

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์ เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค

กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ
กระทรวงสาธารณสุข
2544

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค	1
การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการของผู้ส่งตัวอย่างตรวจ	3
การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการ เพื่อการเพาะเชื้อ / พิสูจน์จำแนกชนิด / ทดสอบความไวต่อยา	4
แผนภูมิ	
การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการ	5
การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์	6
การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเพื่อการเพาะเชื้อ	7
การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเพื่อการพิสูจน์จำแนกชนิด	8
การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรค	9

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
(Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
กลุ่มงานชั้นสูตกร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
แก้ไขครั้งที่ 0
หน้าที่ 1 ของทั้งหมด 9 หน้า

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค (Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)

1. ความมุ่งหมาย

ใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานเกี่ยวกับการส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์ของผู้ป่วยวัณโรคปอดที่มีปัญหาด้านการรักษาหรือสงสัยผู้ป่วยดื้อยาวัณโรค เพื่อเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรค

2. ขอบเขตการใช้งาน

อธิบายขั้นตอนการดำเนินงานเกี่ยวกับการเก็บและจัดส่งตัวอย่างเสมหะของผู้ป่วยวัณโรคทางไปรษณีย์ด่วน (EMS)

3. เอกสารอ้างอิง

- 1) Tazir, M., and David, H.L. Evaluation of the chloride and bromide salts of cetylpyridinium for the transportation of sputum in tuberculosis bacteriology. *Tubercle* 60 (1979) 31 – 36.
- 2) Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis, 1997. WHO/TB/96.216.
- 3) Canetti G. *et al.* Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and then use of use sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull WHO* 41,21-43, 1969.
- 4) Safe shipment of specimens and infectious materials. In: World Health Organization. Laboratory biosafety manual. Second edition. Geneva 1993. pp 48-54.

4. หลักการ

การรักษาผู้ป่วยวัณโรคปอดเสมหะบวกโดยการตรวจเสมหะด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีการรักษาและติดตามประเมินผลการรักษาได้ดีที่สุด โดยเฉพาะการรักษาวัณโรคแบบมีที่เลี้ยงควบคุมกำกับการรักษาผู้ป่วย (DOTS) การควบคุมกำกับโดยใช้ผลการเพาะเชื้อเป็นสิ่งที่ไม่ควรกระทำ อย่างไรก็ตาม การเพาะเชื้ออาจมีประโยชน์สำหรับ

- 1) การควบคุมคุณภาพการตรวจเสมหะด้วยกล้องจุลทรรศน์
- 2) ผู้ป่วยที่มีปัญหาในการรักษา หรือในรายที่แพทย์สงสัยว่าผู้ป่วยดื้อยารักษาวัณโรค และต้องการรู้ผลความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคของผู้ป่วย
- 3) ผู้ป่วยวัณโรคปอดที่มีผลการรักษาล้มเหลว หรือกลับเป็นซ้ำ หรือเรื้อรัง
- 4) เผื่อระวังการดื้อยาของเชื้อวัณโรคของประเทศ

5. เอกสารที่เกี่ยวข้อง

- 1) แนวทางการดำเนินงานด้านชั้นสูตกรวัณโรคระดับชาติ, กระทรวงสาธารณสุข 2541
- 2) การเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค, นายสมศักดิ์ เจริญทอง 2541.
- 3) การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรค, นางอนิดา เจริญทอง 2540
- 4) บัตรรายงานการเฝ้าระวังการดื้อยาวัณโรค, กองวัณโรค 2544

ผู้ออกเอกสาร: อนิดา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
(Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
กลุ่มงานชั้นสูดกร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
แก้ไขครั้งที่ 0
หน้าที่ 2 ของทั้งหมด 9 หน้า

6. ความปลอดภัย

ต้องดำเนินการปิดผนึกและรัดห่อหลอดทดสอบที่ต้องการส่งทางไปรษณีย์อย่างระมัดระวัง และให้ถูกต้องตามขั้นตอนการส่งวัตถุติดเชื้อทางไปรษณีย์ที่แนะนำไว้ในคู่มืออย่างเคร่งครัด

7. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- หลอดทดสอบพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ
- หลอดทดสอบพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารเคมี Cetylpyridinium chloride
- น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ
- เครื่องเขย่าผสม (vortex mixer)
- กระดาษกาว (sticker label) สำหรับเขียนชื่อผู้ป่วยติดบนหลอดทดสอบ
- Parafilm, กระดาษหนังสือพิมพ์เก่า และถุงพลาสติกขนาดเล็ก
- กล่องพัสดุไปรษณีย์

8. วิธีปฏิบัติ

- การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการของผู้ส่งตัวอย่างตรวจ
- การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเพื่อการเพาะเชื้อ / พิสูจน์จำแนกชนิด / ทดสอบความไวต่อยา

9. การควบคุมคุณภาพ

- ผลการเพาะเชื้อ จะต้องมียึดรายการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆ น้อยกว่าร้อยละ 5 (Contamination rate < 5%)
- ผลการเพาะเชื้อจากตัวอย่างเสมหะบวกที่ตรวจพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะต้องมียึดเชื้อที่เพาะไม่ขึ้นน้อยกว่าร้อยละ 2 (Culture no growth < 2%)

10. การบันทึกข้อมูล และการตอบผล

- บันทึกผลการตรวจลงในสมุดรายงานการทดสอบ ในคอมพิวเตอร์
- ตอบผลในใบตอบผล และ internet

ผู้ออกเอกสาร: ธนิตา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
(Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
กลุ่มงานชั้นสูตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
แก้ไขครั้งที่ 0
หน้าที่ 3 ของทั้งหมด 9 หน้า

การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการของผู้ส่งตัวอย่างตรวจ

1. ดำเนินการส่งเสมหะทางไปรษณีย์ด่วนทันทีภายในวันที่เก็บเสมหะ
2. เก็บด้วยเสมหะในตู้เย็นที่
 - ช่องแช่เย็น (4°C) เมื่อไม่สามารถส่งทางไปรษณีย์ด่วนได้ทันภายในวันที่เก็บเสมหะ
 - ช่องแช่แข็ง (0°C) เมื่อไม่สามารถส่งทางไปรษณีย์ด่วนได้ทันภายในเวลา 2 วัน หลังการเก็บเสมหะ
3. เขียนหมายเลข Lab. Serial No. (LSN) และ/หรือ ชื่อ-นามสกุลผู้ป่วย บนฝาและตัวถ้วยเสมหะก่อนเก็บส่ง/เข้าตู้เย็น
4. ลงบันทึกประวัติส่วนตัว, ประวัติการรักษาวัณโรคของผู้ป่วย และรายละเอียดอื่นๆของผู้ป่วย รวมทั้งหมายเลขตัวอย่างเสมหะที่ต้องการส่งตรวจ (LSN/ครั้งที่) พร้อมเหตุผลการส่งตรวจ (เพาะเชื้อ / ทดสอบความไวต่อยา) ในใบ "บัตรรายงานการเฝ้าระวังการดื้อยาวัณโรค"
5. เขียนหมายเลข LSN/ครั้งที่ และชื่อ - นามสกุล ผู้ป่วย บนแผ่นกระดาษขาว ติดลงบนหลอดทดสอบฝาเกลียว เทเสมหะจากถ้วยเก็บใส่ในหลอดทดสอบฝาเกลียวที่ติดชื่อและหมายเลขเรียบร้อย
6. เตรียมสารละลาย 1% CPC (Cetylpyridinium chloride) โดยการเติมน้ำกลั่นที่นิ่งฝาเชื้อแล้วปริมาตร 30 ml. ลงไปในหลอดที่บรรจุสาร CPC เขย่าให้เข้ากัน ฉุนหลอดสารละลาย 1% CPC ในน้ำร้อนต้มเดือดนานประมาณ 1 นาที เพื่อให้สารละลายเข้ากันดี (สารละลายใส), สารละลาย 1% CPC 1 หลอด ใช้ผสมกับเสมหะได้ 5-6 ตัวอย่าง
7. เติมสารละลาย 1% CPC ประมาณ 1-2 เท่าของเสมหะในหลอดทดสอบที่ใส่ตัวอย่างเสมหะไว้แล้ว
8. ปิดฝาหลอดทดสอบให้สนิทแน่น (ระวังอย่าให้ฝาหลอดป็นเกลียว)
9. ผสมให้เข้ากันดีบนเครื่องเขย่าผสม (Vortex)
10. ปิดฉนวนที่ฝาเกลียวและหลอดทดสอบด้วยแผ่น parafilm ให้สนิทเรียบร้อย
11. ใช้กระดาษหนังสือพิมพ์ห่อหลอดทดสอบที่ปิดฉนวนด้วยแผ่น parafilm แล้วอีกชั้น ให้นำประมาณ 1-2 ซม. ให้สนิทเรียบร้อย (แยกห่อแต่ละหลอด)
12. ใส่หลอดทดสอบที่ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วลงในถุงพลาสติกขนาดเล็ก (แยกห่อแต่ละหลอด) ปิดรัดปากถุงให้แน่น (seal) หรือรัดด้วยหนังยาง หรือปิดด้วยเทปขาว
13. บรรจุหลอดทดสอบที่ห่อถุงพลาสติกเรียบร้อยแล้วลงในกล่องพัสดุพร้อม "บัตรรายงานการเฝ้าระวังการดื้อยาวัณโรค"
14. ส่งกล่องพัสดุทางไปรษณีย์ด่วน (EMS)

