการ หรือหน่วยงานรับรอง สามารถรวบรวมและจัดส่งเป็นสรุปภาพรวมของปัญหามาที่

ฝ่ายเลขานุการ คณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข

88/7 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

บทที่ 12

ห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์

- 12.1 คุณสมบัติและสมรรถนะบุคลากรที่จำเป็น
- 12.2 การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจ
- 12.3 การรายงานผล

12.1 คุณสมบัติและสมรรถนะบุคลากรที่จำเป็น

ลักษณะงาน	ตำแหน่ง	คุณสมบัติและสมรรถนะที่จำเป็น สำหรับงานจุลชีววิทยา
ผู้ช่วยตรวจวิเคราะห์	เจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์	หัวหน้าห้องปฏิบัติการ ต้องกำหนดแผนการฝึกอบรมและประเมินผลการปฏิบัติงานเป็นระยะ โดยบุคลากรต้องสอบผ่านการประเมินสมรรถนะการปฏิบัติงาน (competency) ในงานวิเคราะห์ที่รับผิดชอบ อ้างอิงการประเมินตามเกณฑ์การประเมินของห้องปฏิบัติการ
ผู้ตรวจวิเคราะห์	นักเทคนิคการสัตวแพทย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ นักวิทยาศาสตร์	บุคลากร ต้องได้รับการฝึกอบรมตามมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาและประเมินผลจากหน่วยงานภายนอก
ผู้รับรองผลวิเคราะห์	นายสัตวแพทย์	

12.2 การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจ

12.2.1 การส่งตรวจ การเก็บสิ่งส่งตรวจ และการนำส่งสิ่งส่งตรวจ

ห้องปฏิบัติการต้องมีคู่มือแนะนำวิธีการเก็บตัวอย่างส่งตรวจจากสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์สัตว์ โดยคำนึงถึงวิธีการเก็บตัวอย่างที่ถูกต้อง และคุณภาพของตัวอย่างส่งตรวจ แจกจ่ายให้เจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานในภาคสนาม เพื่อให้การดำเนินการจัดการตัวอย่างทดสอบมีความถูกต้องชัดเจน สามารถบ่งชี้และสอบกลับได้ สอดคล้องกับข้อกำหนดระบบการบริหารงาน

12.2.1.1 รายละเอียดสิ่งส่งตรวจ ระบุตามแบบฟอร์มรับตัวอย่าง เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ

12.2.1.2 ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ ครอบคลุมถึงตัวอย่างจากสัตว์ ผลิตภัณฑ์สัตว์ อาหารสัตว์ สิ่งแวดล้อม และตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสัตว์

12.2.1.3 ระบุวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจทางจุลชีววิทยาชนิดต่างๆ ดำเนินการตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การตรวจรับตัวอย่าง

12.2.2 การตรวจรับสิ่งส่งตรวจ ห้องรับตัวอย่าง

ห้องรับตัวอย่างมีหน้าที่ในการปฏิบัติงานการตรวจรับตัวอย่าง โดยพิจารณาคุณภาพของตัวอย่าง และการส่งต่อตัวอย่างให้มีมาตรฐานเดียวกัน หลังจากเจ้าหน้าที่สอบถาม และบันทึกประวัติตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว ปฏิบัติดังนี้

12.2.2.1 สวมถุงมือและเสื้อกาวน์ แล้วดำเนินการตรวจนับจำนวนตัวอย่าง ให้ตรงตามจำนวนที่แจ้ง พร้อมพิจารณาคุณภาพของตัวอย่างว่าเหมาะสม ตรงตามคุณสมบัติที่กำหนด พร้อมออกหมายเลขตัวอย่าง (Case no.)

12.2.2.2 จำแนกชนิดตัวอย่าง จากนั้นแจ้งให้แต่ละกลุ่มห้องปฏิบัติการทราบ เพื่อมารับตัวอย่างไปทดสอบ

12.2.2.3 หากไม่สามารถรับตัวอย่างที่ส่งตรวจได้ ต้องแจ้งให้ผู้ส่งตัวอย่างทราบ และมีการจัดการอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการ

12.2.3 การตรวจรับสิ่งส่งตรวจของห้องปฏิบัติการ

12.2.3.1 เจ้าหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ตรวจสอบตัวอย่างให้ตรงกับรายละเอียดในฟอร์มรับตัวอย่างตรวจทางห้องปฏิบัติการ และแจ้งนายสัตวแพทย์เวรประจำวันทราบ

12.2.3.2 ตรวจสอบสภาพตัวอย่างให้ถูกต้องตามที่ห้องปฏิบัติการกำหนด

12.2.3.3 บันทึกรายละเอียดจากแบบฟอร์มรับตัวอย่าง ลงสมุดรับตัวอย่าง

12.2.3.4 หากต้องการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ระบุชนิดของเชื้อที่ส่งตรวจ ให้จัดแบ่งตัวอย่างใส่ในถุงพลาสติกซิปล พร้อมทั้งติดป้ายบ่งชี้สถานะ ระบุป้ายบ่งชี้ “กำลังทดสอบ”

12.2.4 การจัดเก็บและการรักษาสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์

12.2.4.1 กรณีที่ยังไม่สามารถทดสอบในวันที่รับตัวอย่าง ให้เก็บตัวอย่างใน Refrigerator ($2 - 8^{\circ}\text{C}$) แล้วทำในวันถัดไป หากต้องเก็บตัวอย่างมากกว่า 2 วัน ขึ้นไป ให้เก็บที่อุณหภูมิ $< 0^{\circ}\text{C}$ ระบุป้ายบ่งชี้สถานะ “รอทดสอบ” พร้อมทั้งบันทึกในแบบฟอร์มการเคลื่อนย้ายตัวอย่าง

12.2.4.2 ถ้าหากตัวอย่างไม่เหมาะสมสำหรับการทดสอบ ให้กรอกแบบฟอร์มรายงานการส่งคืนตัวอย่างจากห้องปฏิบัติการ เพื่อดำเนินการแจ้งให้ผู้ส่งตัวอย่างทราบ

12.3 การรายงานผล

ห้องปฏิบัติการต้องรายงานผลการวิเคราะห์ ดังนี้

12.3.1 กรณีที่ตรวจพบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคตามที่ระบุในกฎหมายว่าด้วย พรบ.โรคระบาดสัตว์ ให้รายงานสำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์ โดยทันที และรายงานผู้ส่งตรวจ

12.3.2 กรณีที่ตรวจพบเชื้อก่อโรคชนิดอื่นที่ไม่อยู่ใน พรบ. ให้รายงานผู้ส่งตรวจ

12.3.3 กรณีที่ตรวจพบเชื้อดื้อยา ห้องปฏิบัติการรวบรวมและส่งข้อมูลให้ กองควบคุมอาหารและยา สัตว์ กรมปศุสัตว์

12.3.4 เชื้อก่อโรคทั้งหมดที่ตรวจพบ ต้องรายงานและขอจดแจ้งการครอบครองเชื้อที่สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ทุก 3 เดือน

ผนวก ก

รายการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นต่ำ ตามเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจจากตัวอย่างโดยตรง (Direct examination)

No. of Equipments	Direct examination							
	Gram's stain	Leprosy smear	modified AFB	AFB	Tzanck's smear	India ink	Wright's stain	Special stain; TBS, GMS
1. BSC class 2A (4 foot wide)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2. Fume hood	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3. Light microscope	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
4. Fluorescence microscope	-	-	-	✓	-	-	-	-
5. Low speed centrifuge 4000 rpm	-	-	-	✓	-	✓	-	-
6. Slide warmer	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓
7. Stainless transfer box	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-
8. Basin	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
9. Eyewash station	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

2. การเพาะเชื้อและการทดสอบชีวเคมี (Culture and Biochemical tests)

No. of Equipments	Culture and Biochemical tests			
	Aerobe	Anaerobe	TB	Fungus
1. BSC class 2A (4 foot wide)	✓	✓	✓	✓
2. Fume hood	✓	✓	✓	✓
3. Light microscope	✓	✓	✓	✓
4. Fluorescence microscope	-	-	-	✓
5. Low speed centrifuge 4000 rpm	-	-	-	✓
6. Slide warmer	✓	✓	✓	✓
7. Stainless transfer box	✓	✓	✓	✓
8. Basin	✓	✓	✓	✓
9. Eyewash station	✓	✓	✓	✓
10. Autoclave (clean & dirty)	✓ (2)	✓ (2)	✓ (2)	✓ (2)

No. of Equipments	Culture and Biochemical tests			
	Aerobe	Anaerobe	TB	Fungus
11. Deep Freezer -70°C (only Reference lab)	✓	✓	✓	✓
12. Deep Freezer -20°C	✓	✓	✓	✓
13. Refrigerator	✓	✓	✓	✓
14. Incubator	✓ (3)	✓ (2)	✓	✓
15. CO ₂ incubator	✓	-	-	-
16. Anaerobic Jar/Anaerobic chamber + Gas pak	-	✓	-	-
17. Candle jar	✓	-	-	-
18. Automated Hemoculture	✓	-	-	-
19. Balance (media preparation)	✓	✓	✓	✓
20. pH meter (media preparation)	✓	✓	✓	✓
21. Waterbath (media preparation)	✓	✓	✓	✓
22. Loop sterilizer	✓	✓	✓	✓

