ฉบับสมบูรณ์
(ตามมติ ครั้งที่ 2 / 2565 เมื่อวันที่ 12 กันยายน 2565)
ลงชื่อประธาน/กรรมการฯ
(ศาสตราจารย์ ดร.สุรา กิตติสุภ)

ต้นฉบับ

คู่มือการปฏิบัติงาน
เรื่อง วิธีการตรวจหาแบคทีเรียในเลือดโดยเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX

โดยวิธีปกติ

ของ
นางสาวชนิกา แม้นจันทรารัตน์
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ ระดับปฏิบัติการ
(ตำแหน่งเลขที่ พวช.12298)
ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ ระดับชำนาญการ
(ตำแหน่งเลขที่ พวช.12298)
ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

คู่มือการปฏิบัติงาน
เรื่อง วิธีการตรวจหาแบคทีเรียในเลือดโดยเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX

โดยวิธีปกติ

ของ
นางสาวชนิกา แม้นจันทรารัตน์
ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ ระดับปฏิบัติการ
(ตำแหน่งเลขที่ พวช.12298)
ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ ระดับชำนาญการ
(ตำแหน่งเลขที่ พวช.12298)
ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

คำนำ

คู่มือการปฏิบัติงานเล่มนี้จัดทำขึ้นเพื่อให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ได้แก่ นักเทคนิคการแพทย์ เจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นต้น สำหรับใช้เป็นแนวทางปฏิบัติในการตรวจหาแบคทีเรียในเลือดโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX อย่างถูกต้อง เหมาะสม มีมาตรฐานและเป็นไปในแนวทางเดียวกัน เนื่องจากการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในเลือดนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งและเป็นค่าวิกฤติที่จะต้องรีบโทรแจ้งให้หน่วยงานที่ส่งตรวจรับทราบและดำเนินการแจ้งแพทย์ผู้รักษา ให้ดำเนินการรักษาหรือเลือกใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อที่จะให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาอย่างทันท่วงที มีความปลอดภัยและลดอัตราการเสียชีวิตอันเนื่องมาจากการติดเชื้อในกระแสเลือดได้ โดยเนื้อหาในคู่มือจะได้รับการทบทวนให้เป็นปัจจุบันอยู่เสมออย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง เพื่อเป็นการดำรงไว้ซึ่งการรักษามาตรฐานทางห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO 15189:2012 ISO 15190:2020 และมาตรฐานของราชวิทยาลัยพยาธิแพทย์แห่งประเทศไทย

คู่มือนี้จัดทำขึ้นครั้งแรก เมื่อวันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2561 และมีการปรับปรุงแก้ไข 2 ครั้ง จนถึงปัจจุบัน

แก้ไขครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ 11 มกราคม พ.ศ. 2562

แก้ไขครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 3 เมษายน พ.ศ. 2563

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าคู่มือปฏิบัติงานเล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ใช้งาน ถ้าหากมีข้อเสนอแนะหรือข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขอน้อมรับไว้ด้วยความขอบพระคุณยิ่ง

นางสาวชนิกา แม้นจันทรารัตน์
นักเทคนิคการแพทย์

สารบัญ

คำนำ
สารบัญ
สารบัญรูปภาพ
สารบัญตาราง
สารบัญแผนภูมิ

หน้า

บทที่ 1 บทนำ **1**
1.1 ความสำคัญและที่มา 1
1.2 วัตถุประสงค์ 3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
1.4 ขอบเขตของการปฏิบัติงาน 3
1.5 คำจำกัดความเบื้องต้น 3
บทที่ 2 ภาระหน้าที่ และความรับผิดชอบ **5**
2.1 โครงสร้างคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล 5
2.2 โครงสร้างการบริหารจัดการฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด 7
2.3 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของงานจุลชีววิทยา 8
2.4 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งและลักษณะงานที่ปฏิบัติ 9
บทที่ 3 เทคนิคการตรวจแบคทีเรียในเลือดโดยใช้เครื่อง Bactec ™ FX **11**
3.1 หลักการตรวจเชื้อในเลือดโดยเครื่อง Bactec ™ FX 11
3.2 กระบวนการตรวจเชื้อในเลือดด้วยเครื่อง Bactec ™ FX 11
3.3 ชนิดขวด Hemoculture สำหรับเพาะเชื้อจากเลือดโดยเครื่อง Bactec ™ FX 15
3.4 การเก็บสิ่งส่งตรวจ 17
3.5 ระยะเวลาในการนำสิ่งส่งตรวจส่งห้องปฏิบัติการ 18
3.6 วิธีการตรวจเชื้อโดยเครื่อง Bactec ™ FX 18
3.7 กรณีการตรวจและสงสัยว่าเป็น False positive culture 30
3.8 การบันทึกผลและรายงานข้อมูลในระบบ 30
3.9 การทิ้งขวด negative หรือ positive 38
3.10 การควบคุมคุณภาพ 38
บทที่ 4 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข **42**
บทที่ 5 ข้อเสนอแนะ **50**
บรรณานุกรม **52**
ภาคผนวก **54**

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX 12
รูปที่ 2 หน้าจอแสดงสถานะและสั่งงานเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX 13
รูปที่ 3 ขวด Bactec PLUS Aerobic/ F (สำหรับผู้ใหญ่) 15
รูปที่ 4 ขวด Bactec PEDS PLUS/ F (สำหรับเด็ก) 16
รูปที่ 5 ขวด Bactec PLUS Anaerobic/ F 16
รูปที่ 6 ขวด Bactec MYCO/ F LYTIC 17
รูปที่ 7 ใบ MAINTENANCE LOG 20
รูปที่ 8 บันทึกความเสี่ยง/สิ่งไม่สอดคล้อง (หมายเลขเอกสาร F-QP-LAB-026/01) 22
รูปที่ 9 แบบฟอร์มบันทึกผลการตรวจเพาะเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-009/01) 24
รูปที่ 10 โปรแกรม MLAB 25
รูปที่ 11 การนำขวด Hemoculture เข้าเครื่อง 26
รูปที่ 12 การนำขวด negative ออกจากเครื่อง 26
รูปที่ 13 การนำขวด positive ออกจากเครื่อง 27
รูปที่ 14 บันทึกการรายงานค่าวิกฤติ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-010/02) 28
รูปที่ 15 แบบฟอร์ม บันทึกผลการวินิจฉัยชนิดของเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-017/02) 31
รูปที่ 16 การบันทึกผลการย้อมสีแกรมที่ได้ลงบนใบส่งตรวจ 32
รูปที่ 17 การรายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary report) ในโปรแกรม MLAB 33
รูปที่ 18 ใบรายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary report) 33
รูปที่ 19 การรายงานชนิดของเชื้อที่พบและความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ ในโปรแกรม MLAB แล้วส่งข้อมูลต่อไปยังระบบ e-Phis 34
รูปที่ 20 ใบรายงานผลชนิดของเชื้อที่พบและความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ ใน e-Phis 35
รูปที่ 21 การรายงาน No growth after 3 days ในโปรแกรม MLAB แล้วส่งข้อมูลต่อไปยังระบบ e-Phis 37
รูปที่ 22 ใบรายงานผล No growth after 3 days ใน e-Phis 37
รูปที่ 23 แบบฟอร์มรายงานผลการทำ Blind test ของขวด Hemoculture (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-007/01) 40

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตัวอย่างแบคทีเรียที่พบได้ในการเพาะเชื้อในเลือด 36

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข 42

สารบัญแผนภูมิ

	หน้า
แผนภูมิที่ 1 โครงสร้างคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล	6
แผนภูมิที่ 2 โครงสร้างการบริหารจัดการฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด	7
แผนภูมิที่ 3 แผนภูมิแสดงขั้นตอนในกระบวนการตรวจเชื้อในเลือดด้วยเครื่อง Bactec ™ FX	14

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด (Sepsis) คือ การมีเชื้อก่อโรคในกระแสเลือด ซึ่งเชื้อดังกล่าวได้แก่ จุลชีพต่าง ๆ เช่น ไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา เป็นต้น การติดเชื้อที่อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดได้ แล้วทำให้ร่างกายมีปฏิกิริยาตอบสนองต่อการติดเชื้อหรือต่อพิษของเชื้อ ทำให้เกิดการอักเสบขึ้นในอวัยวะภายในของร่างกาย ถ้ารุนแรงมากขึ้น อาจพัฒนาไปสู่ภาวะช็อกและทำให้การทำงานของอวัยวะภายในร่างกายต่าง ๆ ล้มเหลว เป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ (1, 2)

โดยปกติเลือดที่ไหลเวียนอยู่ในร่างกายจะปราศจากเชื้อ หากมีการติดเชื้อในเลือดจึงถือเป็นภาวะวิกฤติ การติดเชื้อที่รุนแรงอาจนำไปสู่ภาวะ septicemia และ septic shock ซึ่งเป็นภาวะที่ทำให้ผู้ป่วยมีอัตราการตายสูง สาเหตุของการติดเชื้ออาจมาจากการที่เชื้อเข้าสู่เลือดโดยตรงหรือมาจากตำแหน่งต่าง ๆ ของร่างกายที่มีการติดเชื้อชนิดนั้น ๆ อยู่แล้ว เช่น การติดเชื้อจากแผลผ่าตัด ทางผิวหนัง ระบบทางเดินหายใจ ระบบปัสสาวะ ระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น การใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกายผู้ป่วย เช่น การสวนทวาร การสวนปัสสาวะ และการใช้สายสวนหลอดเลือด เป็นต้น ผู้ที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคตับแข็ง โรคเบาหวาน โดยเฉพาะช่วงที่ร่างกายอ่อนแอและภูมิคุ้มกันต่ำ เชื้อโรคก็จะเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย เด็กเล็กและผู้สูงอายุจะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในเลือดได้มากกว่าคนหนุ่มสาว แม้ว่าจะไม่มีโรคประจำตัว เนื่องจากมีภูมิคุ้มกันต่ำ (1, 3-4)

การรักษาอาการติดเชื้อในกระแสเลือด แพทย์จะวินิจฉัยจากลักษณะและอาการของผู้ป่วยเป็นลำดับแรก จากนั้นต้องใช้การเพาะเชื้อจากเลือด (Blood culture) ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 - 5 วัน แต่เนื่องด้วยการติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นภาวะฉุกเฉิน แพทย์จึงต้องอาศัยการวินิจฉัยเบื้องต้นและเลือกให้ยาปฏิชีวนะหรือยาต้านจุลชีพที่ครอบคลุมเชื้อที่สงสัยไว้ก่อน ซึ่งหากผู้ป่วยได้รับยาที่ตรงกับเชื้อในช่วง 1 - 2 ชั่วโมงแรก ผู้ป่วยจะมีโอกาสรอดชีวิตสูงมากขึ้น ในทางตรงกันข้าม หากได้รับยาที่ไม่ตรงกับเชื้อหรือได้รับยาช้าเกินไป ก็จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการเสียชีวิตมากขึ้นเช่นกัน (1) ผู้ป่วยต้องนอนพักรักษาในโรงพยาบาลเพื่อติดตามอาการอย่างใกล้ชิด ผู้ป่วยที่มีอาการหนัก เช่น มีภาวะช็อก หรือมีไข้สูง ต้องได้รับการรักษาในแผนกผู้ป่วยวิกฤติหรือไอซียู เนื่องจากอาจมีอันตรายถึงชีวิตได้

การเพาะเชื้อจากเลือดจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง และเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการตรวจหาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด มี 2 วิธี ดังนี้