ข้อควรระวัง

- จะต้องส่งตัวอย่างเสมหะที่ผสมสารละลาย CPC แล้วทันทีภายในวันเดียวกันนั้นทางไปรษณีย์ด่วน (EMS) **หรือ**
- ถ้าจัดส่งไม่ทันในวันเดียวกับที่ผสม เสมหะ/สารละลาย CPC ให้เก็บกล่องพัสดุที่บรรจุของเรียบร้อยและพร้อมจัดส่งที่อุณหภูมิห้อง และจะต้องดำเนินการจัดส่งกล่องพัสดุทางไปรษณีย์ด่วน (EMS) ทันทีในวันรุ่งขึ้น

ผู้ออกเอกสาร: ธนิตา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
(Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
กลุ่มงานชั้นสูตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
แก้ไขครั้งที่ 0
หน้าที่ 4 ของทั้งหมด 9 หน้า

การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการ เพื่อการเพาะเชื้อ / พิสูจน์จำแนกชนิด / ทดสอบความไวต่อยา

การดำเนินการเพาะเชื้อ

1. ตัวอย่างเสมหะที่ผสมสาร 1% CPC จะถูกเติมด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อแล้วจนถึงขีดบอกระดับ 50 ml
2. ผสมให้เข้ากันดีบนเครื่องเขย่าผสม (Vortex)
3. นำหลอดทดสอบที่เติมน้ำกลั่นแล้วไปปั่นให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 3,000xg นาน 15 นาที
4. ปั่นล้างตะกอนซ้ำด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฝาเชื้อแล้วอีก 1 ครั้ง
5. นำตะกอนที่ได้ไปหยดลงบนอาหาร Lowenstein-Jensen หรือ 2% ogawa จำนวน 2 ขวด ๆ ละ 100 µl
6. นำขวดเพาะเชื้อไปอบเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C นาน 8 สัปดาห์ อ่านผลทุกสัปดาห์ บันทึกผลการอ่านทุกครั้ง
7. ขวดเพาะเชื้อที่มีการเจริญของเชื้อให้เห็น จะถูกนำไปพิสูจน์จำแนกชนิดและทดสอบความไวต่อยา ต่อไป
8. ผลการเพาะเชื้อ จะทราบผลภายหลังจากการดำเนินการทดสอบเพาะเชื้อแล้วประมาณ 8-10 สัปดาห์

การพิสูจน์จำแนกชนิด

1. ดำเนินการทดสอบทาง Biochemical test เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อวัณโรค อย่างน้อย 4 วิธี คือ niacin test, nitrate reduction test, catalase 68°C และการไม่เจริญบนอาหารผสมสาร PNB (p-nitrobenzoic acid) ใช้เวลาในการทดสอบประมาณ 1 สัปดาห์
2. เชื้อมัยโคแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ จะดำเนินการทดสอบทาง Biochemical test เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อต่อไป

การทดสอบความไวต่อยา

1. ดำเนินการทดสอบ โดยใช้ Proportional method ทดสอบความไวต่อยามาตรฐาน 4 ชนิด คือ Streptomycin, Isoniazid, Rifampicin และ Ethambutol
2. ผลการทดสอบความไวต่อยา จะทราบผลภายหลังจากผลการเพาะเชื้อ ประมาณ 4 - 5 สัปดาห์