หมายเหตุ ตัวเลขระบุในวงเล็บ หมายถึง จำนวนเครื่องมือที่มากกว่า 1 เครื่อง

3. การตรวจด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular techniques)

No. of Equipments	Molecular techniques		
	Conventional PCR	Real-time PCR	GeneXpert
1. BSC class 2A (4 foot wide)	✓	✓	✓
2. PCR machine	✓	✓	✓
3. Dead box / PCR cabinet	✓	✓	✓
4. High speed microcentrifuge / Refrigerated centrifuge	✓	✓	✓
5. UV box	✓	✓	✓
6. Eyewash station	✓	✓	✓
7. Autoclave	✓	✓	✓
8. Deep Freezer -70°C (only Reference lab)	✓	✓	✓
9. Deep Freezer -20°C	✓	✓	✓
10. Refrigerator	✓	✓	✓
11. Heat Block	✓	✓	✓
12. Autopipette (as desired volume)	✓	✓	✓
13. Computer	✓	✓	✓

หมายเหตุ

1. การติดตั้งเครื่องเฉพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ พิจารณาตามความเหมาะสม
2. การติดตั้งเครื่องมือวิทยาศาสตร์เพิ่มเติมจากจำนวนขั้นต่ำ พิจารณา

หลักการคำนวณภาระงานโดยติดตามปริมาณงาน

1. หลักการวิเคราะห์

1.1 จำนวนเวลาภาระงานที่ปฏิบัติทั้งปี

จำนวนเวลาภาระงานที่ปฏิบัติทั้งปี = เวลามาตรฐานงานที่ใช้ปฏิบัติงาน (นาทิต) × จำนวนกิจกรรมที่ปฏิบัติทั้งปี

1.2 จำนวนบุคลากรที่ต้องการ

จำนวนบุคลากรที่ต้องการ =
$$\frac{\text{จำนวนเวลาภาระงานที่ปฏิบัติทั้งปี}}{\text{วันทำงาน (230 วัน) } \times \text{ ชั่วโมงทำงาน (6 ชั่วโมง) } \times 60 \text{ นาที}}$$

2. เวลามาตรฐานงาน

เวลามาตรฐานงาน คือ เวลาที่ใช้ในการทำงาน 1 ชิ้น มีหน่วยเป็นนาที ได้จากการจับเวลาการทำงานของบุคคลหลายคนแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย เพื่อใช้เป็นค่ามาตรฐานของการทำงานนั้น โดยคิดเฉพาะเวลาของคนเท่านั้น ไม่คิดรวมเวลาที่เครื่องมืออื่นๆทำงาน ดังนั้น เวลามาตรฐานงานที่ได้

ตัวอย่าง การคำนวณภาระงานการตรวจปัสสาวะ

เวลามาตรฐานงานการตรวจปัสสาวะ	=	8 นาทีต่อราย*
จำนวนการตรวจปัสสาวะทั้งปี	=	10,000 ราย
จำนวนบุคลากรที่ต้องใช้ในการตรวจปัสสาวะ	=	$8 \times 10,000 / 230 \times 6 \times 60$
	=	0.966 คน

*หมายเหตุ เวลามาตรฐานนี้เป็นตัวเลขสมมติ ควรดำเนินการจับเวลาจริงตามที่ กพ แนะนำ หากจะนำไปใช้คำนวณ

3. สถิติในการการคำนวณกำลังคน

การคำนวณกำลังคนนี้ ต้องการหาข้อมูลกำลังคนที่ควรมีอยู่ในการทำงานภาคกลางวัน สถิติที่ใช้ในการคำนวณ จึงควรเป็นปริมาณงานย้อนหลัง 3 ปี โดยใช้ข้อมูลที่ปฏิบัติงานเฉพาะในเวลาราชการเท่านั้น ไม่นำปริมาณที่ให้บริการแบบฉุกเฉินนอกเวลาราชการมาคำนวณด้วย เพราะจะทำให้ค่าที่ได้ไม่เป็นไปตามสภาพจริง เนื่องจากลักษณะงานเทคนิคการแพทย์ที่ปฏิบัติกัน ในปัจจุบันได้จัดให้เจ้าหน้าที่ ที่ปฏิบัติงานในเวลาราชการขึ้นมาหมุนเวียน เพื่อจัดบริการฉุกเฉินนอกเวลาราชการ และเบิกค่าล่วงเวลา 8 - 16 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ในวันหยุดราชการ ซึ่งเจ้าหน้าที่ไม่ได้หยุดงานในวันรุ่งขึ้น เนื่องจากไม่มีบุคลากรให้เปลี่ยนผลัดได้

ผนวก ด

รายการเทคนิคที่แนะนำสำหรับห้องปฏิบัติการ แต่ละระดับโรงพยาบาล

Test	ระดับโรงพยาบาล					Technique ขั้นต่ำ
	A	S	M1	M2	F1-3	
Haemocultures	✓	✓	✓	-	-	Automate Haemoculture
Urine Cultures	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
Stool Culture	✓	✓	✓	-	-	Conventional Method
For Vibrionaceae	✓	✓	✓	-	-	Conventional Method
Genital Tract	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
Spt/TS Cultures	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
TS for Diphtheria	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
Pus Culture	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
CSF Culture	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
Other Cultures	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
TB Culture	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
PCR for TB	✓	-	-	-	-	Realtime-PCR
Fungus Culture	✓	✓	-	-	-	Conventional Method
เพาะเชื้อน้ำไตเทียม	✓	-	-	-	-	Conventional Method
เพาะเชื้อจากระบบบำบัด	✓	-	-	-	-	Conventional Method
ตรวจยืนยันเชื้อดื้อยา	✓	-	-	-	-	Conventional Method

หมายเหตุ ระดับโรงพยาบาลของกระทรวงสาธารณสุข สำหรับห้องปฏิบัติการนอกกระทรวงสาธารณสุขให้พิจารณาตามความเหมาะสม

คำจำกัดความของเชื้อดื้อยา

ผู้เชี่ยวชาญของศูนย์ป้องกันและควบคุมโรคในยุโรป (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) และศูนย์ป้องกันและควบคุมโรคในสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) ได้กำหนดคำจำกัดความของเชื้อดื้อยาร่วมกัน เพื่อใช้เป็นมาตรฐานระดับสากลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 ทำให้แต่ละหน่วยงานทั้งในระดับประเทศและนานาชาติ สามารถสื่อสารหรือเปรียบเทียบรายงานผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบความไวเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดต่อยาต้านจุลชีพได้ การรายงาน cumulative antibiogram report ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องใช้แนวปฏิบัติตามมาตรฐานนี้ ในการกำหนดความหมายของเชื้อดื้อยาหลายขนาน มาตรฐานการให้คำจำกัดความของประเภทการดื้อยา ใช้ได้กับวิธีการการทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาและ breakpoint ตามมาตรฐานของทั้งสามสถาบัน คือ Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) และ United States Food and Drug Administration (FDA)

มาตรฐานสากลนี้ กำหนดคำจำกัดความของรูปแบบการการดื้อยาต้านจุลชีพออกเป็นสามแบบ คือ multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (XDR) และแบบ pandrug-resistant (PDR) ดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับเชื้อหลักกลุ่มที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในสถานพยาบาลได้บ่อยและมักจะเป็นเชื้อดื้อยาหลายขนาน คือ *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae* (other than *Salmonella* and *Shigella*), *P. aeruginosa* และ *Acinetobacter* spp.

มาตรฐานให้คำจำกัดความของรูปแบบการดื้อยาโดยกำหนดชนิดของยา (Antimicrobial category) และกลุ่มของยา (Antimicrobial agents) สำหรับเชื้อ *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae* (other than *Salmonella* and *Shigella*), *P. aeruginosa* และ *Acinetobacter* spp. ดังแสดงในตารางที่ 2 ถึงตารางที่ 7 ตามลำดับ เพื่อให้กำหนดประเภทการดื้อยาต้านจุลชีพได้มาตรฐาน ห้องปฏิบัติการจึงควรทำการทดสอบความไวของเชื้อแต่ละชนิดต่อกลุ่มของยาทุกชนิดหรือเกือบทุกกลุ่มที่กำหนดไว้ ไม่ควรเอาผลการทดสอบของยาในกลุ่มที่ไม่ได้กำหนดไว้สำหรับเชื้อแต่ละกลุ่มมาแยกประเภทการดื้อยา

ตารางที่ 1 ความหมายของรูปแบบการดื้อยาแต่ละประเภทตามมาตรฐานสากล

ประเภทของการดื้อยา	คำจำกัดความ
Multidrug-resistant (MDR)	เชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพมากกว่าหรือเท่ากับสามกลุ่ม โดยอย่างน้อยต้องดื้อต่อยาหนึ่งชนิดในแต่ละกลุ่มของยา ตามตารางของยาสำหรับเชื้อแต่ละกลุ่ม Non-susceptible to at least 1 agents in > 3 antimicrobial categories listed in each group of bacteria
Extensively drug-resistant (XDR)	เชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกกลุ่ม ยกเว้นยาสองหรือน้อยกว่าสองกลุ่ม โดยอย่างน้อยต้องดื้อต่อยาหนึ่งชนิดในแต่ละกลุ่มของยา ตามตารางของยาสำหรับเชื้อแต่ละกลุ่ม Non-susceptible to at least 1 agents in all but 2 or fewer antimicrobial categories listed in each group of bacteria
Pandrug-resistant (PDR)	เชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกกลุ่ม ตามตารางของยาสำหรับเชื้อแต่ละกลุ่ม Non-susceptibility to all agents in all antimicrobial categories for each group of bacteria