1) การเพาะเชื้อจากเลือดด้วยวิธีทั่วไป (conventional method) เป็นวิธีการตรวจแบบเดิม ต้องสังเกตดูการเจริญของเชื้อในขวด hemoculture ทุกวันขณะที่บ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37°C นานถึง 7 วัน โดยขวดที่มีการเจริญของเชื้อจะมีลักษณะ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อมีความขุ่นบริเวณผิวหน้าหรือขุ่นทั้งขวด มีการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดง มีเม็ดสีขาวเล็ก ๆ อยู่บนผิวหน้า หรืออยู่เหนือชั้นเม็ดเลือด มีฟองก๊าซหรือก้อน clot หรือมีก้อนคล้ายสำลี ให้นำขวดที่มีการเจริญของเชื้อและขวดที่บ่มครบกำหนดมา subculture (3, 5)

2) การเพาะเชื้อจากเลือดด้วยระบบกึ่งอัตโนมัติ (Continuously monitored automated blood culture system) เมื่อนำขวดใส่เครื่องเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37°C เครื่องจะตรวจอัตโนมัติอย่างต่อเนื่อง ตามหลักการที่แตกต่างกันไปของแต่ละบริษัท (6) จึงไม่มีความจำเป็นที่ต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มเพาะเชื้อเกิน 5 วัน เมื่อพบการเจริญของเชื้อระบบจะมีการแจ้งเตือน (Alarm) ผ่านหน้าจอ monitor ให้นำขวดที่ให้ผลบวกออกมา subculture ย้อมแกรม พร้อมทั้งโทรแจ้งผลเบื้องต้นได้รวดเร็วยิ่งขึ้น (3, 5, 7)

การใช้เครื่องอัตโนมัติสำหรับการเพาะเชื้อในเลือดจึงช่วยร่นระยะเวลาในการตรวจหาเชื้อและทำให้การเพาะเชื้อจากเลือดมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เมื่อผลเพาะเชื้อที่ได้เป็นบวก (Positive blood culture) หมายถึง การพบแบคทีเรียหรือเชื้อราในเลือด เป็นค่าวิกฤติที่จะต้องรีบโทรแจ้งผลเบื้องต้นให้ทราบก่อนที่จะพิสูจน์เพื่อแยกชนิดของเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นลำดับต่อไป จากนั้นรายงานผลการทดสอบกลับไปให้แพทย์พิจารณาเลือกใช้ยาที่เหมาะสมกับเชื้อเหล่านั้น เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่มีประสิทธิภาพ ถ้าหากผลเพาะเชื้อที่ได้เป็นลบ (Negative blood culture) หมายถึง ไม่พบเชื้อจากการเพาะเชื้อในเลือด ซึ่งอาจจะเป็นเพราะผู้ป่วยไม่ได้ติดเชื้อในกระแสเลือดจริง ๆ หรืออาจจะเกิดจากความไม่เหมาะสมจากการเจาะเลือดสำหรับส่งตรวจ หรือเป็นเชื้อที่เจริญเติบโตช้าเช่น เชื้อราและเชื้อที่สงสัยในกลุ่ม HACEK เป็นต้น หรือต้องใช้วิธีการเพาะเชื้อแบบพิเศษหรือต้องเพาะเลี้ยงในเซลล์เท่านั้น เช่น *Brucella, Bartonella, Campylobacter, Legionella, Mycoplasma* หรือการติดเชื้อไวรัส เป็นต้น หรืออาจจะเกิดจากปัจจัยอื่น เช่น ผู้ป่วยได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อน เป็นต้น (3-5, 8)

ปัญหาการเพาะเชื้อจากเลือดที่สำคัญประการหนึ่งคือ เพาะได้เชื้อทั้ง ๆ ที่ไม่มีเชื้อนั้นในเลือด เรียกว่าการปนเปื้อนเชื้อ ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ทุกขั้นตอน ไม่ว่าจะเป็นขั้นตอนการเจาะเลือด การถ่ายเลือดเข้าสู่ขวดเพาะเลี้ยงเชื้อ การเตรียมขวดเพาะเชื้อ การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ การ subculture เพื่อเพาะแยกชนิดของเชื้อในห้องปฏิบัติการ การตรวจพบเชื้อที่ปนเปื้อนจะนำไปสู่การวินิจฉัยโรคที่ผิดทำให้ได้รับการรักษาที่ไม่เหมาะสม มีการใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็น และเป็นอันตรายต่อผู้ป่วย (4) การพิจารณาว่าเป็นเชื้อก่อโรคหรือปนเปื้อน จะพิจารณาร่วมกับอาการทางคลินิกของผู้ป่วย ระยะเวลาการเจริญเติบโตของเชื้อที่ให้ผลบวกในแต่ละขวด จำนวนขวดที่ให้ผลบวก และแบบแผนความไวของสารต้านจุลชีพของแต่ละขวด (3, 5)

เนื่องจากการเพาะเชื้อจากเลือดมีความสำคัญมาก จึงต้องมีการจัดทำแนวทางปฏิบัติในการตรวจหาแบคทีเรียในเลือดโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX เพื่อให้ผู้ใช้งาน ได้แก่ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยามีความเข้าใจในหลักการ สามารถเพาะเชื้อ ตรวจหาเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพได้อย่างถูกต้อง มีมาตรฐานและเป็นไปในแนวทางเดียวกัน สามารถอธิบายหรือให้คำแนะนำแก่แพทย์ พยาบาลหรือผู้ที่เกี่ยวข้องในการรักษา เจาะเก็บเลือด เลือกชนิดขวดสำหรับเพาะเชื้อได้อย่างถูกต้อง สามารถใช้งาน ดูแลและบำรุงรักษาเครื่องมือได้อย่างถูกต้องเหมาะสม รวมทั้งทราบถึงปัญหาหรืออุปสรรคต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นได้ เพื่อนำมาวิเคราะห์และแก้ไขหาสาเหตุของปัญหาเหล่านั้นได้

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เข้าใจหลักการและกระบวนการตรวจหาเชื้อในเลือดโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX

1.2.2 สามารถอธิบายวิธีการเก็บ การเลือกชนิดขวด Hemoculture และนำส่งสิ่งส่งตรวจเพื่อเพาะเชื้อโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ให้แก่พยาบาลและผู้ที่เกี่ยวข้องได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

1.2.3 สามารถปฏิบัติตามวิธีการตรวจเชื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX บันทึกผลและรายงานข้อมูลในระบบได้

1.2.4 สามารถปฏิบัติตามวิธีการควบคุมคุณภาพของการตรวจหาเชื้อในเลือดโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ได้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถใช้งานเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ในการตรวจหาเชื้อในเลือดได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ

1.3.2 ลดความผิดพลาดในการเก็บ การเลือกชนิดขวด Hemoculture และการนำส่งสิ่งส่งตรวจที่ไม่ถูกต้องได้

1.3.3 รายงานผลการตรวจเชื้อ การย้อมแกรม ชนิดของเชื้อและผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพในระบบได้อย่างถูกต้อง

1.3.4 ดำรงรักษามาตรฐานคุณภาพการตรวจหาเชื้อในเลือดโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ได้อย่างยั่งยืน

1.4 ขอบเขตของการปฏิบัติงาน

คู่มือปฏิบัติงานสำหรับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาเล่มนี้ ครอบคลุมหลักการกระบวนการตรวจหาเชื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ชนิดขวด Hemoculture การเตรียมผู้ป่วยและการเก็บสิ่งส่งตรวจ ระยะเวลาในการนำสิ่งส่งตรวจส่งห้องปฏิบัติการ วิธีการตรวจเชื้อ การบันทึกผลและรายงานผลในระบบ การทิ้งขวดเพาะเชื้อตามระบบ การควบคุมคุณภาพทั้งภายในและภายนอก รวมทั้งการดูแลและบำรุงรักษาเครื่อง ซึ่งจะได้รับการทบทวนให้เป็นปัจจุบันอยู่เสมอ เพื่อดำรงไว้ซึ่งการรักษามาตรฐานทางห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO 15189:2012 ISO 15190:2020 และมาตรฐานของราชวิทยาลัยพยาธิแพทย์แห่งประเทศไทย

1.5 คำจำกัดความเบื้องต้น

1.5.1 จุลชีพ หรือ เชื้อ (ในคู่มือนี้) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียทั้งชนิด aerobes และ anaerobes รา ยีสต์ และเชื้อวัณโรคเท่านั้น

1.5.2 ภาวะช็อกเหตุพิษติดเชื้อ (Septic shock) หมายถึง ภาวะอาการที่มักเกิดหลังการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งส่งผลให้ร่างกายมีระดับความดันโลหิตลดต่ำผิดปกติจนเลือดและออกซิเจนไปเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ได้ไม่เพียงพอ ทำให้อวัยวะทำงานลดลงหรือทำงานผิดปกติ และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้

1.5.3 ยาปฏิชีวนะ หรือ ยาต้านจุลชีพ (Antibiotic) หมายถึง ยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ใช้รักษาเฉพาะโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย

1.5.4 เชื้อกลุ่ม HACEK คือ เชื้อที่มักก่อให้เกิดการติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจ (Infective Endocarditis) ได้ แก่ *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* และ *Kingella kingae*

1.5.5 การ Subculture หมายถึง วิธีการที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป โดยเมื่อเชื้อเจริญสูงสุดและเข้าสู่ระยะที่จะตายลง ต้องทำการถ่ายเชื้อไปสู่จานอาหารเพาะเชื้อหรือหลอดอาหารใหม่

1.5.6 การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control; IQC) หมายถึง กระบวนการที่ใช้ในการตรวจสอบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างของห้องปฏิบัติการ เพื่อควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ เฝ้าระวังการทดสอบ การถ่ายโอนข้อมูล การสุ่มตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่าง ตลอดจนการรายงานผลการวิเคราะห์ และรักษาไว้ซึ่งคุณภาพผลการวิเคราะห์และปรับปรุงการปฏิบัติงาน

1.5.7 การประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (External Quality Assessment; EQA) หมายถึง วิธีหนึ่งในการประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ โดยมีวัตถุประสงค์ให้มีหน่วยงานทำหน้าที่ตรวจสอบคุณภาพของผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ

1.5.8 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) หมายถึง องค์กรที่ส่งเสริมการพัฒนาและการใช้มาตรฐานและแนวทางที่เป็นเอกฉันท์ของห้องปฏิบัติการ

1.5.9 Potential pathogens หมายถึง เชื้อที่มีศักยภาพในการทำให้เกิดโรคได้

1.5.10 Common contaminants หมายถึง เชื้อที่เป็นเชื้อปนเปื้อนโดยทั่วไป

1.5.11 โปรแกรม MLAB หมายถึง ระบบสารสนเทศงานทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory Information System; LIS) ที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อการใช้งานทางจุลชีววิทยา ซึ่งจะต้องมีการบันทึกข้อมูล จัดเก็บ รายงานผล พิมพ์สรุปรายงานผล ตลอดจนวิเคราะห์ข้อมูลที่รวบรวมได้ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ และเป็นแนวทางในการพัฒนางานทางจุลชีววิทยา และเป็นประโยชน์ต่อการติดตามการระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล

1.5.12 ระบบ e-Phis หมายถึง ระบบสารสนเทศของโรงพยาบาล (Hospital Information System; HIS) เป็นการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ (IT) เข้ามาเป็นเครื่องมือในการจัดการฐานข้อมูลขนาดใหญ่ เพื่อให้แพทย์ พยาบาล หรือบุคลากรที่เกี่ยวข้อง สามารถเข้าถึงข้อมูลสุขภาพของผู้ป่วยจากฐานข้อมูลของโรงพยาบาล

1.5.13 Backup data หมายถึง การคัดลอกแฟ้มข้อมูลเพื่อเก็บสำรองไว้ใช้ในกรณีที่จำเป็น เช่น แฟ้มต้นฉบับเกิดเสียหายหรือสูญหายไป เป็นต้น

1.5.14 Index data หมายถึง การทำดัชนีของข้อมูล ฐานข้อมูลที่ทำ index ไว้แล้วจะถูกเรียงข้อมูลตามดัชนี เวลาค้นหาข้อมูลจากฐานข้อมูลมีกระบวนการค้นหาตามดัชนี ทำให้มีประสิทธิภาพในการเข้าถึงข้อมูลในฐานข้อมูลได้รวดเร็วขึ้น