ผู้ออกเอกสาร: ธนิตา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
(Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
กลุ่มงานชันสูตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

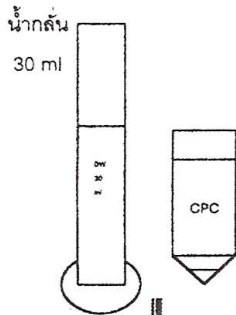
รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
แก้ไขครั้งที่ 0
หน้าที่ 5 ของทั้งหมด 9 หน้า

การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการ

เสมหะบวก (SPUTUM SMEAR +)

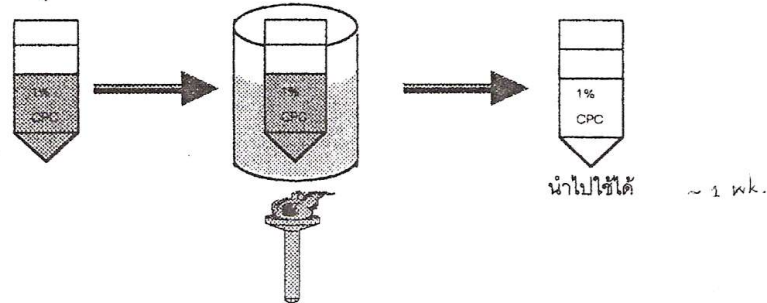


- ดำเนินการจัดส่งทันทีตามคำแนะนำ
- จากที่เก็บที่ 4°C (ในตู้เย็น)
 - วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 ชั่วโมง
 - ดำเนินการจัดส่งตามคำแนะนำ
- จากที่เก็บที่ 0°C
 - วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 ชั่วโมง
 - ดำเนินการจัดส่งตามคำแนะนำ



เตรียมสารละลาย 1% CPC (Cetylpyridinium chloride) *คงที่ 1 เดือน*

- หลอดทดสอบพลาสติกที่บรรจุสารเคมี CPC
- เติมน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 30 ml.
 - เขย่าให้เข้ากัน
 - อุ่นหลอดสารละลาย 1% CPC ในน้ำร้อนต้มเดือดนานประมาณ 1 นาที เพื่อให้สารละลายเข้ากันดี (สารละลายใส)
- นำไปใช้ผสมกับตัวอย่างเสมหะได้



ผู้ออกเอกสาร: ธนิดา เจริญทอง

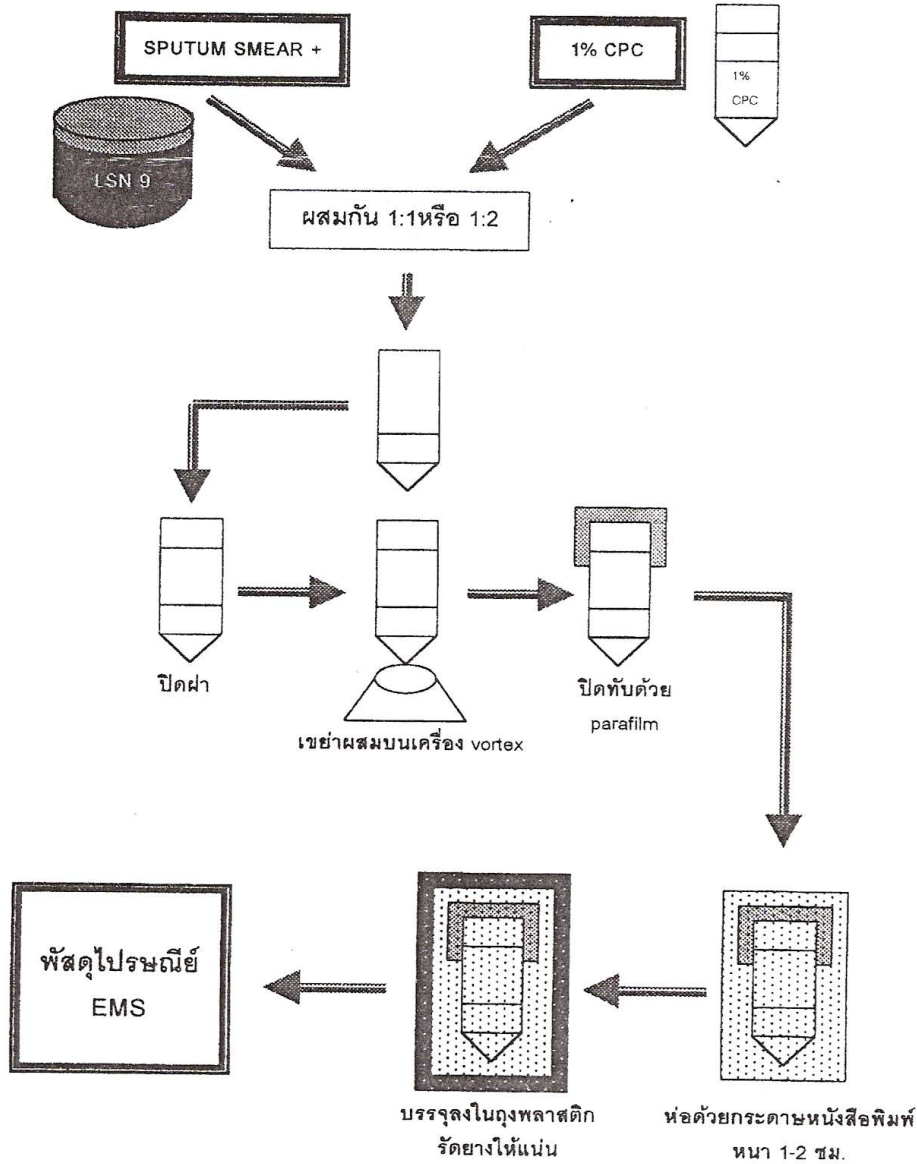
ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
 (Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
 วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
 กลุ่มงานชันสูตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
 แก้ไขครั้งที่ 0
 หน้าที่ 6 ของทั้งหมด 9 หน้า