ที่มา: http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/ARHAI/Pages/public_consultation_clinical_microbiology_infection_article.aspx

ตารางที่ 2 กลุ่มของยาต้านจุลชีพและยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการกำหนดความหมายของรูปแบบการดื้อยาในเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Antimicrobial categories and agents used to define MDR, XDR and PDR for *Staphylococcus aureus*)

Antimicrobial category	Antimicrobial agents
Aminoglycosides	Gentamicin
Ansamycin	Rifampin
Beta-lactams	Cefoxitin or oxacillin
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim-sulphamethoxazole
Fucidanes	Fucidanes
Glycopeptides	Vancomycin, Teicoplanin, Telavancin
Glycylcyclines	Tigecycline
Lincosamides	Clindamycin
Lipopeptides	Daptomycin
Macrolides	Erythromycin
Oxazolidinones	Linezolid
Phenicol	Chloramphenicol
Phosphonic acids	Fosfomycin
Streptogramins	Quinupristin-dalfopristin
Tetracyclines	Tetracycline, Doxycycline, Minocycline

ตารางที่ 3 กลุ่มของยาต้านจุลชีพและยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการกำหนดความหมายของรูปแบบการดื้อยาในเชื้อ *Enterococcus* spp. (Antimicrobial categories and agents used to define MDR, XDR and PDR for *Enterococcus* spp.)

Antimicrobial category	Antimicrobial agents
Aminoglycosides	Gentamicin(high level)
Streptomycin	Streptomycin (high level)
Carbapenems	Imipenem, Meropenem, Doripenem intrinsic resistance found in <i>Enterococcus faecium</i>
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin
Glycopeptides	Vancomycin, Teicoplanin
Glycylcyclines	Tigecycline
Lincosamides	Clindamycin
Lipopeptides	Daptomycin
Oxazolidinones	Linezolid
Penicillins	Ampicillin
Streptogramins	Quinupristin-dalfopristin
Tetracyclines	Tetracycline, Doxycycline, Minocycline
<i>Enterococcus faecalis</i> ดื้อยาแบบ intrinsic resistance ต่อยา Quinupristin-dalfopristin	

ตารางที่ 4 กลุ่มของยาต้านจุลชีพและยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการกำหนดความหมายของรูปแบบการดื้อยาในเชื้อ *Enterobacteriaceae* (Antimicrobial categories and agents used to define MDR, XDR and PDR for *Enterobacteriaceae*)

Antimicrobial category	Antimicrobial agents
Aminoglycosides	Gentamicin, Tobramycin , Amikacin, Netilmicin
Beta –lactam with beta-lactamase inhibitors	Ticarcillin-clavulanic acid, Piperacillin-tazobactam
Carbapenems	Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Doripenem
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin
Non-extended spectrum cephalosporins ; 1 st and 2 nd generation cephalosporins	Cefazolin, Cefuroxime
Extended-spectrum cephalosporins; 3 rd and 4 th generation cephalosporins	Cefotaxime, ceftriaxone, Ceftazidime
Cephameycins	Cefoxitin, Cefotetan

ตารางที่ 4 กลุ่มของยาต้านจุลชีพและยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการกำหนดความหมายของรูปแบบการดื้อยาในเชื้อ *Enterobacteriaceae* (Antimicrobial categories and agents used to define MDR, XDR and PDR for *Enterobacteriaceae*) (ต่อ)

Antimicrobial category	Antimicrobial agents
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim-sulphamethoxazole
Monobactams	Aztreonam
Glycylcyclines	Tigecycline
Streptogramins	Quinupristin-dalfopristin
Penicillins	Ampicillin
Penicillins + β -lactamase inhibitors	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam
Phenicol	Chloramphenicol
Phosphonic acids	Fosfomycin
Polymyxins	Colistin
Tetracyclines	Tetracycline , Doxycycline, Minocycline

Intrinsic resistance:

1. *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii* intrinsic resistance ต่อ gentamicin, tobramycin และ netilmycin
2. *Escherichia hermannii* intrinsic resistance ต่อ Ticarcillin-clavulanic acid
3. *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Proteus penneri*, *Proteus vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, และ *Serratia marcescens* intrinsic resistance ต่อ Cefazolin
4. *M. morganii*, *P. penneri*, *P. vulgaris* และ *S. marcescens* intrinsic resistance ต่อ Cefuroxime
5. *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E. cloacae* และ *H. alvei* intrinsic resistance ต่อ Cefoxitin และ Cefotetan
6. *M. morganii*, *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*), *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, และ *P. stuartii* intrinsic resistance ต่อ Tetracycline
7. *Citrobacter koseri* (*C. koseri*), *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. hermannii*, *H. alvei*, *Klebsiellae* spp., *M. morganii*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* และ *S. marcescens* intrinsic resistance ต่อ Ampicillin
8. *C. freundii*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *H. alvei*, *M. morganii*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *S. marcescens* intrinsic resistance ต่อ Amoxicillin-clavulanic acid
9. *C. freundii*, *C. koseri*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *H. alvei*, *P. rettgeri*, *S. marcescens* intrinsic resistance ต่อ Ampicillin-sulbactam
10. *M. morganii*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *S. marcescens* intrinsic resistance ต่อ Colistin
11. *M. morganii*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* intrinsic resistance ต่อ Tetracycline
12. *M. morganii*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii* intrinsic resistance ต่อ Doxycycline และ minocycline

ตารางที่ 5 กลุ่มของยาต้านจุลชีพและยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการกำหนดความหมายของรูปแบบการดื้อยาในเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (Antimicrobial categories and agents used to define MDR, XDR and PDR for *Pseudomonas aeruginosa*)

Antimicrobial category	Antimicrobial agents
Aminoglycosides	Gentamicin, Tobramycin , Amikacin, Netilmicin
Antipseudomonal carbapenems	Imipenem, Meropenem, Doripenem
Antipseudomonal cephalosporins	Ceftazidime, Cefepime
Antipseudomonal fluoroquinolones	Ciprofloxacin, Levofloxacin
Antipseudomonal penicillins and Bata-lactamase inhibitors	Ticarcillin-clavulanic acid and Piperacillin-tazobactam
Monobactams	Aztreonam
Phosphonic acids	Fosfomycin
Polymyxins	Colistin, Polymyxin B

ตารางที่ 6 กลุ่มของยาต้านจุลชีพและยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการกำหนดความหมายของรูปแบบการดื้อยาในเชื้อ *Acinetobacter* spp. (Antimicrobial categories and agents used to define MDR, XDR and PDR for *Acinetobacter* spp.)

Antimicrobial category	Antimicrobial agents
Aminoglycosides	Gentamicin, Tobramycin , Amikacin, Netilmicin
Antipseudomonal carbapenems	Imipenem, Meropenem, Doripenem
Antipseudomonal fluoroquinolones	Ciprofloxacin, Levofloxacin
Antipseudomonal penicillins and Bata-lactamase inhibitors	Ticarcillin-clavulanic acid and Piperacillin-tazobactam
Extended-spectrum cephalosporins	Cefotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime, Cefepime
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim-sulphamethoxazole
Penicillins + b-lactamase inhibitors	Ampicillin-sulbactam
Polymyxins	Colistin, Polymyxin B
Tetracyclines	Tetracycline, Doxycycline, Minocycline

ตารางที่ 7 ตัวอย่าง ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *P. aeruginosa* ต่อยาต้านจุลชีพที่แสดงความหมายของการดื้ออย่างแบบ เป็น MDR, XDR และ PDR

Antimicrobial category	Antimicrobial agents	MDR isolate	XDR isolate	PDR isolate
Aminoglycosides	Gentamicin		NS	NS
	Tobramycin		NS	NS
	Amikacin			NS
	Netilmicin			NS
Antipseudomonal carbapenems	Imipenem	NS	NS	NS
	Meropenem		NS	NS
	Doripenem		NS	NS
Antipseudomonal cephalosporins	Ceftazidime	NS		NS
	Cefepime		NS	NS
Antipseudomonal fluoroquinolones	Ciprofloxacin	NS	NS	NS
	Levofloxacin			NS
Antipseudomonal penicillins and Beta-lactamase inhibitors	Piperacillin-tazobactam			NS
	Ticarcillin-clavulanic acid		NS	NS
Monobactams	Aztreonam		NS	NS
Phosphonic acids	Fosfomycin			NS
Polymyxins	Colistin, Polymyxin B			NS

isolate no.	Antimicrobial category								
	A	B	C	D	G	H	I	J	
1	■	■							Not MDR
2	■	■							Not MDR
3	■	■	■						MDR
4	■	■	■						MDR
5	■	■	■						MDR
6	■	■	■						MDR
7	■	■	■		NT	NT	NT	NT	MDR, possible XDR
8	■	■	■		NT	NT	NT	NT	MDR, possible XDR
9	■	■	■		NT	NT	NT	NT	MDR, possible XDR, pos
10	■	■	■		NT	NT	NT	NT	MDR, possible XDR, pos
11	■	■	■	■					XDR
12	■	■	■	■					XDR
13	■	■	■	■					XDR
14	■	■	■	■					XDR
15	■	■	■	■					XDR
16	■	■	■	■					XDR
17	■	■	■	■					XDR
18	■	■	■	■		NT	NT		XDR
19	■	■	■	■		NT	NT		XDR
20	■	■	■	■		NT	NT		XDR, possible PDR
21	■	■	■	■		NT	NT		XDR, possible PDR
22	■	■	■	■					PDR