1.5.15 False positive หมายถึง ระบบเครื่องอัตโนมัติมีการแจ้งเตือนว่าพบการเจริญของเชื้อแต่ไม่พบเชื้อจากการเพาะเชื้อ

1.5.16 False negative หมายถึง ระบบเครื่องอัตโนมัติไม่มีการแจ้งเตือนว่าพบการเจริญของเชื้อแต่พบเชื้อจากการเพาะเชื้อ

บทที่ 2
ภาระหน้าที่ และความรับผิดชอบ

2.1 โครงสร้างคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล

คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช เป็นสถาบันการศึกษาระดับอุดมศึกษาที่เป็นหน่วยงานของรัฐในกำกับของกรุงเทพมหานคร มีฐานะเป็นนิติบุคคล และเป็นสถาบันอุดมศึกษาท้องถิ่นแห่งแรกของประเทศไทย ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 20 มิถุนายน พ.ศ. 2556

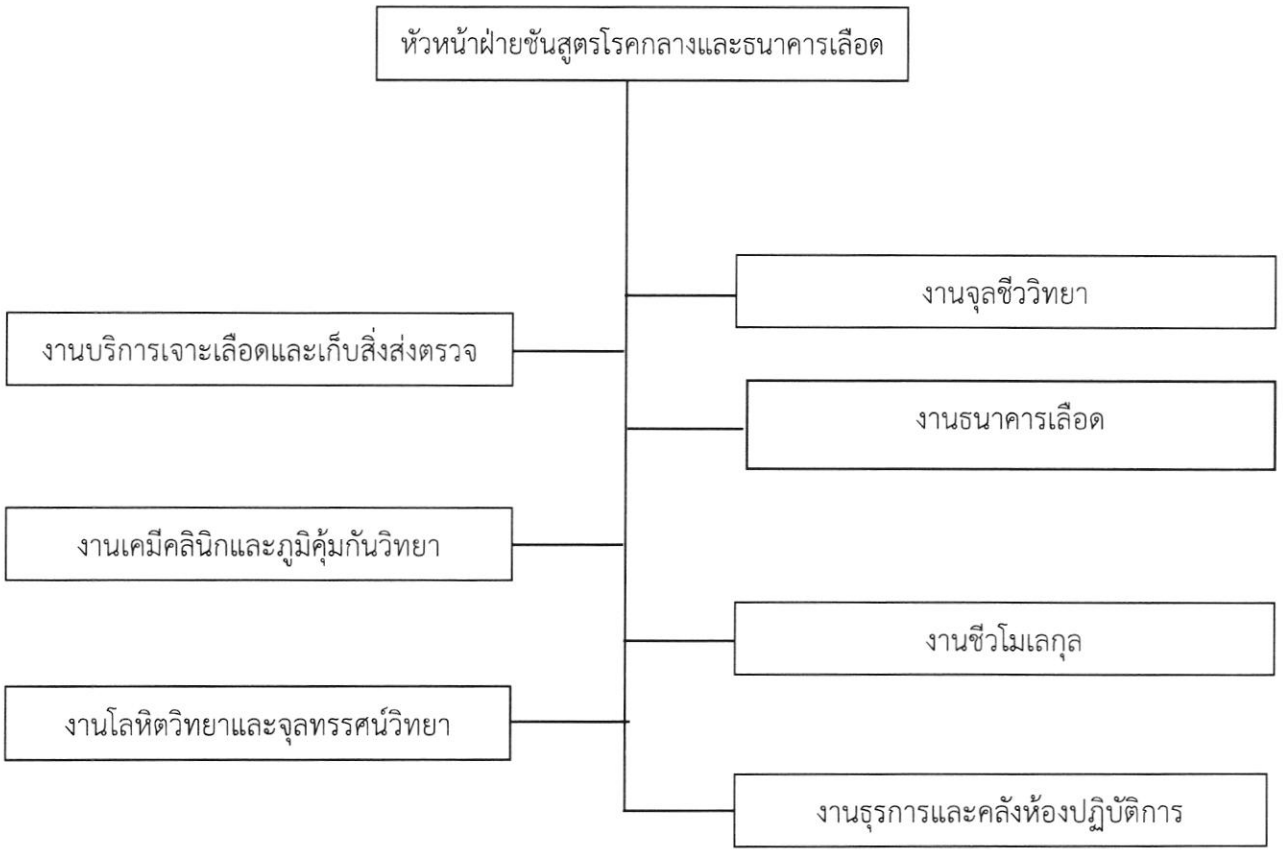
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลมีภาระหน้าที่และความรับผิดชอบเกี่ยวกับการบริหารทางด้านการศึกษา การควบคุมการสอน และการจัดการศึกษาเพื่อผลิตบัณฑิตและบุคลากรทางการแพทย์ทุกระดับ ตลอดจนผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางหลายสาขา พัฒนาหลักสูตรและปรับปรุงการศึกษาทางการแพทย์ให้ได้มาตรฐานสากล ส่งเสริม สนับสนุน ค้นคว้า และวิจัยทางการแพทย์ การให้บริการทางการแพทย์ที่มีคุณภาพแก่ประชาชน ด้านการบำบัด การส่งเสริมสุขภาพอนามัยและป้องกันโรค และให้บริการทางวิชาการแก่สังคมตลอดจนการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม จารีตประเพณี ภูมิปัญญาท้องถิ่น สิ่งแวดล้อม กีฬา ค่านิยมอันดีงามของไทยและวัฒนธรรมองค์กร รวมทั้งภาระหน้าที่อื่นตามที่สภามหาวิทยาลัยหรืออธิการบดีมอบหมาย

โครงสร้างองค์กรของคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล แบ่งการบริหารออกเป็น 3 ส่วนงาน คือ ส่วนโรงพยาบาลวชิรพยาบาล กลุ่มภารกิจการศึกษา และกลุ่มภารกิจสนับสนุน ซึ่งส่วนโรงพยาบาลวชิรพยาบาลประกอบด้วย 1 สำนักงาน และ 6 ฝ่าย กลุ่มภารกิจการศึกษาประกอบด้วย 19 ภาควิชา และกลุ่มภารกิจสนับสนุนประกอบด้วย 1 สำนักงาน และ 9 ฝ่าย โดยฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือดสังกัดอยู่ในส่วนของโรงพยาบาลวชิรพยาบาล ดังแสดงใน**แผนภูมิที่ 1** (9)

แผนภูมิที่ 1 โครงสร้างคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล (9)

2.2 โครงสร้างการบริหารจัดการฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด

ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล เป็นห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ทางการแพทย์และงานธนาคารเลือด สังกัดคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช ทำหน้าที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์แก่ผู้ป่วยที่มารับบริการ รวมทั้งให้การสนับสนุนการทำงานวิจัยและการเรียนการสอนขององค์กร มีการบริหารจัดการหน่วยงานในสังกัด โดยแบ่งออกเป็น 7 งาน ดังนี้ งานบริการเจาะเลือดและเก็บสิ่งส่งตรวจ งานเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา งานโลหิตวิทยาและจุลทรรศน์วิทยา งานจุลชีววิทยา งานธนาคารเลือด งานชีวโมเลกุล และงานธุรการและคลังห้องปฏิบัติการ ดังแสดงใน**แผนภูมิที่** 2 (10)



แผนภูมิที่ 2 โครงสร้างการบริหารจัดการฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด (10)

2.3 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของงานจุลชีววิทยา

งานจุลชีววิทยา สังกัดฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด (ดังแสดงใน**แผนภูมิที่ 2**) เป็นห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านจุลชีววิทยา ทำหน้าที่ตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลชีพก่อโรคที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย มีเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ทันสมัยและมีมาตรฐาน ให้บริการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ทันตามกำหนดเวลา มีความถูกต้อง แม่นยำ ได้มาตรฐาน ซึ่งผ่านการรับรองในระดับมาตรฐานสากล ISO 15189:2012 และ ISO 15190:2020 ตลอดจนมุ่งหวังเพื่อให้การสนับสนุนบริการทางการแพทย์แบบก้าวหน้า โดยพัฒนาการตรวจวิเคราะห์เป็นแหล่งรวมการศึกษาและงานวิจัยทางด้านจุลชีววิทยาคลินิก งานจุลชีววิทยา แบ่งตามภาระงานออกเป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

2.3.1 งานบริการทางคลินิก มีภารกิจ ดังนี้

ให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก ดังนี้

1) การตรวจวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination) ได้แก่ การย้อมสี Gram stain, Acid fast stain และ Modified acid fast stain

2) การตรวจวิเคราะห์จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโดยตรง (Direct examination) ได้แก่ KOH preparation, India Ink preparation และ Wet smear

3) เพาะเชื้อเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราชนิดยีสต์จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ตลอดจนทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Culture Identification and Sensitivity) เพื่อรายงานผลกลับไปยังผู้รับบริการ เช่น แพทย์ หรือพยาบาล เพื่อทำการดูแลรักษาผู้ป่วยต่อไป

2.3.2 งานบริการทางวิชาการและงานวิจัย มีภารกิจ ดังนี้

1) ให้ข้อมูลเชิงวิชาการและเป็นแหล่งฝึกงานทางด้านห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกแก่นักศึกษาและบุคลากรผู้สนใจ

2) สนับสนุนข้อมูลเชิงสถิติ ทางด้านระบาดวิทยาโรคติดเชื้อแบคทีเรียและข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการติดตามแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ

3) สนับสนุนและเสริมสร้างงานวิจัย โดยทำงานวิจัยร่วมกับทีมสหสาขาวิชาชีพที่หลากหลาย (แพทย์ นักศึกษาแพทย์ พยาบาล และผู้ที่สนใจงานทางด้านจุลชีววิทยา) เช่น การศึกษาการกระจายของเชื้อชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมของโรงพยาบาล การศึกษาทางด้านระบาดวิทยาของเชื้อที่พบในโรงพยาบาล รวมถึงเป็นแหล่งรองรับงานวิจัยในรูปแบบต่าง ๆ สำหรับนักวิจัยที่ต้องการทำการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาคลินิกทั้งภายในและภายนอกองค์กร

4) สนับสนุนให้คำปรึกษาข้อมูลทางวิชาการ งานบริการ งานคุณภาพแก่มหาวิทยาลัยและโรงพยาบาลต่าง ๆ

5) ให้คำปรึกษาในการทำงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เชื้อในห้องปฏิบัติการแก่นักวิจัยทั้งภายในและภายนอก

2.3.3 งานระบาดวิทยา มีภารกิจ ดังนี้

1) ร่วมสอบสวนแหล่งระบาดของเชื้อก่อโรค เชื้อดื้อยาที่ต้องเฝ้าระวัง ค้นหาสาเหตุและแหล่งกำเนิดของเชื้อแบคทีเรีย ทั้งในผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม

2) มีหน้าที่แจ้งการตรวจพบเชื้อดื้อยาในผู้ป่วยต่อหอผู้ป่วยและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องให้รับทราบ โดยเป็นการทำงานประสานกันกับทีมสหสาขาวิชาชีพ เพื่อร่วมกันวางแนวทางสำหรับควบคุมและป้องกันการระบาดของเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล

3) ทำงานประสานกับงานควบคุมโรคติดเชื้อเพื่อทำหน้าที่ในการควบคุมการระบาดของเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลและสืบสานนโยบายต่าง ๆ ร่วมกันกับกลุ่มงานควบคุมโรคติดเชื้อ

2.4 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งและลักษณะงานที่ปฏิบัติ

ผู้นิพนธ์ปัจจุบันดำรงตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ (ตำแหน่งเลขที่ พวช. 12298) ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช ปฏิบัติงานประจำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ในระดับปฏิบัติการ ที่ต้องใช้องค์ความรู้ รวมทั้งทักษะวิชาชีพด้านเทคนิคการแพทย์ภายใต้การกำกับ แนะนำ ตรวจสอบ โดยผู้บังคับบัญชา มีลักษณะงานที่ต้องปฏิบัติในด้านต่าง ๆ ดังนี้