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์



ผู้ออกเอกสาร: ธนิตา เจริญทอง

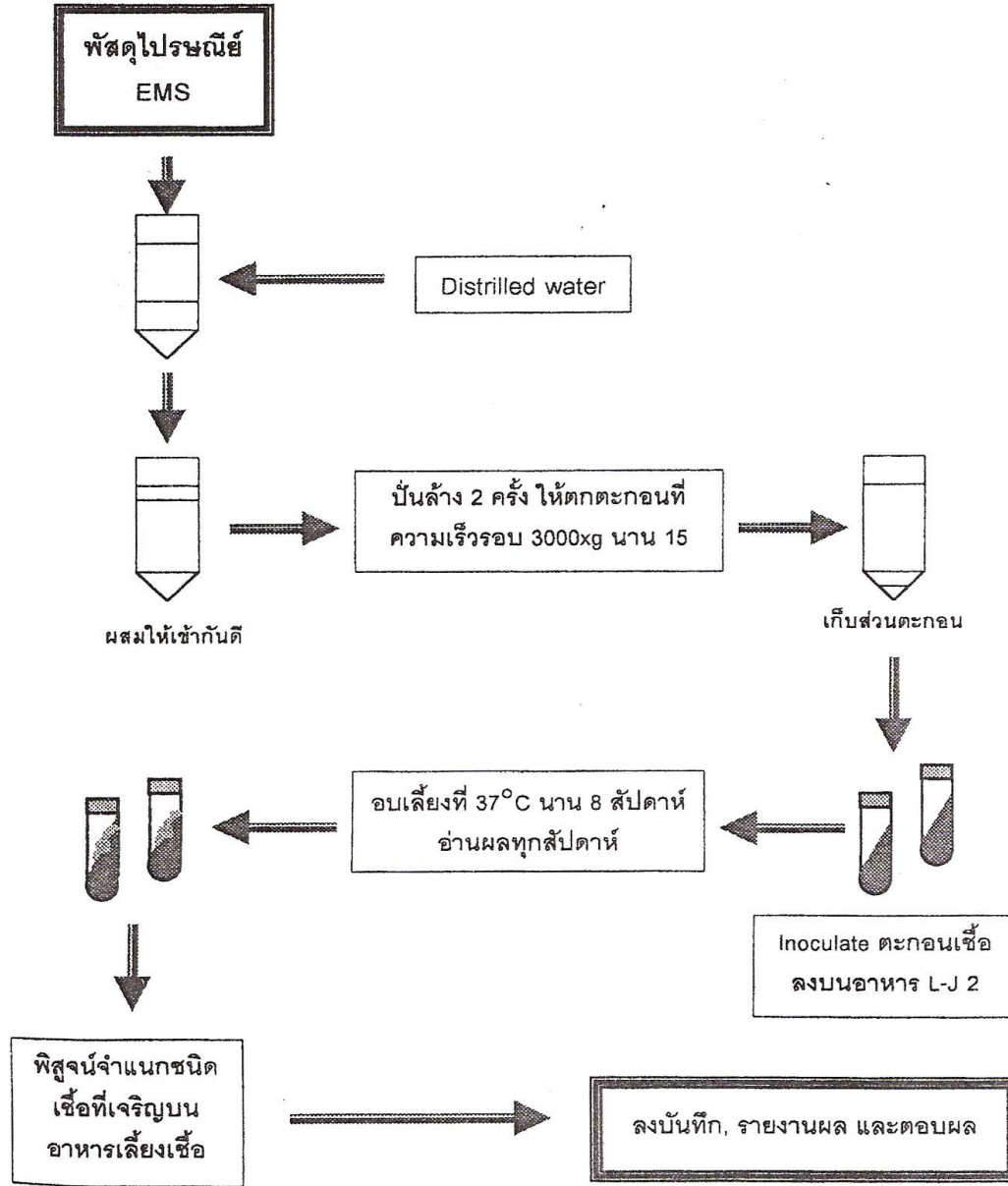
ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
 (Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
 วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
 กลุ่มงานชั้นสูงตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
 แก้ไขครั้งที่ 0
 หน้าที่ 7 ของทั้งหมด 9 หน้า

การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเพื่อการเพาะเชื้อ



ผู้ออกเอกสาร: ธนิดา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

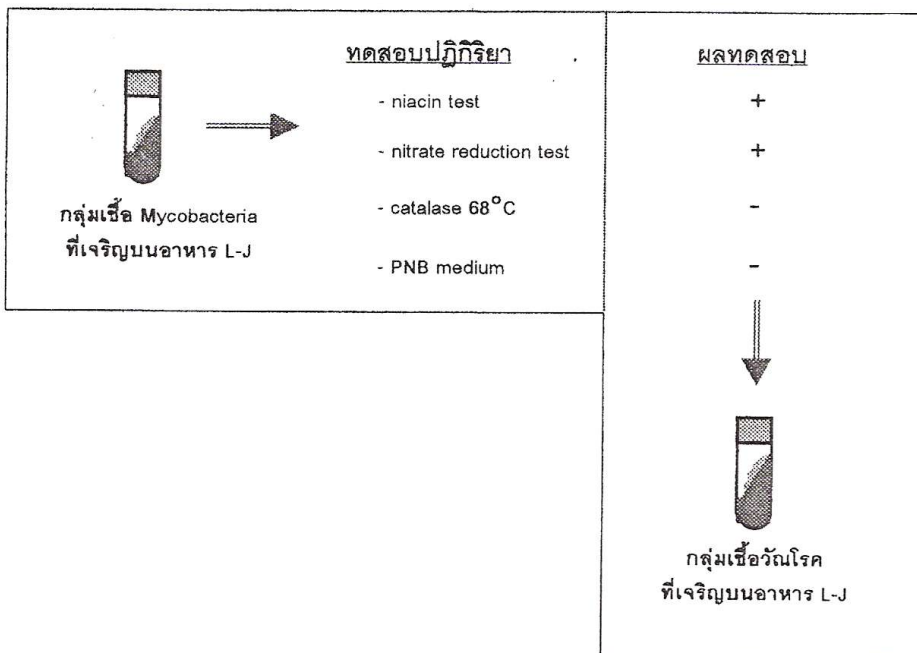
ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
 (Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
 วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
 กลุ่มงานชันสูตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
 แก้ไขครั้งที่ 0
 หน้าที่ 8 ของทั้งหมด 9 หน้า

การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเพื่อพิสูจน์จำแนกชนิด

ดำเนินการทดสอบทาง Biochemical test เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อวัณโรค ดังนี้