รูปที่ 1 แสดง 22 รูปแบบความไวของเชื้อต่อต้านจุลชีพ ที่เป็น MDR, XDR หรือ PDR (ช่องดำที่บ่งแทนการดื้อยาทุกชนิดในแต่ละกลุ่มของยา และช่องดำครึ่งช่องคือการดื้อยาบางตัวในแต่ละกลุ่ม)

การกำหนดรูปแบบการดื้อยาชนิด XDR ของเชื้อ non-mycobacterial bacteria ใช้หลักการสองอย่าง คือ จำนวนของกลุ่มของยาต้านจุลชีพที่เราเรียกว่า category หรือ classes หรือ subclasses ที่ดื้อ และการดื้อต่อยาหนึ่งชนิดหรือมากกว่าหนึ่งชนิดของยาหลักในแต่ละกลุ่ม แต่สำหรับการดื้อยาแบบ XDR ของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* (XDR MTB) กำหนดให้หมายถึงเชื้อที่ดื้อต่อยาที่เป็น first-line agents คือ isoniazid และ rifampicin ตื้อต่อ Fluoroquinolone และดื้อต่อยาอย่างน้อย หนึ่งในสามชนิดของยาที่เป็น second-line drugs (second-line parenteral drugs) คือ ยา amikacin kanamycin หรือ capreomycin โดยใช้หลักการดังกล่าวกำหนดรูปแบบการดื้อยาสำหรับเชื้อ *Mycobacterium non-tuberculosis* แบบ XDR ด้วย

รายการเชื้อดื้อยาที่ควรส่งตรวจยืนยัน ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับประเทศ

1. เชื้อที่ไม่เคยมีการรายงานมาก่อน

1.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ให้ผลการทดสอบความไวต่อยา vancomycin อยู่ในช่วง Intermediate หรือ VISA และที่ให้ผลการทดสอบต่อยา vancomycin หรือ VRSA ในกรณีนี้ จะต้องตรวจหาเชื้อดื้อยาร่วมด้วยเพื่อการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา

1.2 เชื้อ *Staphylococcus*, coagulase negative ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา vancomycin หรือ VRSE

1.3 เชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา vancomycin (VRE) ในกรณีนี้ จะต้องตรวจหาเชื้อดื้อยาร่วมด้วย เพื่อการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา

1.4 เชื้อ *Streptococcus pneumoniae* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา carbapenems

1.5 เชื้อ *Salmonella* จาก sterile site ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา 3rd generation cephalosporins

2. เชื้อที่พบไม่บ่อยในพื้นที่ที่แยกได้ แต่มีรายงานในพื้นที่อื่นหรือพื้นที่ใกล้เคียง

2.1 เชื้อ *Enterococcus faecium* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา vancomycin (VRE) ในกรณีนี้ จะต้องตรวจหาเชื้อดื้อยาร่วมด้วย เพื่อการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา

2.2 เชื้อ *Streptococcus pneumoniae* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา 3rd generation cephalosporins, fluoroquinolones

2.3 เชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter* spp. ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา กลุ่ม carbapenems ในกรณีนี้จะต้องตรวจหาเชื้อดื้อยาร่วมด้วย เพื่อการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา

2.4 เชื้อ *Acinetobacter baumannii* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา colistin

2.5 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา colistin

2.6 เชื้อ *Salmonella* จากระบบทางเดินอาหาร ที่ให้ผลการทดสอบต่อยากลุ่ม fluoroquinolones

3. เชื้อที่ให้ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาผิดปกติ

3.1 เชื้อที่เป็น intrinsic resistance ต่อยาอื่นๆ (รายการเชื้อและยาได้จาก CLSI) แต่ให้ผลการทดสอบไวต่อยา

4. เชื้อที่ให้ผลการทดสอบที่สามารถเกิดความผิดพลาดด้านเทคนิคได้ง่าย และมีผลกระทบทางคลินิก

4.1 เชื้อ *Streptococcus pneumoniae* ที่ให้ผลการทดสอบต่อยา penicillin, 3rd generation cephalosporins, fluoroquinolones

เทคนิคการตรวจด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา และเทคนิคอื่นๆ

1. Signal amplification method เป็นการตรวจหากรดนิวคลีอิก โดยใช้ตัวติดตาม (probe) ที่สามารถเรืองแสงได้ เช่น fluorescent in situ hybridization (FISH) หรืออาจเป็นสารมีสี ในกรณี chromogen in situ hybridization (CISH) เนื่องจากไม่มีการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิก วิธีการนี้จึงมีความไวต่ำกว่าวิธีที่มีการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิก วิธีการนี้แบ่งได้เป็น

1.1 Nucleic acid probe เป็นวิธีแรกๆ ที่ถูกนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจหา ribosomal RNA (rRNA) ของจุลชีพ ด้วยตัวติดตามหรือ probe ที่ถูกติดฉลากด้วยสารที่สามารถเรืองแสงได้ (chemiluminescent) เมื่อตัวติดตามจับกับ rRNA ของจุลชีพเป้าหมาย จะเกิดการเรืองแสง ทำให้สามารถตรวจหาจุลชีพที่สงสัยได้ ตัวอย่างที่มีใช้แพร่หลายในห้องปฏิบัติการ เช่น AccuProbes ในการตรวจหาแบคทีเรียจากสิ่งส่งตรวจ เช่น Group A *Streptococcus* (ไม่นิยม ความไวต่ำกว่าการเพาะเชื้อ และ PCR) ที่นิยมมากกว่า น่าจะเป็นการตรวจหา *Neisseria gonorrhoeae* และ *Chlamydia trachomatis* ซึ่งมีความไวสูงกว่าการเพาะเชื้อ แต่ในปัจจุบันถูกทดแทนด้วยวิธี nucleic acid amplification AccuProbes ยังสามารถตรวจหาแบคทีเรียอื่นๆ ได้อีก เช่น *Campylobacter* spp., *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* และ *Staphylococcus aureus* โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการตรวจหาเชื้อขึ้นซ้ำและความยุ่งยากในการเพาะเลี้ยง และพิสูจน์ชนิดของเชื้อ เช่น *Mycobacterium tuberculosis* complex, Non-tuberculous *Mycobacterium* species อื่นๆ รวมทั้งราสองรูป เช่น *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis* และ *Coccidioides immitis*

1.2 Hybrid capture (HC) เป็นการตรวจหา DNA เป้าหมาย โดยใช้ RNA probe ในการตรวจจับ เกิดเป็น DNA-RNA hybrid ปฏิกริยานี้อาจทำในหลอดทดลอง หรือ microtiter plate ซึ่งเคลือบด้วย antibody ต่อ DNA-RNA hybrid ดังกล่าว เมื่อเติม antibody ตัวที่สองซึ่งติดฉลากด้วยสารเรืองแสง ก็จะสามารถตรวจจับแสงที่เพิ่มมากขึ้นได้ ในกรณีที่มี hybrid วิธีนี้นิยมใช้ตรวจหา high risk group ของ HPV type 16 หรือ type 18 และ *Neisseria gonorrhoeae* และ *Chlamydia trachomatis*

1.3 Branched-chain DNA (bDNA) คือ ตัวติดตามซึ่งสามารถจับกับกรดนิวคลีอิกของจุลชีพเป้าหมาย เมื่อเติมเอนไซม์หรือสารเรืองแสงที่จำเพาะกับกรดนิวคลีอิกที่จับกับ bDNA ก็จะสามารถตรวจวิเคราะห์ทั้งชนิดและปริมาณของจุลชีพเป้าหมายได้ แม้จะประสบความสำเร็จในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ viral load ของ HIV, HBV, HCV ก็ตาม แต่วิธีนี้ไม่ได้รับความนิยมมากนักและถูกแทนที่ด้วย nucleic acid amplification ในที่สุด

1.4 In situ hybridization (ISH) เป็นวิธีตรวจหา rRNA เป้าหมาย โดยใช้ตัวติดตามที่เรืองแสงได้ (Fluorescent in situ hybridization; FISH) ซึ่งต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ ในการดู หรือใช้ตัวติดตามเป็นเอนไซม์ที่เมื่อเกิดปฏิกิริยาจะมีสีเกิดขึ้น (chromogen in situ hybridization; CISH) สามารถตรวจดู โดยกล้องจุลทรรศน์ light microscope เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมแพร่หลายในการตรวจหาไวรัส เช่น CMV, HPV, EBV รวมทั้งแบคทีเรีย มัยโคแบคทีเรีย และ *Candida* โดยใช้เป็น peptide nucleic acid probe หรือ PNA-FISH ในการตรวจหาเชื้อโดยตรงจากขูดเลือดที่พบสัญญาณเตือนว่ามีเชื้อขึ้นและจำแนกชนิดเบื้องต้นก่อนแล้ว ด้วยการย้อมแกรม ทำให้สามารถรายงานผลเชื้อได้ภายใน 2.5 ชั่วโมง หลังพบสัญญาณเตือนว่าขูดบวก เชื้อที่สามารถตรวจพบได้ เช่น *Staphylococcus aureus* หรือ Coagulase-negative *Staphylococcus*, *Enterococcus faecium* หรือ *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* หรือ *Klebsiella pneumonia* หรือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* หรือ *Candida tropicalis* หรือ *Candida glabrata* รวมถึง *Mycobacterium tuberculosis* หรือ Non-tuberculous Mycobacteria (NTM) การใช้ rRNA เป็นตัวตรวจจบบัมีข้อดีเหนือกว่า rDNA เนื่องจากปริมาณ rRNA มีมากกว่า rDNA อีกทั้งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเจริญเติบโตของเชื้อ ส่วนการใช้ peptide nucleic acid probe มีข้อดีที่สามารถตรวจจบบ intact organism ได้ดีกว่าและมีประโยชน์ในกรณีต้องการหา single nucleotide polymorphism (SNP) อย่างไรก็ดี วิธีการนี้อาจถูกแทนที่ด้วย microarray ในปัจจุบัน