2.4.1 ด้านการปฏิบัติการ

1) ปฏิบัติงานตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการขั้นพื้นฐาน ควบคุมระบบคุณภาพตามมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ เพื่อให้ผู้รับบริการได้รับผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และทันเวลา

2) รวบรวมข้อมูลทางวิชาการเบื้องต้นด้านเทคนิคการแพทย์ที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน เพื่อประกอบการวางแผนหรือจัดทำรายงานทางวิชาการ เพื่อพัฒนางานด้านเทคนิคการแพทย์และสาธารณสุข

3) ติดตามประเมินผลและสรุปการศึกษา วิเคราะห์ และวิจัยด้านเทคนิคการแพทย์ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการที่รับผิดชอบ

4) ศึกษาวิเคราะห์ วิจัยสำรวจข้อมูลทางวิชาการเบื้องต้นที่ไม่ซับซ้อน เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนพัฒนางานด้านเทคนิคการแพทย์และสาธารณสุข

2.4.2 ด้านการวางแผน

วางแผนการทำงานที่รับผิดชอบ ร่วมดำเนินการวางแผนการทำงานของหน่วยงานหรือส่วนงานหรือโครงการ เพื่อให้การดำเนินงานเป็นไปตามเป้าหมายและผลสัมฤทธิ์ที่กำหนด

2.4.3 ด้านการประสานงาน

1) ประสานงานทำความร่วมมือกับทีมงานโดยมีบทบาทในการชี้แนะ จูงใจ ทีมงานหรือหน่วยงานหรือส่วนงานอื่น เพื่อให้เกิดความร่วมมือและผลสัมฤทธิ์ตามที่กำหนด

2) ชี้แจงให้ข้อคิดเห็นในที่ประชุมคณะกรรมการหรือคณะทำงานต่าง ๆ เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์และเกิดความร่วมมือในการดำเนินงานร่วมกัน

2.4.4 ด้านการบริการ

1) ปฏิบัติงานประจำในงานจุลชีววิทยาตามตำแหน่งหน้าที่ที่รับผิดชอบ มีหน้าที่ให้บริการตรวจในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา

2) รับผิดชอบในการตรวจทางจุลชีววิทยาของโครงการต่าง ๆ ของคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช เช่น โครงการตรวจสุขภาพประจำปีของนักศึกษา

พนักงาน ข้าราชการ และแรงงานต่างด้าว เป็นต้น

3) ให้บริการงานเฝ้าระวังและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล รายงานเชื้อดื้อยา เพื่อจัดทำข้อมูลเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล

4) งานควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ผลตรวจตามมาตรฐาน เชื่อถือได้ ทำการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control; IQC) ทุกรายการ วิเคราะห์และบำรุงรักษาเครื่องตรวจอัตโนมัติตามตารางการบำรุงรักษาเครื่อง

2.4.5 ด้านวิชาการ

1) รับผิดชอบในการสอนและควบคุมการฝึกงานภาคปฏิบัติของนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ได้แก่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต มหาวิทยาลัยมหิดล และ/หรือ สถาบันต่าง ๆ ที่ขอดูงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

2) ตรวจสอบประสิทธิผลการทำงานของเครื่องมือเครื่องใช้ทางการแพทย์ที่ใช้ภายในห้องปฏิบัติการ

3) ให้คำปรึกษา แนะนำ แก้ปัญหาและตัดสินใจเกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยาให้กับบุคลากรในหน่วยงาน นอกหน่วยงาน นอกฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด รวมถึงผู้ที่มาใช้บริการต่าง ๆ

4) ประสานงานกับหน่วยงานอื่น ๆ เช่น หอผู้ป่วย ให้ความรู้เกี่ยวกับการเก็บสิ่งส่งตรวจ ผลการตรวจ และปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจนั้น ๆ

5) ทำการศึกษา อบรม เพิ่มเติมความรู้ทางด้านการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ด้านคอมพิวเตอร์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านบริการและงานด้านบริหารให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

2.4.6 ด้านบริหาร

1) รับผิดชอบงานในงานจุลชีววิทยา ควบคุมและดูแลการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ระดับรองให้ดำเนินการอย่างมีประสิทธิภาพ

2) ร่วมจัดวางแผนงานในงานจุลชีววิทยา เพื่อให้มีการพัฒนาในด้านความรู้แก่บุคลากรในหน่วยงาน รวมทั้งร่วมแก้ไขปัญหาจากการปฏิบัติงานและปัญหาจากการใช้เครื่องมือทางการแพทย์ภายในห้องปฏิบัติการเบื้องต้น

3) ประสานงานกับหน่วยงานอื่น ๆ ทั้งในและนอกฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด เพื่อร่วมกันหาแนวทางการปฏิบัติให้ได้ผลการตรวจที่ถูกต้องและรวดเร็ว

4) รับผิดชอบในการจัดเตรียมสารเคมี น้ำยาสำเร็จรูปและวัสดุทางการแพทย์ที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ให้เหมาะสมและเพียงพอต่อการปฏิบัติงานอย่างต่อเนื่อง

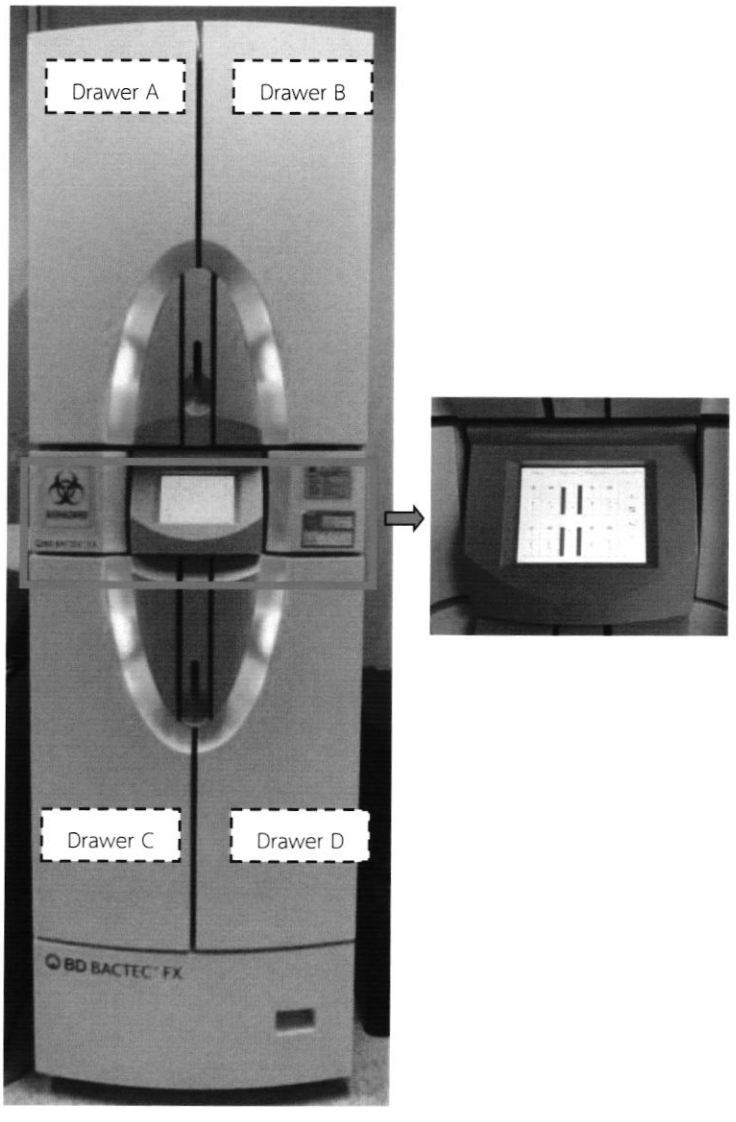
บทที่ 3
เทคนิคการตรวจแบคทีเรียในเลือดโดยใช้เครื่อง Bactec ™ FX

3.1 หลักการตรวจเชื้อในเลือดโดยเครื่อง Bactec ™ FX

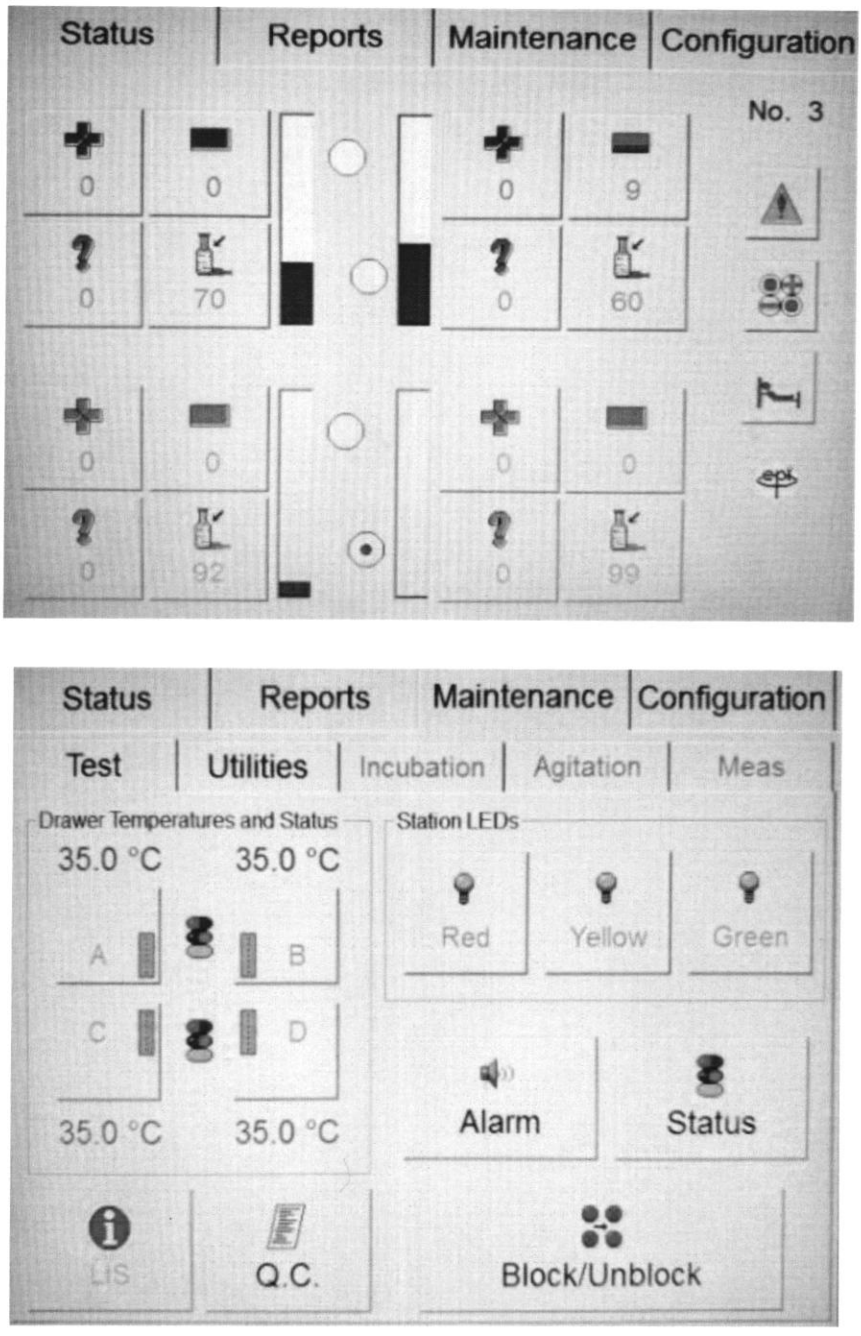
เครื่อง Bactec™ FX เป็นเครื่องอัตโนมัติที่ออกแบบมาเพื่อการตรวจหาเชื้ออย่างรวดเร็ว ในสิ่งส่งตรวจทางคลินิกที่เป็นสารน้ำ เช่น เลือดหรือของเหลวต่าง ๆ ในร่างกาย เมื่อใส่สิ่งส่งตรวจและนำขวดเข้าเครื่อง Bactec™ FX ขวดจะถูกบ่มเพาะเชื้อไว้ภายในเครื่องและถูกอ่านค่าตามช่วงระยะเวลา ในขวดแต่ละขวดจะมีตัว sensor ที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการ metabolism หรือการใช้ก๊าซออกซิเจน (O_2) เพื่อการเจริญเติบโตของเชื้อ เครื่องจะตรวจวัด sensor เพื่อดูการเพิ่มขึ้นของ fluorescence ทุก ๆ 10 นาที โดย fluorescence ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นสัดส่วนแปรผันตรงกับการเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) หรือการลดลงของก๊าซออกซิเจน (O_2) ที่มีอยู่ในขวด เมื่อเครื่องอ่านผลได้เป็นบวกจะเป็นการแสดงผลเบื้องต้นว่ามีเชื้อที่มีชีวิตอยู่ในขวด (6, 11-14) จึงร่นระยะเวลาการตรวจหาเชื้อ จากนั้นย้อมแกรมเพื่อแจ้งผลเบื้องต้น ทำให้การเพาะเชื้อเพื่อวินิจฉัยชนิดของเชื้อและทดสอบความไวเชื้อต่อยาต้านจุลชีพรวดเร็วกว่าการใช้วิธีทั่วไป ดังนั้น วิธีการตรวจหาเชื้อในเลือดโดยใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ทำให้การเพาะเชื้อจากเลือดมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น (**รูปที่ 1** และ **รูปที่ 2**)