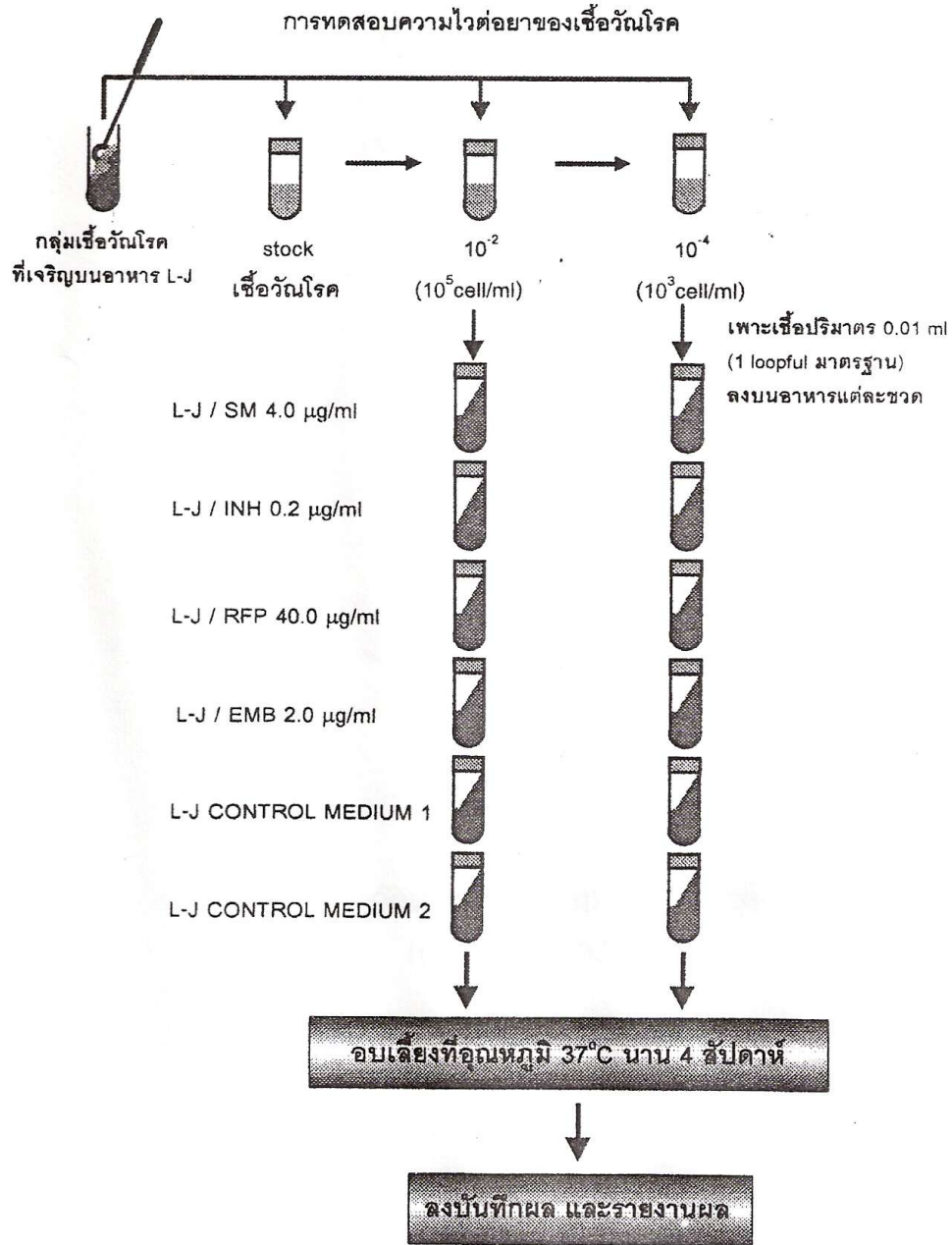
ผู้ออกเอกสาร: ธนิตา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ : สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี

การส่งตัวอย่างเสมหะทางไปรษณีย์เพื่อเพาะเชื้อวัณโรค
 (Sputum Transportation for *Mycobacterium tuberculosis* Culture)
 วันที่ออกเอกสาร 1 กุมภาพันธ์ 2544
 กลุ่มงานชันสูตร กองวัณโรค กรมควบคุมโรคติดต่อ

รหัสเลขที่ SOP 0406 6 06 001
 แก้ไขครั้งที่ 0
 หน้าที่ 9 ของทั้งหมด 9 หน้า



ผู้ออกเอกสาร: ธนิดา เจริญทอง

ผู้ตรวจสอบ: สมศักดิ์ เจริญทอง

ผู้รับรอง: ภาสกร อัครเสวี