2. Nucleic acid amplification โดยหลักการ หมายถึง การเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิกของจุลชีพ เป้าหมายที่ต้องการตรวจหา ได้แก่

2.1 Polymerase chain reaction (PCR) เป็นที่นิยมใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน ในการตรวจหา จุลชีพที่มีปริมาณน้อย เพาะเชื้อยากหรือไม่สามารถขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หรืออัตราการเจริญเติบโตช้า ในปัจจุบันมีวิวัฒนาการมากมายหลายวิธี สามารถทำได้ง่ายขึ้น ไม่สิ้นเปลืองแรงงานและเวลา รวมทั้งค่าใช้จ่าย หลักการของ PCR ประกอบด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน โดยการทำปฏิกิริยาจะเริ่มจากขั้นตอนที่ 1 ไปยังขั้นตอนที่ 2 และ ขั้นตอนที่ 3 จากนั้นจะวนกลับมาขั้นตอนที่ 1 ใหม่ และดำเนินการซ้ำๆ ดังนี้ เป็นจำนวนหลายรอบ เช่น 30 รอบ ทำให้ DNA เป้าหมายเพิ่มจำนวนเป็นทวีคูณ โดยขั้นตอนที่ 1 คือ ขั้นตอน DNA denaturation เป็นการ ทำลายพันธะไฮโดรเจนซึ่งยึดเกลียวคู่ของสาย DNA โดยใช้อุณหภูมิสูง เช่น 95 °C ทำให้ DNA แยกออกจากกัน กลายเป็นสายเดี่ยว เพื่อรอการจับกับ primer ในขั้นตอนที่ 2 หรือ primer annealing ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ primer ที่ใส่เข้าไปในปฏิกิริยา จะจับกับ DNA สายเดี่ยวตรงบริเวณที่จำเพาะ และสามารถสร้าง DNA ต่อออกไปจาก บริเวณที่ primer จับอยู่ โดย enzyme polymerase ในขั้นตอนที่ 3 คือ primer extension ได้ DNA ที่เกิดขึ้น ใหม่เรียกว่า amplicon จากนั้นจะทำการตรวจดูขนาดของ amplicon ที่เกิดขึ้น โดยวิธี gel electrophoresis ซึ่งอาจต้องย้อมสี ethidium bromide แล้วส่องดูโดยแสง ultraviolet (UV) การทำปฏิกิริยาดังกล่าวซ้ำไปมา หลายรอบ จึงเป็นการเพิ่มจำนวน amplicon ที่ต้องการให้มากขึ้น จนสามารถตรวจพบได้ แม้เริ่มต้นจะมีปริมาณ เพียงเล็กน้อยก็ตาม ในปัจจุบัน วิวัฒนาการของ polymerase chain reaction ได้ถูกพัฒนากว้างไกลไปกว่าเดิม มากมาย วิธีการถูกปรับให้ง่ายขึ้น สะดวกขึ้น เช่น

2.2 Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) เป็นเทคนิคที่ถูกปรับให้สะดวกขึ้น โดยเทคนิค LAMP จะเพิ่มขยายยีน โดยใช้ primer จำนวน 4 เส้น ที่สามารถตรวจสอบยีนที่มีความจำเพาะ

ถึง 6 ตำแหน่งของยีนเป้าหมาย การเพิ่มขยายยีนจะใช้อุณหภูมิคงที่ ซึ่งไม่จำเป็นต้องใช้เครื่อง thermal cycler และใช้ปฏิกิริยา strand displacement ของเอนไซม์ Bst DNA polymerase การตรวจสอบยีนที่เพิ่มขยายได้สามารถทำในขั้นตอนเดียวไปพร้อมๆ กันไม่จำเป็นต้องใช้เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ทั้งนี้ เนื่องจากการเพิ่มขยายยีนในเทคนิค LAMP ทำให้มีสาร pyrophosphate เป็น by product ซึ่งสามารถจับกับ magnesium กลายเป็น magnesium pyrophosphate ซึ่งจะตกตะกอนเป็นสีขาวสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า จะมีปริมาณมาก หรือน้อยขึ้นกับปริมาณการเพิ่มขยายยีนนั้นๆ เนื่องจากคุณสมบัติของเทคนิคที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ทำให้เทคนิคนี้ถูกนำไปใช้งานในด้านต่างๆ เช่น การวินิจฉัยโรคติดเชื้อ การพิสูจน์หลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

2.3 Reverse Transcription-PCR (RT-PCR) เป็นเทคนิคที่ประยุกต์ใช้ในการตรวจหา mRNA ซึ่งเป็นการแสดงออกของยีนเป้าหมายและนำไปสู่การทราบปริมาณของเชื้อได้ เช่น ตรวจหา viral load ของเชื้อ HIV และ HCV ทำให้สามารถพัฒนาการตรวจหาเชื้อก่อโรคที่ขึ้นยาก เช่น *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* โดยชุดทดสอบ LCx (Abbott) หรือ APTIMA II Combo (GenProbe) มาเป็นการตรวจหายีนดื้อยา เช่น rifampin resistance ใน *Mycobacterium tuberculosis* เป็นต้น ทำให้การวินิจฉัยโรคและการรักษามีความถูกต้องรวดเร็ว

2.4 Broad-range PCR เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้น เพื่อตรวจหา “กลุ่ม” เชื้อเป้าหมาย โดยมิใช่เชื้อเพียงชนิดเดียว คือ ตรวจสอบเบื้องต้นก่อนว่า มี หรือ ไม่มี ตามด้วยการตรวจหาตัวเชื้อด้วย Southern blot หรือ Enzyme immunoassay โดยใช้ probe หลายชนิด

2.5 Multiplex PCR เป็นเทคนิคที่ใช้ primers จำเพาะหลายคู่ในปฏิกิริยา PCR เดียวกัน โดยให้เกิด amplicon ที่มีขนาดต่างกัน ก็จะสามารถตรวจหาเชื้อหรือยีนเป้าหมายที่สนใจหลายชนิดในปฏิกิริยาเดียวกันได้ และอาจพัฒนาให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น โดยเทคนิค Nested PCR

2.6 Nested PCR เป็นเทคนิคที่มักใช้ควบคู่กับ multiplex PCR โดยเป็น primers คู่ที่จะจับกับ amplicon ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา PCR แรก เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการตรวจหายีนเป้าหมาย มีชุดทดสอบเพื่อตรวจหา *Rickettsia*, *Bartonella* หรือใช้ร่วมกับเทคนิค Real-Time PCR ในการตรวจหาเชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร (Gastrointestinal panel: pathogenic bacteria, parasites, virus) และ ทางเดินหายใจ (respiratory panel : pathogenic virus, *B. pertussis*, *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*)

3. Postamplification analysis การตรวจหา amplicon ที่เกิดขึ้น อาจแบ่งได้เป็น การวิเคราะห์ขนาดของ amplicon และการวิเคราะห์กรดนิวคลีอิก ที่ประกอบเป็น amplicon ซึ่งมีหลายวิธีการพอสังเขป ดังนี้

3.1 Gel electrophoresis/Southern blot hybridization โดย Gel electrophoresis เป็นวิธีดั้งเดิมและเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดในการตรวจหา amplicon โดยเทียบจากขนาดที่เกิดขึ้น หลักการคือ DNA จะเคลื่อนที่ใน agarose gel ได้แตกต่างกัน ถ้ามีขนาดต่างกัน เมื่อเทียบกับ DNA มาตรฐานที่ทราบขนาดจะสามารถประมาณขนาดของ amplicon ที่เกิดขึ้นได้ว่า มีน้ำหนักประมาณเท่าใด ใกล้เคียงกับที่คำนวณได้จากการใช้ primer คู่ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา PCR หรือไม่ แต่ไม่ได้วิเคราะห์ลำดับกรดนิวคลีอิกใน amplicon ที่เกิดขึ้น หากต้องการพิสูจน์ยืนยันความถูกต้อง อาจต้องตรวจสอบซ้ำอีกครั้ง โดยใช้ probe ที่จำเพาะ เพื่อจับกับ amplicon นั้นๆ และทำ Southern hybridization ซึ่งถ้าเป็น amplicon ที่ถูกต้องจริง probe ที่จำเพาะจะสามารถจับกับ amplicon ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา PCR ครั้งแรก และถูกแสดงให้เห็นเป็นแถบบนแผ่นฟิล์มหรือเป็นสีบนกระดาษ