3.2 กระบวนการตรวจเชื้อในเลือดด้วยเครื่อง Bactec ™ FX

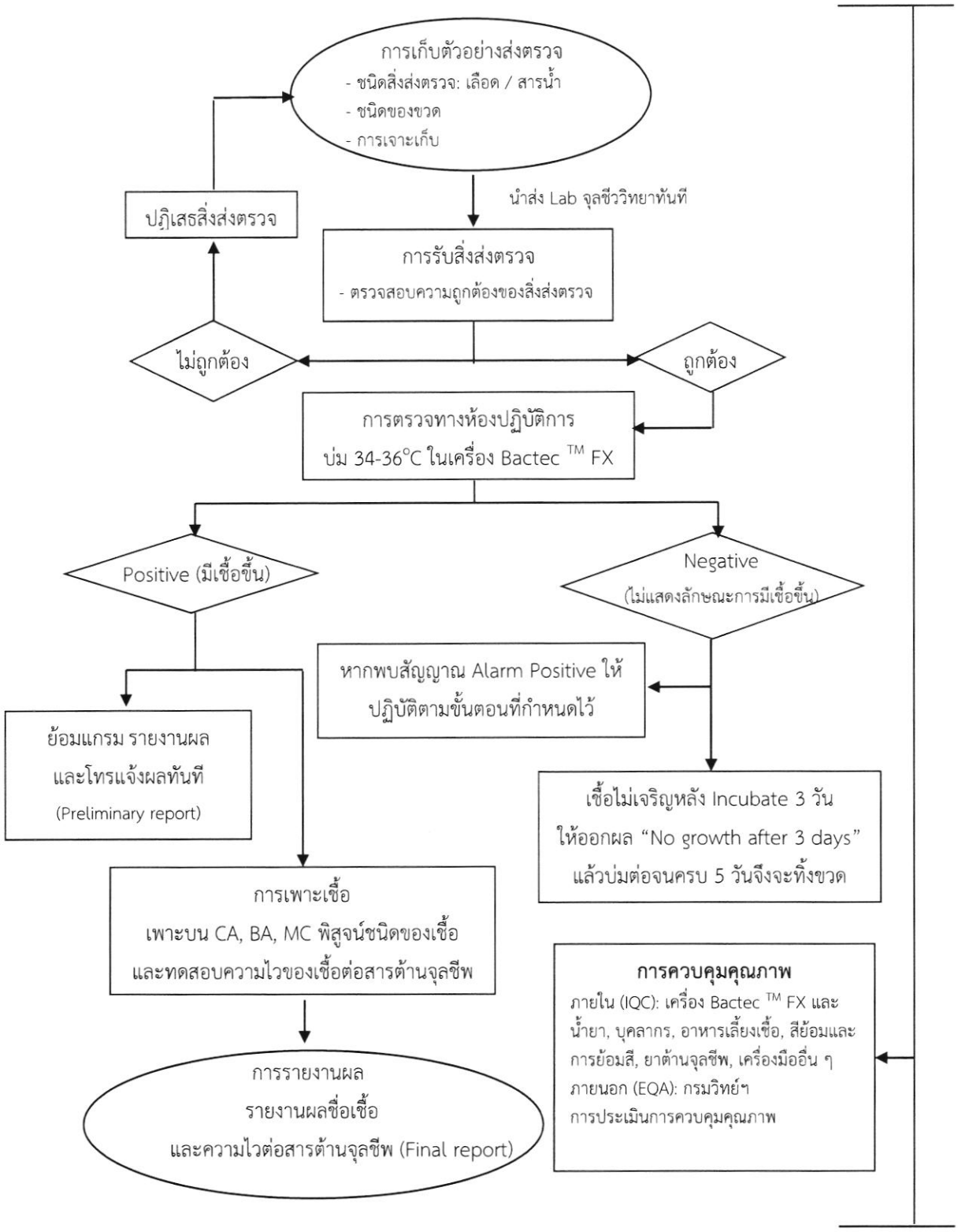
การตรวจหาเชื้อในเลือดโดยเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX เริ่มตั้งแต่เจาะเลือดจากผู้ป่วยรายที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อในเลือด ใส่ในขวดเพาะเชื้อชนิดต่าง ๆ ตามความเหมาะสม แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อบ่มขวดเลือดในเครื่อง Bactec ™ FX หากมีเชื้อ เชื้อจะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนทำให้เครื่องตรวจจับได้ จากนั้นจึงนำขวดดังกล่าวมาทำการย้อมสีแกรม (Gram stain) เพื่อรายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary Gram stain report) และเพาะเชื้อจุลชีพบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม (Chocolate agar, Sheep blood agar, MacConkey agar) หลังจากนั้นนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ไปจำแนกชนิด ทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพและรายงานผลกลับให้แพทย์ทราบเพื่อทำการรักษาผู้ป่วย ซึ่งกระบวนการต่าง ๆ จะต้องได้รับการควบคุมคุณภาพทุกขั้นตอน สรุปได้ดัง **แผนภูมิที่ 3**



รูปที่ 1 เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ใส่ขวด hemoculture สำหรับบ่มเพาะเชื้อ ประกอบด้วย 4 ลิ้นชัก (drawer: A, B, C และ D) (รูปซ้าย) แต่ละลิ้นชักบรรจุได้ 100 ขวด และมีหน้าจอสำหรับสั่งงานหรือติดตามสถานะต่าง ๆ ของเครื่องอยู่ตรงกลางเครื่อง (ในกรอบสีแดงและรูปขวา) เครื่อง Bactec ™ FX จะมีการแสดงสถานะที่หน้าจอ ได้แก่ สีเทาคือสถานะปกติ สีเขียวคือขวดที่บ่มเพาะเชื้อครบจำนวนวันที่กำหนดแล้วไม่พบเชื้อ สีแดงคือขวดที่สงสัยว่ามีเชื้อ และสีเหลืองคือขวดที่มีความผิดปกติบางอย่างเกิดขึ้นให้รีบหาสาเหตุและแก้ไข



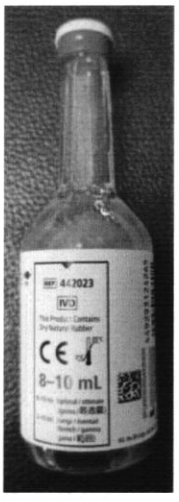
รูปที่ 2 หน้าจอแสดงสถานะและสั่งงานเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ประกอบด้วยแถบเมนูคำสั่งดังนี้ Status, Reports, Maintenance และ Configuration โดยเมนูที่ใช้บ่อยคือ Status สำหรับติดตามสถานะของเครื่องและขวดในเครื่อง (รูปบน) และ Maintenance สำหรับตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง (รูปล่าง)



แผนภูมิที่ 3 แผนภูมิแสดงขั้นตอนในกระบวนการตรวจเชื้อในเลือดด้วยเครื่อง Bactec ™ FX

3.3 ชนิดขวด Hemoculture สำหรับเพาะเชื้อจากเลือดโดยเครื่อง Bactec ™ FX มี 4 ประเภท ดังนี้

3.3.1 ขวด Bactec PLUS Aerobic/ F (สำหรับผู้ใหญ่) ใช้สำหรับการบ่มเพาะแบคทีเรีย Aerobes ในเลือดจากผู้ใหญ่ (**รูปที่ 3**) สารบรรจุในขวดประกอบด้วย enriched soybean-casein digested broth (TSB; 30 มล.), 0.05% sodium polyanetholesulfonate (SPS), cationic and non-ionic adsorbing resins, carbon dioxide (CO_2), oxygen (O_2) และ sensor (สำหรับตรวจวัดการเรืองแสง [fluorescence]) ปริมาณเลือดที่เหมาะสมต่อขวดประมาณ 8 - 10 มล. ปริมาณเลือดน้อยสุดที่ยังใช้ได้ประมาณ 3 มล. (11)



รูปที่ 3 ขวด Bactec PLUS Aerobic/ F (สำหรับผู้ใหญ่) ใช้สำหรับการบ่มเพาะแบคทีเรีย Aerobes ในเลือดจากผู้ใหญ่

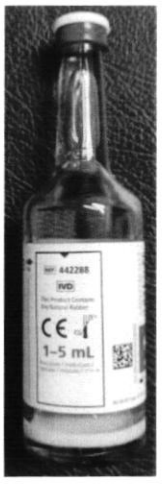
3.3.2 ขวด Bactec PEDS PLUS/ F (สำหรับเด็ก) ใช้สำหรับการบ่มเพาะแบคทีเรีย Aerobes ในเลือดจากเด็ก (**รูปที่ 4**) สารบรรจุในขวดประกอบด้วย enriched soybean-casein digested broth (TSB; 40 มล.), 0.02% sodium polyanetholesulfonate (SPS), cationic and non-ionic adsorbing resins, carbon dioxide (CO_2), oxygen (O_2) และ sensor (สำหรับตรวจวัดการเรืองแสง [fluorescence]) ปริมาณเลือดที่เหมาะสมต่อขวดประมาณ 1 - 3 มล. ปริมาณเลือดน้อยสุดที่ยังใช้ได้ประมาณ 0.5 มล. และปริมาณเลือดมากสุดประมาณ 5 มล. (12)

รูปที่ 4 ขวด Bactec PEDS PLUS/ F (สำหรับเด็ก) ใช้สำหรับการบ่มเพาะแบคทีเรีย Aerobes ในเลือดจากเด็ก

3.3.3 ขวด Bactec PLUS Anaerobic/ F ใช้สำหรับการบ่มเพาะแบคทีเรีย Anaerobes ในเลือด (**รูปที่ 5**) ใช้ในกรณีเพื่อส่งต่อห้องปฏิบัติการตรวจต่อเท่านั้น (สามารถขอรับขวดได้ที่ห้องเจาะเลือด) สารบรรจุในขวดประกอบด้วย pre-reduced enriched soybean-casein digested broth (TSB; 25 มล.), 0.05% sodium polyanetholesulfonate (SPS), cationic and non-ionic adsorbing resins, carbon dioxide (CO_2), nitrogen (N_2) และ sensor (สำหรับตรวจวัดการเรืองแสง [fluorescence]) ปริมาณเลือดที่เหมาะสมต่อขวดประมาณ 8 - 10 มล. ปริมาณเลือดน้อยสุดที่ยังใช้ได้ประมาณ 3 มล. (13)

รูปที่ 5 ขวด Bactec PLUS Anaerobic/ F ใช้สำหรับการบ่มเพาะแบคทีเรีย Anaerobes ในเลือด

3.3.4 ขวด Bactec MYCO/ F LYTIC ใช้สำหรับการบ่มเพาะเชื้อแบบ non-selective ได้แก่ การตรวจหายีสต์และเชื้อราจากเลือดและน้ำในร่างกาย และใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* จากเลือด (**รูปที่ 6**) ขวดชนิดนี้ใช้ได้ทั้งกรณีส่งเพาะเชื้อราในเลือดและกรณีส่งต่อห้องปฏิบัติการตรวจต่อ (สามารถขอรับขวดได้ที่จุดรับสิ่งส่งตรวจและห้องเจาะเลือด) สารบรรจุในขวดประกอบด้วย Process water 40 มล., 7H9 Middlebrook broth base without phosphate salts, Brain heart infusion, casein hydrolysate, Supplement H, Inositol, Glycerol, SPS, Polysorbate 80, Pyridoxal HCL, Ferric ammonium citrate, Potassium phosphate, saponin, Antifoam, carbon dioxide (CO_2), nitrogen (N_2) และ sensor (สำหรับตรวจวัดการเรืองแสง [fluorescence]) ปริมาณเลือดที่เหมาะสมต่อขวดประมาณ 3 - 5 มล. ปริมาณเลือดน้อยสุดที่ยังใช้ได้ประมาณ 1 มล. (14)



รูปที่ 6 ขวด Bactec MYCO/ F LYTIC ใช้สำหรับการบ่มเพาะเชื้อแบบ non-selective ได้แก่ การตรวจหายีสต์และเชื้อราจากเลือดและน้ำในร่างกาย และใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* จากเลือด

3.4 การเก็บสิ่งส่งตรวจ

3.4.1 เลือด (Whole blood)

ในการเก็บเลือดจากผู้ป่วย ปริมาณเลือดสำหรับการบ่มเพาะเชื้อมีความสำคัญมาก เนื่องจากจำนวนเชื้อในเลือดมักมีปริมาณน้อย โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน สำหรับเลือดจากผู้ป่วยเด็กจะมีปริมาณเชื้อต่อมิลลิลิตรมากกว่าในผู้ใหญ่ (4) ดังนั้นจึงใช้ปริมาณเลือดในเด็กน้อยกว่า การเก็บเลือดเพื่อตรวจหาเชื้อส่วนใหญ่จะเจาะเก็บเลือด 2 - 3 ครั้งเป็นระยะ ๆ การเก็บเลือดตรวจมากกว่า 3 ครั้งอาจไม่ช่วยให้ได้ผลดีขึ้น และการเก็บเลือดตรวจเพียงครั้งเดียว อาจให้ผลตรวจที่ไม่พบเชื้อได้ (4)

3.4.1.1 การเก็บเลือดจากผู้ป่วย

ทำความสะอาดตรงบริเวณเส้นเลือดดำที่จะเจาะเลือดด้วย 70% alcohol ปล่อยแอลกอฮอล์ระเหยแห้งประมาณ 30 วินาที แล้วเช็ดด้วย 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol แล้วปล่อยให้ระเหยแห้งประมาณ 30 วินาที จึงดำเนินการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำโดยใช้กระบอกฉีดยาและเข็มฉีดยา (3-5)

สำหรับผู้ใหญ่ ให้เจาะเลือดประมาณ 8 - 10 มล.

สำหรับเด็ก ให้เจาะเลือดประมาณ 1 - 3 มล.

3.4.1.2 การใส่เลือดในขวด Hemoculture

แกะฝาพลาสติกที่ปิดปากขวด Hemoculture เช็ดจุกยางด้านบนปากขวดด้วย 70% alcohol แล้วปล่อยให้แห้ง แทงเข็มและฉีดเลือดในกระบอกฉีดยาที่เจาะเลือดมาลงในขวด โดยเลือดที่เก็บจากผู้ใหญ่ ให้ใส่ในขวด Bactec PLUS Aerobic/ F (ฝาสีเทา) ส่วนเลือดที่เก็บจากเด็ก ให้ใส่ในขวด Bactec PEDS PLUS/ F (ฝาสีชมพู) เขย่าขวดเบา ๆ ประมาณ 5 - 10 ครั้ง และนำส่งห้องปฏิบัติการ

ในการทำความสะอาดปากขวดห้ามเช็ดด้วยสารที่มีส่วนประกอบของ iodine เนื่องจากอาจทำให้จุกยางเสื่อมสภาพและเกิดการปนเปื้อนเชื้อจากภายนอกได้ (3, 5, 11-13)

3.4.2 ของเหลวในร่างกาย (Sterile body fluid)

ในบางกรณีแพทย์ต้องการตรวจหาเชื้อในของเหลวในร่างกาย แพทย์จะเป็นผู้จัดเก็บสิ่งส่งตรวจดังกล่าว ใส่ในขวด Hemoculture และจัดส่งมายังห้องปฏิบัติการ

3.4.2.1 การเตรียมผู้ป่วยเพื่อเก็บสิ่งส่งตรวจ

ให้เตรียมตามตารางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อวินิจฉัยทางจุลชีววิทยา (แอโรบ) ในคู่มือเรื่อง การให้บริการทางห้องปฏิบัติการ (หมายเลขเอกสาร M-LAB-01) คือ เก็บด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic technique) โดยทำความสะอาดตรงบริเวณที่จะเจาะเก็บเช่นเดียวกับการเจาะเลือด ด้วย 70% alcohol ปล่อยแอลกอฮอล์ระเหยแห้งประมาณ 30 วินาที แล้วเช็ดด้วย 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol แล้วปล่อยให้ระเหยแห้งประมาณ 30 วินาที จึงดำเนินการเจาะเก็บให้ได้อย่างน้อย 2 - 3 มล. ใส่ขวดเพาะเชื้อแล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการทันที (3-5)

3.5 ระยะเวลาในการนำสิ่งส่งตรวจส่งห้องปฏิบัติการ

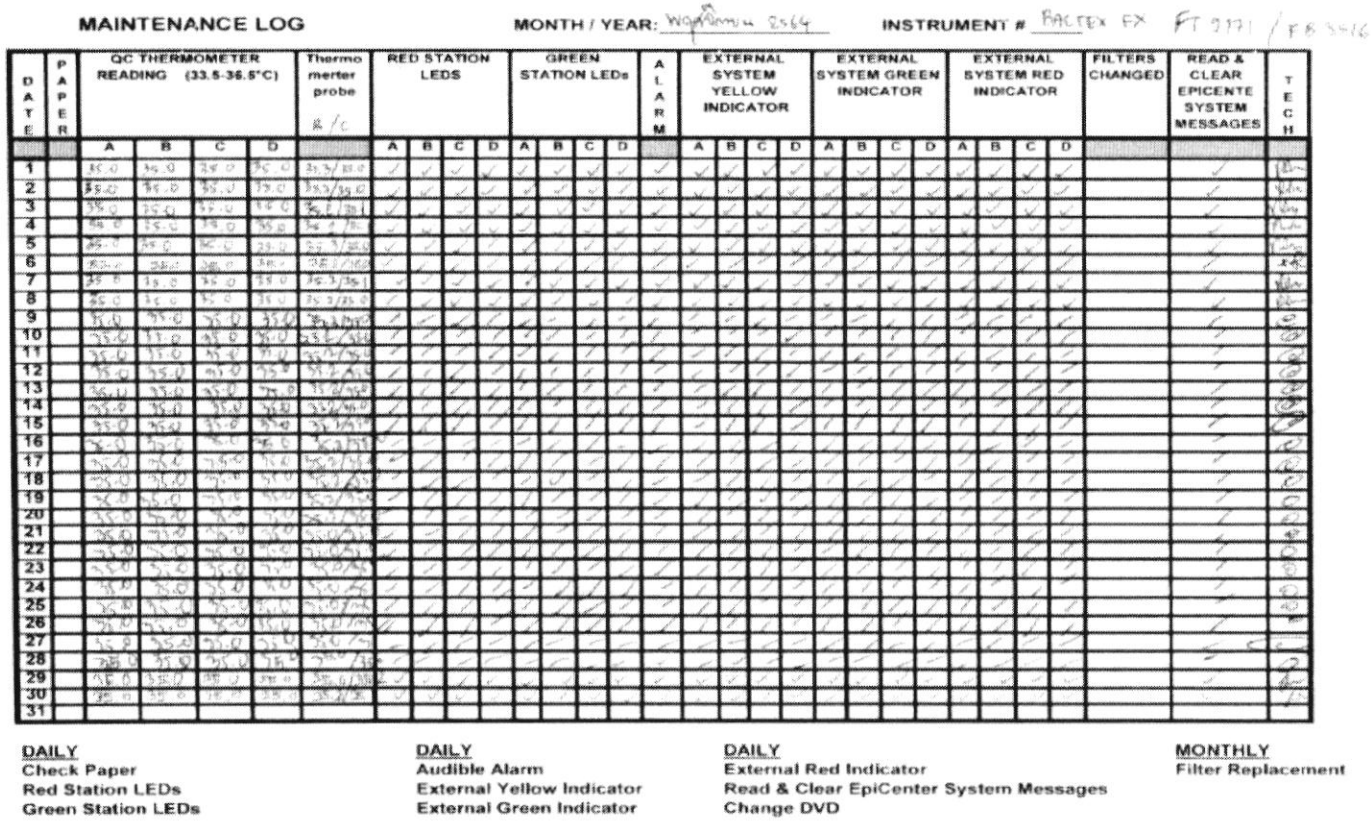
เมื่อทำการเก็บสิ่งส่งตรวจ (เลือด หรือน้ำในร่างกาย) ใส่ในขวด Hemoculture แล้ว ให้นำส่งถึงห้องปฏิบัติการทันที (11-14) หรือภายใน 2 ชั่วโมง (ไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมงหลังเจาะเลือด) โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องระหว่างรอส่ง (4, 7)

3.6 วิธีการตรวจเชื้อโดยเครื่อง Bactec ™ FX

3.6.1 การเตรียมเครื่อง Bactec ™ FX ก่อนใช้งาน

ตรวจสอบเครื่อง Bactec ™ FX ตามวิธีการบำรุงรักษาเครื่องทุกวัน ตามวิธีการปฏิบัติงานเรื่อง วิธีการใช้และดูแลรักษาเครื่องมือของงานจุลชีววิทยา (หมายเลขเอกสาร WI-MI-020) โดยตรวจสอบอุณหภูมิจากหน้าจอของแต่ละ drawer ตรวจสอบอุณหภูมิของ meter probe ตรวจสอบสถานะไฟสีแดง สีเหลือง และสีเขียวจากทั้งหน้าเครื่องและภายในเครื่อง ตรวจสอบสัญญาณเสียงแจ้งเตือน

จากนั้นอ่านและเคลียร์ข้อความแจ้งเตือนต่าง ๆ ของเครื่อง และบันทึกผลการตรวจสอบในแบบฟอร์ม MAINTENANCE LOG (**รูปที่ 7**) นำไปเก็บไว้ในแฟ้มแบบฟอร์มบำรุงรักษาเครื่อง Bactec ™ FX (หมายเลขเอกสาร SD-MI-145) เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับการบำรุงรักษาเครื่อง ในทุก ๆ เดือนจะต้องมีการทำความสะอาดตัวกรองดักฝุ่น โดยดึงตัวกรองดักฝุ่นมาล้างให้สะอาด ตากให้แห้ง แล้วจึงนำกลับไปใส่ไว้ที่เดิม ในกรณีที่เกิดความผิดปกติขึ้นกับเครื่องให้ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องมือเพาะเชื้อในเลือดแบบอัตโนมัติ Bactec ™ FX (หมายเลขเอกสาร SD-MI-009) เพื่อแก้ไขปัญหาในเบื้องต้น หากไม่สามารถแก้ไขปัญหาได้ให้ติดต่อช่างประจำเครื่องรับทราบเพื่อดำเนินการแก้ไข