แต่เนื่องจากการตรวจสอบซ้ำ โดยวิธี Southern hybridization ดังกล่าว ใช้เวลานานอีก 2-3 วัน และต้องใช้เครื่องมือและเทคนิคพิเศษอีกหลายชนิด จึงไม่เป็นที่นิยมในห้องปฏิบัติการทั่วไป

3.2 Enzymatic detection of amplified products เป็นการตรวจหา amplicon ที่เกิดขึ้น โดยใช้ probe ที่จำเพาะเป็นตัวตรวจติดตาม ซึ่ง probe ที่จำเพาะนี้จะถูกติดฉลากด้วยเอนไซม์ ซึ่งสามารถทำให้เกิดการเรืองแสงหรือเปลี่ยนสี ซึ่งสามารถตรวจสอบได้

3.3 Reverse hybridization เนื่องจากการทำ Southern hybridization เป็นวิธีที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน จึงมีการปรับเทคนิคให้สะดวกแก่การใช้งานจริง และใช้เวลาเฉลี่ยนลง กล่าวคือ แทนที่จะใส่ probe ที่จำเพาะในปฏิกิริยาตรวจหา amplicon เพื่อให้เกิด hybridization ก็ดัดแปลง โดยการนำ probe ที่จำเพาะมา immobilize ลงบนแผ่นกระดาษ เพื่อรอการเติม amplicon ที่ได้จากการเตรียมโดยการเพิ่มจำนวนจากสิ่งส่งตรวจ ซึ่งถ้า amplicon นั้นๆ มีความจำเพาะกับ immobilized probe ก็จะเกิดแถบสีบนแผ่นกระดาษ ซึ่งจุดสีของแต่ละชนิดน่าจะทำให้เกิด amplicon จำเพาะที่มีขนาดแตกต่างกัน สามารถวินิจฉัยชนิดของจุลชีพในสิ่งส่งตรวจได้ด้วยอย่างที่ใช้ในทางคลินิก เช่น INNO-LiPA ที่ใช้ตรวจหา *Mycobacterium* spp. ต่างๆ ตลอดจน anti-tuberculous drug (rifampin, kanamycin, ethambutol) resistant ใน *M. tuberculosis* ก็เป็นเทคนิคของ reverse hybridization ซึ่งใช้เวลาในการดำเนินการทั้งสิ้นประมาณ 6 - 8 ชั่วโมง หลังได้รับสิ่งส่งตรวจ

3.4 DNA sequencing เป็นการตรวจหาลำดับกรดนิวคลีอิกในสาย DNA หรือ amplicon ที่เกิดขึ้น เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น แม้จะยังค่อนข้างยุ่งยากมีเครื่องมือและอุปกรณ์เฉพาะ และต้องอาศัยประสบการณ์ การนำลำดับของนิวคลีโอไทด์มาเทียบกับคลังข้อมูลที่มี ซึ่งนอกจากจะมีประโยชน์ในด้านการวินิจฉัยชนิดของเชื้อแล้ว ยังมีประโยชน์ในการหาลำดับเบสที่เปลี่ยนแปลงบนสาย DNA ซึ่งสามารถวิเคราะห์การกลายพันธุ์ หรือใช้เปรียบเทียบความเหมือนของสายพันธุ์ในเชิงระบาดวิทยาได้ การทำ sequencing ในปัจจุบันมีหลายวิธี ซึ่งมีการดัดแปลงไปจากวิธีดั้งเดิมของ Sanger เช่น Pyrosequencing ในการวิเคราะห์การด้อยหายของเชื้อ ต่อจากการทำ broad-range PCR หรือวิเคราะห์การกลายพันธุ์แบบ Single nucleotide polymorphism (SNP) ในคนที่อาจเสี่ยงต่อโรค หรือการติดเชื้อ Next-generation sequencing (NGS) เป็นการวิเคราะห์ลำดับกรดนิวคลีอิกบนสาย DNA หรือ amplicon หลายสายพร้อมๆ กัน ทำให้มีข้อมูลลำดับกรดนิวคลีอิกจำนวนมากที่นำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีทาง bioinformatics และมีประโยชน์ในเชิงระบาดวิทยาด้วย

3.5 Microarray analysis ไม่ใช่เทคนิคของการวิเคราะห์ลำดับกรดนิวคลีอิกโดยตรง แต่เป็นการวิเคราะห์โดยใช้ primers หลายๆ คู่ที่มีการติดฉลากด้วยสารเรืองแสงหรือสารมีสี เพื่อการตรวจวิเคราะห์ DNA หรือ amplicon จำนวนมากที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาเดียวกัน นิยมใช้ในการวิเคราะห์ยีนดื้อยา การตอบสนองของ host หรือใช้ในการตรวจหายาใหม่ๆ ตัวอย่างเช่น Verigene system (Nanosphere) ตรวจวินิจฉัยชนิดของจุลชีพก่อโรค (Gram-positive, Gram-negative, Yeast) และ/หรือการดื้อยา จากขวดเลือดที่มีสัญญาณเตือนว่าพบจุลชีพ และแยกชนิดเบื้องต้นด้วยการย้อมสีแกรม (ในกรณีนี้ ไม่จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนเชื้อก่อน เนื่องจากเชื้อมีปริมาณมากเพียงพอ)

3.6 Real-Time nucleic acid amplification (Rapid-cycle PCR) เป็นเทคนิคที่พัฒนาการตรวจหา amplicon ที่เกิดจากปฏิกิริยา PCR โดยปรับให้การเพิ่มและลดอุณหภูมิ ในปฏิกิริยา PCR เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วกว่าปกติ ในเครื่อง Real-Time PCR และให้มี fluorochrome ในปฏิกิริยา เพื่อตรวจจับ amplicon ที่เกิดขึ้นได้ทันที ขณะปฏิกิริยาดำเนินอยู่ เป็นการลดการปนเปื้อนจากภายนอก และเพิ่มความรวดเร็วในการ

ตรวจหา amplicon หลักการของ Real-Time PCR เป็นที่นิยมแพร่หลายในปัจจุบัน ในการตรวจหาจุลชีพก่อโรคทั่วไป เช่น *S. aureus* หรือตรวจหาจุลชีพโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ เช่น nasal colonization for MRSA หรือตรวจหา toxin ของ *Clostridium difficile* จากอุจจาระ รวมถึงการตรวจหายีนดื้อยาในกรณีของ *M. tuberculosis* จากเสมหะโดยตรงด้วย วิธีการตรวจหาหลายวิธี เช่น

3.6.1 SYBR Green ซึ่งเป็น fluorochrome ชนิดหนึ่ง ที่สามารถจับกับ DNA สายคู่ (double stranded DNA) ได้ดี และเมื่อจับกับ DNA สายคู่แล้วจะเกิดการเรืองแสงที่สามารถตรวจวัดได้ ทำให้มีความไวในการตรวจจับสูง แต่มีความจำเพาะต่ำ เพราะสามารถจับกับ DNA สายคู่ใดๆ ก็ได้ จึงอาจต้องใช้ SYBR Green ควบคู่กับ detector ตัวอื่น เพื่อเพิ่มความจำเพาะ

3.6.2 Third-Generation DNA-Binding Dyes เป็นชนิดของ dye ที่มีประสิทธิภาพสูง ราคาไม่แพง และสามารถแยกความแตกต่างของ SNP ได้ แต่ยังไม่มีการผลิตจำหน่ายในปัจจุบัน

3.6.3 Hybridization probes ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน มีหลายชนิด ได้แก่ Hydrolysis หรือ Taqman probes, FRET probes, Molecular beacons การเลือกใช้ probe ชนิดใด ถูกกำหนดโดยเครื่องมือด้วย เช่น ABI 7500 series (Applied Biosystems) และ Roche (COBAS) จะใช้ hydrolysis probes ถ้าเป็น Light Cycler จะใช้ FRET-probe ในขณะที่ SmartCycler อาจใช้ Molecular beacon หรือ hydrolysis probe ก็ได้ แต่บางเครื่อง เช่น RotorGene (Qiagen) ไม่จำกัดชนิด probe

4. Mass spectrometry โดยหลักการของ Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization-Time-of-Flight (MALDI-TOF) กระบวนการเริ่มจากการตรึงโปรตีนหรือเปปไทด์กับผลึกของเมทริกซ์ (matrix) เมื่อยิงแสงเลเซอร์ลงบนตัวอย่างโปรตีน ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน แล้วเคลื่อนที่ไปตามท่อสุญญากาศที่มีสนามไฟฟ้า เข้าสู่ส่วนวิเคราะห์มวล TOF MS ซึ่งการเคลื่อนที่ของไอออนไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของขนาดและประจุของไอออน โดยสารที่มีมวลโมเลกุลน้อยจะเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าสารที่มีมวลโมเลกุลมาก และเมื่อเดินทางต่อไปตกกระทบกับส่วนตัวตรวจจับ (Detector) จะเกิดเป็นแมสสเปกตรัมขึ้น แล้วนำไปเปรียบเทียบกับสเปกตรัมในฐานข้อมูลมาตรฐานที่มีอยู่และวิเคราะห์ผลเชื้อแต่ละชนิดได้ โดยแต่ละเชื้อจะมีชนิดและปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกัน จึงมีความจำเพาะสามารถวินิจฉัยชนิดของเชื้อได้ ซึ่งเทคนิคนี้ได้ถูกพัฒนาให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว ข้อจำกัดในการจัดจำแนกเชื้ออาจจะไม่สามารถจัดจำแนกเชื้อได้ทุกชนิด เนื่องจากจำกัดด้วยฐานข้อมูล