MAINTENANCE LOG

MONTH / YEAR: พฤศจิกายน 2564 INSTRUMENT # BACTEC FX FT 9171 / FB 5516

DATE	PAPER	QC THERMOMETER READING (33.5-36.5°C)				Thermometer probe	RED STATION LEDS				GREEN STATION LEDs				ALARM	EXTERNAL SYSTEM YELLOW INDICATOR				EXTERNAL SYSTEM GREEN INDICATOR				EXTERNAL SYSTEM RED INDICATOR				FILTERS CHANGED	READ & CLEAR EPICENTE SYSTEM MESSAGES	TECH
		A	B	C	D		A	B	C	D	A	B	C	D		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D			
1																														
2																														
3																														
4																														
5																														
6																														
7																														
8																														
9																														
10																														
11																														
12																														
13																														
14																														
15																														
16																														
17																														
18																														
19																														
20																														
21																														
22																														
23																														
24																														
25																														
26																														
27																														
28																														
29																														
30																														
31																														

DAILY
Check Paper
Red Station LEDs
Green Station LEDs

DAILY
Audible Alarm
External Yellow Indicator
External Green Indicator

DAILY
External Red Indicator
Read & Clear EpiCenter System Messages
Change DVD

MONTHLY
Filter Replacement

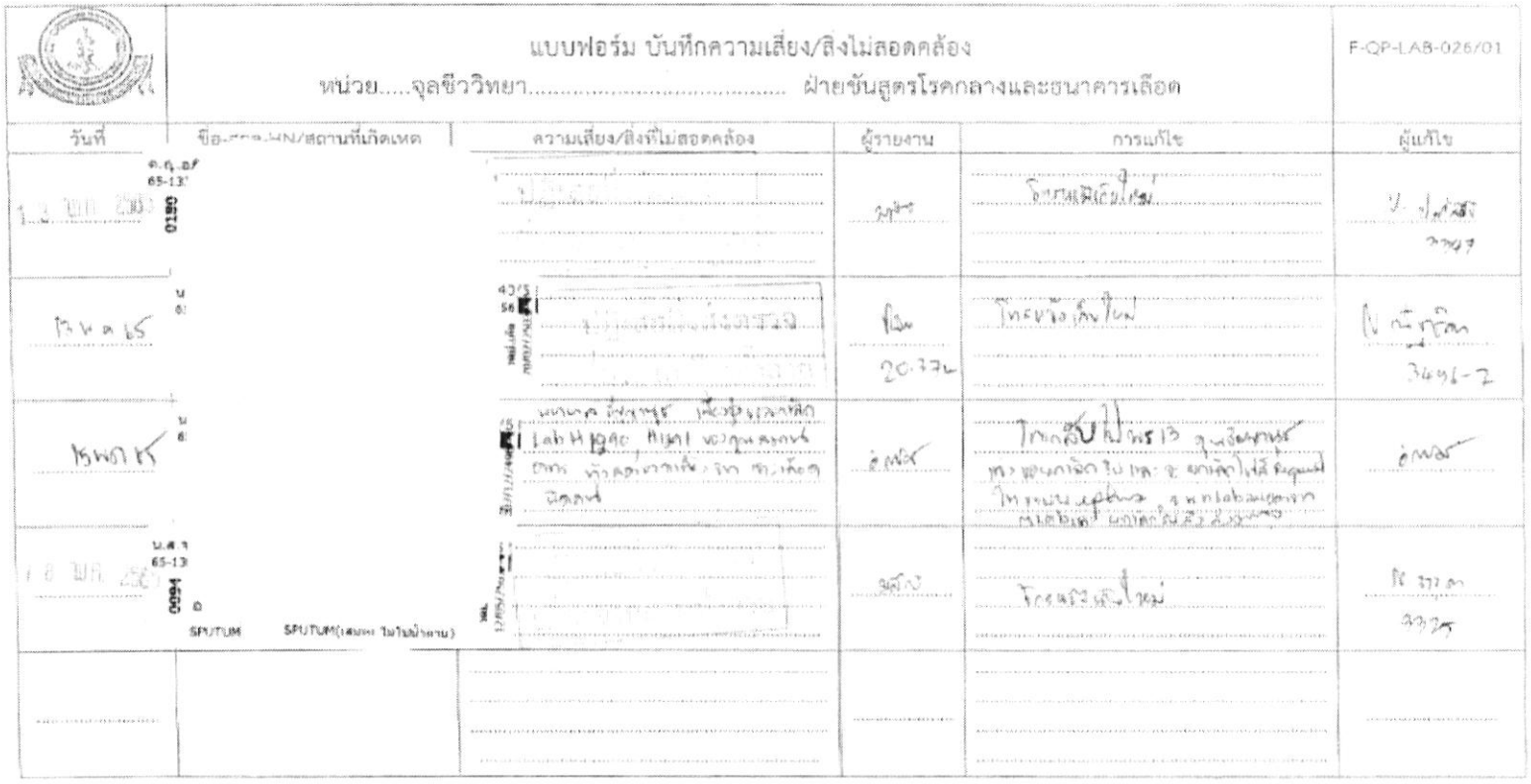
รูปที่ 7 ใบ MAINTENANCE LOG ใช้สำหรับบันทึกผลการบำรุงรักษาเครื่อง Bactec ™ FX โดยบันทึกอุณหภูมิแต่ละ drawer อุณหภูมิของ meter probe สถานะไฟสีแดง สีเหลือง และสีเขียวจากทั้งหน้าเครื่องและภายในเครื่อง สัญญาณเสียงแจ้งเตือน และเคลียร์ข้อความแจ้งเตือนต่าง ๆ

3.6.2 การเตรียมขวด Hemoculture ที่ใส่สิ่งส่งตรวจ ก่อนนำเข้าเครื่อง Bactec ™ FX

ดำเนินการตรวจสอบขวด Hemoculture ที่ใส่สิ่งส่งตรวจที่นำส่งห้องปฏิบัติการตามวิธีการของคู่มือการให้บริการทางห้องปฏิบัติการ (หมายเลขเอกสาร M-LAB-01) โดยตรวจสอบสติ๊กเกอร์ชื่อ-นามสกุลบนขวดมีความครบถ้วน ถูกต้องตรงกับใบส่งตรวจ ใส่รายการส่งตรวจถูกต้องครบถ้วน เลือกขวดถูกชนิด ถูกประเภทที่ต้องการเพาะเชื้อและไม่หมดอายุ นำส่งขวด Hemoculture ที่อุณหภูมิห้อง ภายในเวลาที่กำหนด

กรณีเมื่อพบว่า สิ่งส่งตรวจไม่ถูกต้อง เป็นไปตามเกณฑ์การปฏิเสธการรับสิ่งส่งตรวจของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ให้ทำการปฏิเสธสิ่งส่งตรวจนั้นและดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติเรื่องความเสี่ยง/สิ่งไม่สอดคล้องในการปฏิบัติงานและแนวทางแก้ไข (หมายเลขเอกสาร QP-LAB-026) โดยบันทึกสิ่งที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของระบบบริหารจัดการคุณภาพ คู่มือคุณภาพ ระเบียบปฏิบัติ วิธีปฏิบัติ ที่เกิดขึ้นในฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด บันทึกความเสี่ยงหรือเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ เช่น ความเสี่ยงทั่วไปและความเสี่ยงทางคลินิกตามที่คณะกรรมการความเสี่ยงโรงพยาบาลกำหนด ลงในแบบฟอร์มบันทึกความเสี่ยง/สิ่งไม่สอดคล้อง (หมายเลขเอกสาร F-QP-LAB-026/01) (**รูปที่ 8**)

กรณีพบว่า สิ่งส่งตรวจถูกต้อง ให้ทำการรับสิ่งส่งตรวจนั้น และดำเนินการตามวิธีในคู่มือการใช้โปรแกรม HIS (หมายเลขเอกสาร M-LAB-07) โดยบันทึกรับสิ่งส่งตรวจผ่านโปรแกรม e-Phis ที่สามารถรองรับการเชื่อมต่อกับระบบ LIS คือโปรแกรม MLAB เพื่อบันทึกลงทะเบียนสิ่งส่งตรวจลงในระบบ ใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับตรวจสอบสถานะสิ่งส่งตรวจ ลงผล สืบค้นผลทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาได้



แบบฟอร์ม บันทึกความเสี่ยง/สิ่งไม่สอดคล้อง

หน่วย.....จุลชีววิทยา..... ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด

F-QP-LAB-026/01

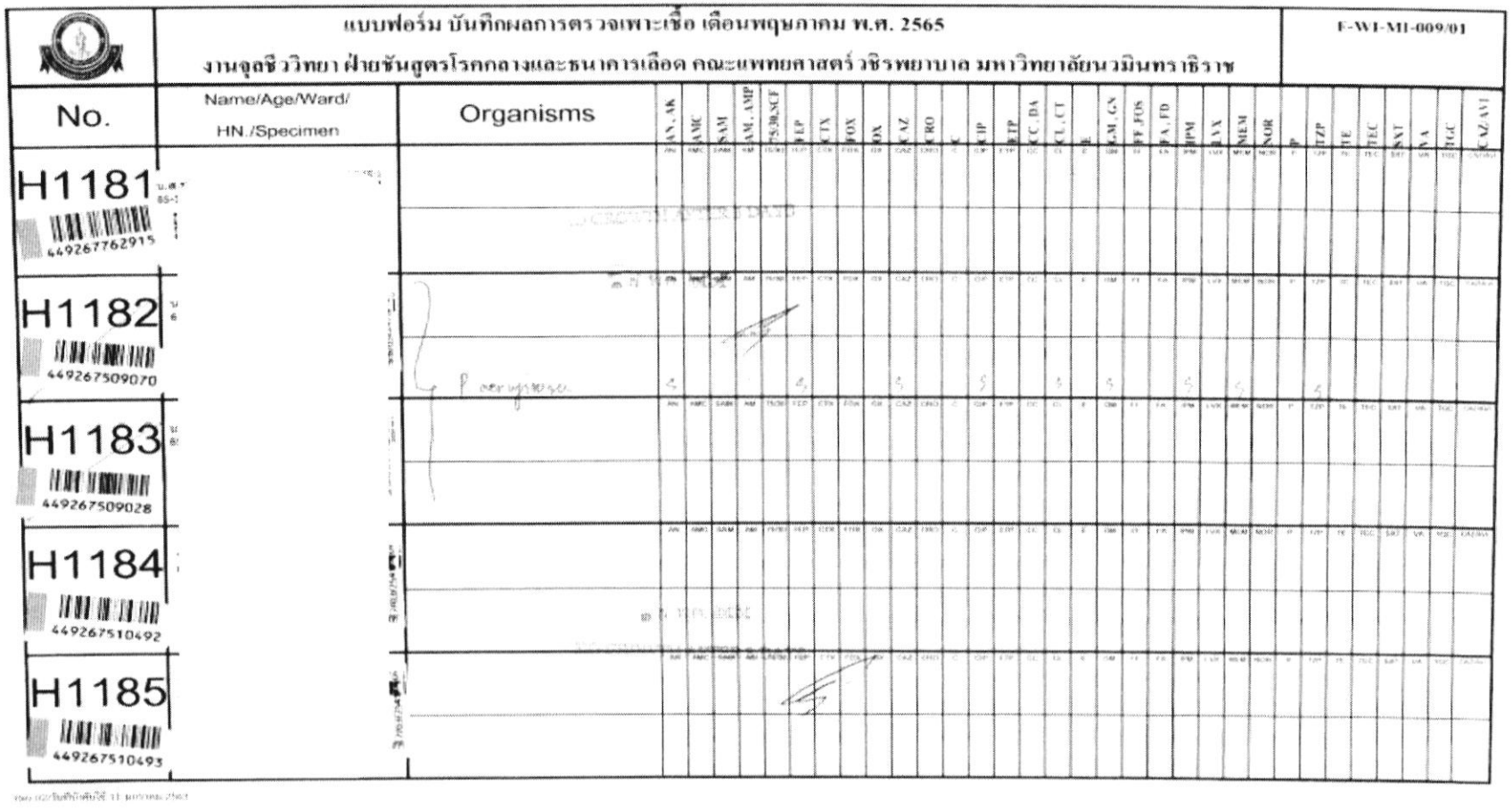
วันที่	ชื่อ-สกุล/HN/สถานที่เกิดเหตุ	ความเสี่ยง/สิ่งที่ไม่สอดคล้อง	ผู้รายงาน	การแก้ไข	ผู้แก้ไข