ผนวก ข

คำสั่งแต่งตั้ง

สำเนา

คำสั่งกระทรวงสาธารณสุข

ที่ ๒๒๒๐ / ๒๕๕๙

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการและคณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์
และคณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการ

สืบเนื่องจากปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ เป็นปัญหาสาธารณสุขที่ส่งผลให้มีผู้ป่วยและเสียชีวิตจำนวนมาก รัฐบาลเล็งเห็นความสำคัญของปัญหา และได้ให้ความเห็นชอบแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. ๒๕๖๐ – ๒๕๖๔ เมื่อวันที่ ๑๗ สิงหาคม ๒๕๕๙ เป็นแผนยุทธศาสตร์ฉบับแรกของไทยที่เน้นการแก้ไขปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพ ที่จะเป็นกรอบการทำงานให้แก่หน่วยงานต่าง ๆ โดยอ้างอิงแนวทาง Global Action Plan ขององค์การอนามัยโลก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รับผิดชอบดำเนินการตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย ในยุทธศาสตร์ที่ ๑ การเฝ้าระวัง ติดตาม และส่งสัญญาณการดื้อยาต้านจุลชีพทางห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาล และทางระบาดวิทยาในโรงพยาบาล ชุมชน และสิ่งแวดล้อม (One-health) ซึ่งการพัฒนามาตรฐานการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องดำเนินการเป็นลำดับแรก เพื่อให้ห้องปฏิบัติการตรวจเชื้อดื้อยานำไปใช้อ้างอิงปฏิบัติในทิศทางเดียวกัน ผลการตรวจจึงจะสามารถนำไปใช้ในการรักษา เฝ้าระวังและเตือนภัยได้อย่างถูกต้องสมประโยชน์

ในการนี้ เพื่อให้การดำเนินงานตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย ในประเด็นยุทธศาสตร์ที่ ๑ ดังกล่าวข้างต้น บรรลุวัตถุประสงค์ มีประสิทธิภาพ และเกิดประสิทธิผลสูงสุด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงขอแต่งตั้งคณะกรรมการและคณะทำงานดังกล่าว ดังต่อไปนี้

คณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์

- | | |
|--|------------------|
| ๑. อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ | ประธานกรรมการ |
| ๒. รองอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ได้รับมอบหมาย | รองประธานกรรมการ |
| ๓. นางสลักจิต ชูติพงษ์วิเวท | กรรมการ |
| ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทรงคุณวุฒิ
สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ | |
| ๔. ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข | กรรมการ |
| กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ | |
| ๕. นายกำธร มาลาธรรม | กรรมการ |
| ตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล | |

- | | |
|--|---------|
| ๖. นายฐิติพงษ์ ยิ่งยง
ตำแหน่งนายแพทย์ชำนาญการ
สำนักกระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค | กรรมการ |
| ๗. นายสมนึก เต็มมุติโรจน์
ตำแหน่งนายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ
กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์ | กรรมการ |
| ๘. นางสาวสุภาพร วงศ์ศรีไชย
ตำแหน่งนายสัตวแพทย์ชำนาญการ
สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ | กรรมการ |
| ๙. นางศิริรัตน์ ลิกานนท์สกุล
ข้าราชการบำนาญ สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค | กรรมการ |
| ๑๐. นางสาวสุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์
ตำแหน่งอาจารย์ประจำ
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต | กรรมการ |
| ๑๑. นางปทุมพิศ วิมลวัตรเวที
ข้าราชการบำนาญ สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ | กรรมการ |
| ๑๒. นายพิทักษ์ สันตนิรันดร์
ตำแหน่งรองศาสตราจารย์
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล | กรรมการ |
| ๑๓. นางสาวปฐมมาพร เอมะวิศิษฐ์
ตำแหน่งรองศาสตราจารย์
ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน
คณะสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | กรรมการ |
| ๑๔. นายวัชรชัย ณรงค์ศักดิ์
ตำแหน่งนายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ | กรรมการ |
| ๑๕. นางสุจิตรา มานะกุล
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี | กรรมการ |
| ๑๖. นางสาวสมพิศ ปินะเก
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลมหาสารคาม | กรรมการ |
| ๑๗. นางสาวหัสญา ดันติพงศ์
ตำแหน่งนายแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลชลบุรี | กรรมการ |

๑๘. นางสาววัชร จรกา กรรมการ
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ
โรงพยาบาลชลบุรี
๑๙. นางสาวไพเราะ บุญญะฤทธิ์ กรรมการ
ตำแหน่งเภสัชกรชำนาญการ
สำนักบริหารการสาธารณสุข สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
๒๐. นายอาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์ กรรมการ
ตำแหน่งนายแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๑. นางจุฑามาศ ศิริปาณี กรรมการ
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๒. นางสาวเรวดี สิริธัญญานนท์ กรรมการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๓. นางดวงดาว วงศ์สมมาตร กรรมการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๔. นางสาวนภวรรณ เจนใจ กรรมการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๕. นางสาววันทนา ปวีณกิตติพร กรรมการและเลขานุการ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๖. นางพิไลลักษณ์ อัครไพบุลย์ โอภาตะ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๗. นางสาวรัตนา ตาเจริญเมือง กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

โดยคณะทำงานมีอำนาจหน้าที่ดังนี้

๑. กำหนดรายละเอียดและขอบเขตมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์
๒. ทบทวนร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์ เพื่อใช้สำหรับการบริการระดับหน่วยบริการ ระดับอ้างอิง และระดับชาติ

๓. กำหนดแนวทางและกลไกในการใช้มาตรฐานต่อทุกโรงพยาบาล
๔. กำหนดการร่างขอบเขตมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์ให้แล้วเสร็จภายใน ปีงบประมาณ ๒๕๖๐
๕. ปฏิบัติงานอื่นๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

คณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์

๑. นางสาวรงค์ เดชศิริเลิศ ที่ปรึกษา
ข้าราชการบำนาญ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒. นางสาวอรอนงค์ รัชตราชนชัย ที่ปรึกษา
ข้าราชการบำนาญ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๓. นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์ ที่ปรึกษา
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทรงคุณวุฒิ
สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๔. นางสาวนภวรรณ เจนใจ ประธานคณะกรรมการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๕. นายฐิติพงษ์ ยิ่งยง คณะทำงาน
ตำแหน่งนายแพทย์ชำนาญการ
สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค
๖. นางศิริรัตน์ ลิกานนท์สกุล คณะทำงาน
ข้าราชการบำนาญ สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค
๗. นางวราภรณ์ เทียนทอง คณะทำงาน
ตำแหน่งพยาบาลวิชาชีพชำนาญการพิเศษ
สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค
๘. นางสาวสุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์ คณะทำงาน
ตำแหน่งอาจารย์ประจำ
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต
๙. นายพิทักษ์ สันตนิรันดร์ คณะทำงาน
ตำแหน่งรองศาสตราจารย์
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
๑๐. นางสาวพิริยาภรณ์ จงตระกูล คณะทำงาน
ตำแหน่งอาจารย์ประจำ ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
๑๑. นางสุจิตรา มานะกุล คณะทำงาน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี

๑๒. นางสาวนิตยา ชีระวัฒนสุข คณะทำงาน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์
๑๓. นางสาวสมพิศ ปินะเก คณะทำงาน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลมหาสารคาม
๑๔. นางวรรณมา เฟ่งเรืองโรจน์ชัย คณะทำงาน
ข้าราชการบำนาญ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
๑๕. นายไพบูลย์ รัตนชัยพรพันธ์ คณะทำงาน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
โรงพยาบาลเลิดสิน
๑๖. นางสาวสุรณี เทียมกริม คณะทำงาน
ตำแหน่งอาจารย์ประจำ ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิกและเทคโนโลยีประยุกต์
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
๑๗. นางจุฑามาศ ศิริปาณี คณะทำงาน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๑๘. นางสาวเรวดี สิริธัญญานนท์ คณะทำงาน
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๑๙. นางดวงดาว วงศ์สมมาตร คณะทำงาน
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๐. นางสาววันทนา ปวีณกิตติพร คณะทำงาน
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๑. นางสาวปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์ คณะทำงาน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๒. นางพิไลลักษณ์ อัครไพบูลย์ โอภาตะ คณะทำงานและเลขานุการ
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๓. นางสาวสิริพรรณ แสงอรุณ คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

๒๔. นางสาวอัจฉริยา อนุกุลพิพัฒน์ คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒๕. นายเอกวัฒน์ อุณหเลขกะ คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

โดยคณะทำงานมีอำนาจหน้าที่ดังนี้

๑. สรุปรายชื่อสถานการณ์ และช่องว่างที่ต้องพัฒนา เสนอต่อคณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์
๒. จัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์ เพื่อใช้สำหรับการบริการระดับหน่วยบริการ ระดับอ้างอิง และระดับชาติ เสนอต่อคณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์
๓. ปฏิบัติงานอื่นๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

คณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการ

๑. นางสาวอรอนงค์ รัชตราเซนชัย ที่ปรึกษา
ข้าราชการบำนาญ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๒. นายวัฒนพงศ์ วุทธา ประธานคณะทำงาน
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๓. นายพุทธภูมิ ลำเจียกเทศ คณะทำงาน
ตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
๔. นายเฉลิมเกียรติ แสงทองพินิจ คณะทำงาน
ตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
๕. นายสุวัฒน์ ดำนิล คณะทำงาน
ตำแหน่งนักอาชีวอนามัย
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
๖. นายรติกร กัณทะพงศ์ คณะทำงาน
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๗. นายอริวัฒน์ ปริมสิริคุณาวุฒิ คณะทำงาน
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

๘. นางพนิดา เกษรประเสริฐ คณะทำงานและเลขานุการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
๙. นางสาวพจพร พินรอด คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

โดยคณะทำงานมีอำนาจหน้าที่ดังนี้

๑. จัดทำร่างมาตรฐานความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อใช้สำหรับการปฏิบัติงานบริการ
ระดับหน่วยบริการ ระดับอ้างอิง และระดับชาติ เสนอต่อคณะกรรมการจัดทำร่าง
มาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์
 ๒. ปฏิบัติงานอื่นๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย
- ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นไป

สั่ง ณ วันที่ ๒๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๙



(นายเกียรติภูมิ วงศ์จิต)
รองปลัดกระทรวงสาธารณสุข
หัวหน้ากลุ่มภารกิจด้านสนับสนุนงานบริการสุขภาพ

สำเนาฉบับ

คำสั่งกระทรวงสาธารณสุข

ที่ ๔๙๘ / ๒๕๖๐

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการและคณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์ และคณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการ (เพิ่มเติม)

ตามคำสั่งกระทรวงสาธารณสุข ที่ ๒๔๕๐/๒๕๕๙ ลงวันที่ ๒๙ ธันวาคม ๒๕๕๙ แต่งตั้งคณะกรรมการและคณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์ และคณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการ เพื่อดำเนินการตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. ๒๕๖๐ – ๒๕๖๔ ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์รับผิดชอบ การดำเนินการตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทยในยุทธศาสตร์ที่ ๑ การเฝ้าระวัง ติดตาม และส่งสัญญาณการดื้อยาต้านจุลชีพทางห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลและทางระบาดวิทยา ในโรงพยาบาล ชุมชน และสิ่งแวดล้อม (One-health) นั้น

ในการนี้ เพื่อให้การดำเนินงานตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย ในประเด็นยุทธศาสตร์ที่ ๑ ดังกล่าวข้างต้นบรรลุวัตถุประสงค์ มีประสิทธิภาพและเกิดประสิทธิผลสูงสุด จึงแต่งตั้งคณะกรรมการและคณะทำงานดังกล่าวเพิ่มเติม ดังต่อไปนี้

คณะกรรมการจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์

๑. ผู้อำนวยการสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรรมการ
๒. ผู้อำนวยการสถาบันรับรองคุณภาพสถานพยาบาล
สถาบันรับรองคุณภาพสถานพยาบาล (องค์การมหาชน) กรรมการ

คณะทำงานจัดทำร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยาทางการแพทย์

๑. นายสุรศักดิ์ หมื่นพล
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะทำงาน
๒. นางสาวอัญชนา ถาวรวัน
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค คณะทำงาน

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นไป นอกเหนือจากนี้ให้เป็นไปตามคำสั่งเดิมทุกประการ

สั่ง ณ วันที่ ๒๖ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๖๐

(นายเกียรติภูมิ วงศ์รจิต)
รองปลัดกระทรวงสาธารณสุข
หัวหน้ากลุ่มภารกิจด้านสนับสนุนงานบริการสุขภาพ

๒๕๖๐
๒๕๖๐
๒๕๖๐

รายนามผู้เข้าร่วมการประชุมประชาพิจารณ์ 30 สิงหาคม 2560

รายนามผู้เข้าร่วมการประชุมประชาพิจารณ์รับฟังความคิดเห็น
ร่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์ และ ร่างมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการฯ
วันพุธที่ 30 สิงหาคม 2560 เวลา 9.30 – 14.00 น.
ณ ห้องประชุม 110 อาคาร 14 ชั้น 1 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ผู้มาประชุม

หน่วยงานภายนอกกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. นายสมนึก เต็มวุฒิโรจน์ | กองควบคุมอาหารและยาสัตว์ กรมปศุสัตว์ |
| 2. นางสาวสุภาพร วงศ์ศรีไชย | สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ |
| 3. นายสรเฉลิม ศักดิ์ศรี | สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ |
| 4. นายวัชรชัย ณรงค์ดี | สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ |
| 5. นางสาวปริศนา บัวสกุล | สำนักโรคเอดส์ วัณโรคและโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค |
| 6. นางสาวมาฆมาส ประกอบผล | สำนักโรคเอดส์ วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค |
| 7. นางสาววัชรจิ จรกา | โรงพยาบาลชลบุรี |
| 8. นายบุญช่วย เอี่ยมโกลาภ | สภาเทคนิคการแพทย์ |
| 9. นายไกรฤกษ์ สุธรรม | สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดราชบุรี |
| 10. นางสาววรัญญา ศรีจันทร์ | โรงพยาบาลสระบุรี |
| 11. นายวิรัช พวงภู | โรงพยาบาลสิรินธร จังหวัดขอนแก่น |
| 12. พ.ต.ท.อำนาจ กล้าเอม | โรงพยาบาลตำรวจ |
| 13. พ.ท.หญิงพิราภรณ์ จันทนาวิวัฒน์ | โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า |
| 14. นางจินตนา เส็งสุข | โรงพยาบาลลาดยาว จังหวัดนครสวรรค์ |
| 15. นายวสุนันต์ ทองดี | โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชปัว จ.น่าน |
| 16. นางธิดา รักษาสุข | สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ |
| 17. นางอรุณลักษณ์ ลูทิตานนท์ | คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| 18. นางสาวจิราภรณ์ เกตุดี | คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต |

19. นางสาวเขมาภรณ์ บุญบำรุง
20. นางวรดา สโมสรสุข
21. นางสาวดารณี นุตาลัย
22. นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์
23. นางสาวพรพิมล ทิวแพ
24. นางฉันทนา แก้วตาปี
25. นายอาสุตร สงวนเกียรติ
26. นางสาวอรรพรรณ ลิ้มศิริวัลย์
27. นางสาวธัญญาพัฒน์ บำรุงพันธ์
28. นางสาวชมพูนุช ยุธยาดี
29. นางสาวณัฐกานต์ อวัยวานนท์
30. นายชาญณรงค์ รอดคำ
31. นางสาวจิตราภรณ์ วงศ์รัตน์
32. นางสาวอรกัญญา คำเปลว
33. นางสาวศุภกมล เจียรสำราญ
34. นางสาวสายใจ สมบัติการ
35. นางสุจิตรา ดุษฎีเชษฐกุล
36. นางสาวสุชีรา แก้วประไพ
37. นายดุยทรศน์ กรณต์วแสง
38. นายบุญมี กาญจโน
39. นางสาวชนิษฐา ประพิน
40. นายนพพร โต๊ะมี

คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช
 ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา
 ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา
 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 บริษัทซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)
 บริษัท N-health
 บริษัทไทยฟูดส์
 สำนักกัวโรโรค
 โรงพยาบาลนนทเวช
 โรงพยาบาลคลองหลวง
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
 บริษัทศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโก
 บริษัทศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโก
 บริษัทศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโก

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

1. นายแพทย์สมชาย แสงกิจพร ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
2. นางสาวอรอนงค์ รัชตราชนชัย ข้าราชการบำนาญ
3. นางสาวนภวรรณ เจนใจ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
4. นางจุฑามาศ ศิริปานี นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
5. นางดวงดาว วงศ์สมมาตร นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
6. นางสาววันทนา ปวีณกิตติพร นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ
7. นางสาวปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ
8. นายรติกร กัณทะพงศ์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ

- | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| 9. นายอริวัฒน์ ปริมสิริคุณาวุฒิ | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ |
| 10. นางพนิดา เกษรประเสริฐ | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ |
| 11. นางสาวพจพร พิณรอด | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ |
| 12. นางพิไลลักษณ์ อัครไพบุลย์ โอภาตะ | นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ |
| 13. นางสาวอัจฉริยา อนุกุลพิพัฒน์ | นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ |
| 14. นายเอกวัฒน์ อุณหเลขกะ | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ |
| 15. นางสาวรัตนา ตาเจริญเมือง | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ |
| 16. นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชัย | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ |
| 17. นางสาวอรุณกร จันทร์แสง | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ |
| 18. นางสาวศรীরรรณา หัตยานานนท์ | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ |
| 19. นายเรืองชัย โลเกตุ | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ |
| 20. นายวรวุฒิ เพ็ชรยัง | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ |



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
88/7 บำราศนราดรุณ ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
โทรศัพท์: 0-2951-0000, 0-2589-9850-8
E-mail: prdmsc@dmisc.mail.go.th





TEXT & JOURNAL PUBLICATION CO., LTD.

บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด

เชี่ยวชาญเฉพาะ

งานพิมพ์หนังสือ-ตำรา

158/3 ซอยยาสูบ 1 ถนนวิภาวดีรังสิต แขวงจอมพล

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทร. 0 2617 8611 - 2

แฟกซ์ 0 2617 8616 อีเมลล์ tj8575@gmail.com