Rev.00 /วันที่บังคับใช้ 4 มกราคม 2562

รูปที่ 8 บันทึกความเสี่ยง/สิ่งไม่สอดคล้อง (หมายเลขเอกสาร F-QP-LAB-026/01) ใช้สำหรับบันทึกความเสี่ยงหรือสิ่งไม่สอดคล้องในการปฏิบัติงานและการแก้ไข โดยบันทึกเป็นข้อมูลสั้น ๆ พร้อมทั้งระบุผู้รายงานและผู้แก้ไขให้ครบถ้วน

3.6.3 บันทึกหมายเลขตัวอย่างส่งตรวจในแบบฟอร์ม

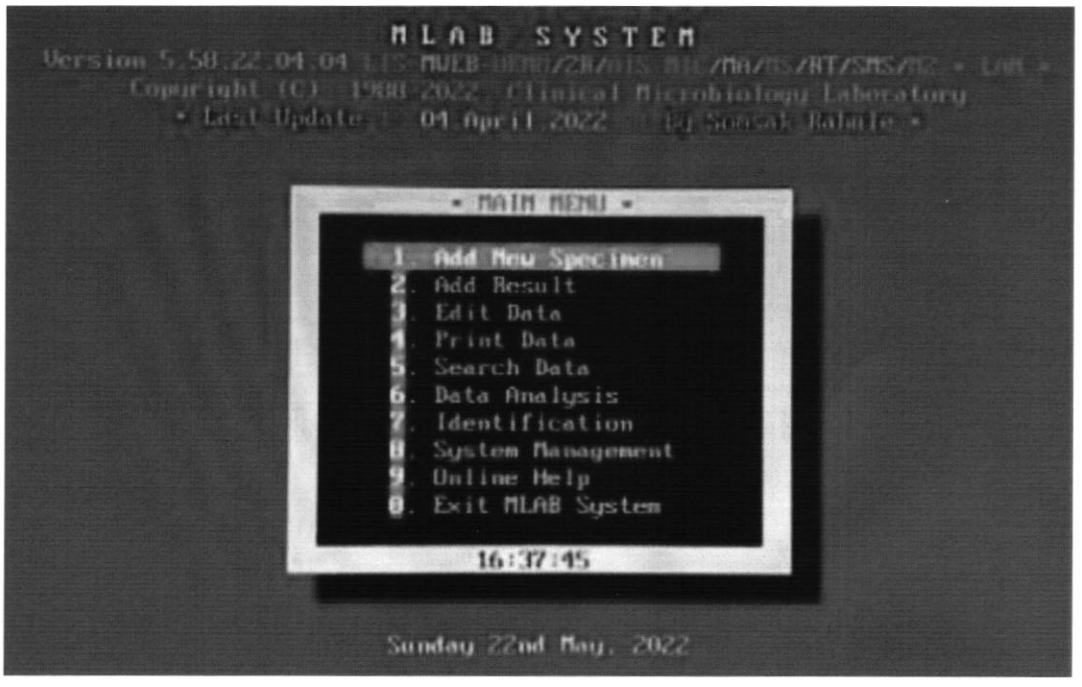
เมื่อตรวจสอบความเรียบร้อยแล้ว ให้เขียนหมายเลขลำดับลงในใบส่งตรวจ สนพ.80ก. หรือใบส่งตรวจจากคอมพิวเตอร์ และที่ขวดให้ตรงกัน นำสติ๊กเกอร์บาร์โค้ดจากข้างขวดและสติ๊กเกอร์ที่รับสิ่งส่งตรวจติดลงในแบบฟอร์มบันทึกผลการตรวจเพาะเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-009/01) (**รูปที่ 9**) แล้วนำขวด Hemoculture นั้นรับเข้าในโปรแกรม MLAB ให้เรียบร้อยก่อนที่จะนำเข้าเครื่อง Bactec ^{TM} FX โดยสแกนบาร์โค้ดก่อนเข้าเครื่อง



รูปที่ 9 แบบฟอร์มบันทึกผลการตรวจเพาะเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-009/01) ใช้สำหรับติดสติ๊กเกอร์สิ่งส่งตรวจที่รับตามหมายเลขลำดับ และใช้บันทึกผลการตรวจเพาะเชื้อ

3.6.4 ลงข้อมูลสิ่งส่งตรวจในโปรแกรม MLAB

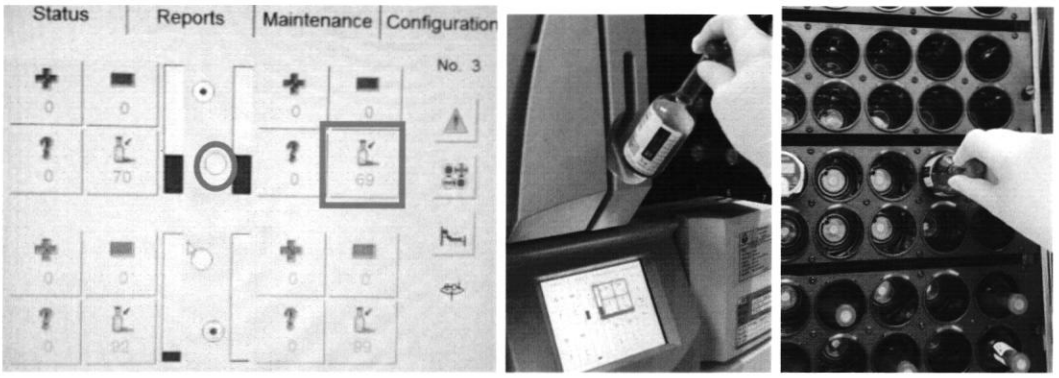
ให้นำใบส่งตรวจและขวด Hemoculture มาลงข้อมูลในโปรแกรม MLAB ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การใช้โปรแกรม MLAB (หมายเลขเอกสาร WI-MI-005) โดยไปที่หน้า MAIN MENU (**รูปที่ 10**) เลือกหัวข้อที่ 1. Add New Specimen แล้วเลือกหมวดที่ 1. Hemoculture สแกน LN ที่ใบส่งตรวจ ตรวจสอบชื่อ-นามสกุลอีกครั้งให้ถูกต้องตรงกันทั้งหมด จากนั้นสแกนบาร์โค้ดข้างขวด Hemoculture และกดบันทึกข้อมูลในโปรแกรม MLAB ให้เรียบร้อยก่อนที่จะนำขวด Hemoculture เข้าเครื่อง Bactec ™ FX โดยสแกนบาร์โค้ดก่อนเข้าเครื่อง



รูปที่ 10 โปรแกรม MLAB เป็นระบบสารสนเทศงานทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ใช้บันทึกข้อมูล จัดเก็บ รายงานผล พิมพ์สรุปรายงานผล ตลอดจนวิเคราะห์ข้อมูลที่รวบรวมได้ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนางานทางจุลชีววิทยา และการติดตามการระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล

3.6.5 นำขวดเข้าบ่มเพาะในเครื่อง

หลังจากลงบันทึกข้อมูลสิ่งส่งตรวจแล้ว ให้นำขวดสิ่งส่งตรวจเข้าในเครื่อง Bactec ™ FX และบ่มเพาะเป็นเวลา 5 วัน (7) หรือตามแต่กรณีที่แพทย์กำหนด ดัง**รูปที่ 11**

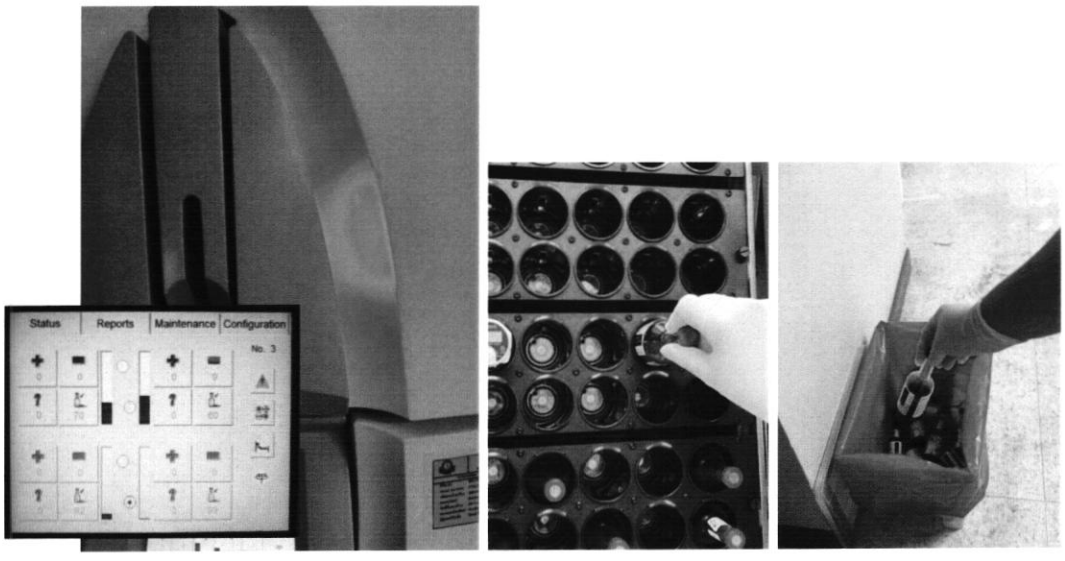


รูปที่ 11 การนำขวด Hemoculture เข้าเครื่อง (รูปซ้าย) เลือก drawer ที่มีช่องว่าง (ในกรอบสี่เหลี่ยมสีแดงแสดงจำนวนช่องที่ว่าง) และไม่มีสัญญาณวัดอยู่ (ไม่มีจุดสีน้ำเงินในวงกลมสีแดง) (รูปกลาง) หันบาร์โค้ดสแกนก่อนเข้าใส่เครื่อง โดยเลือกใส่ในช่องที่มีไฟสีเขียวที่ว่าง (รูปขวา)

3.6.6 การนำขวดบ่มเพาะออกจากเครื่อง

3.6.6.1 ขวดที่ไม่มีเชื้อขึ้น หรือ Negative culture

ขวดที่บ่มเพาะครบจำนวนวันที่กำหนดและยังไม่พบเชื้อ จะแสดงสัญญาณไฟสีเขียวกระพริบ แสดงผลว่า negative culture ให้นำขวดออกจากเครื่อง และวางในกล่องเก็บขวด negative culture โดยไม่ต้องสแกนออก ดัง**รูปที่ 12**



รูปที่ 12 การนำขวด negative ออกจากเครื่อง (จากรูปซ้ายไปขวา) เมื่อเครื่องแสดงไฟสีเขียวคือขวดที่บ่มเพาะเชื้อครบจำนวนวันที่กำหนดแล้วไม่พบเชื้อ จะมีเครื่องหมายลบสีเขียวแสดงที่หน้าจอ พร้อมทั้งบอกจำนวนขวดที่ negative สามารถดึงออกได้เลยโดยไม่ต้องสแกนและวางในกล่องเก็บขวด negative culture

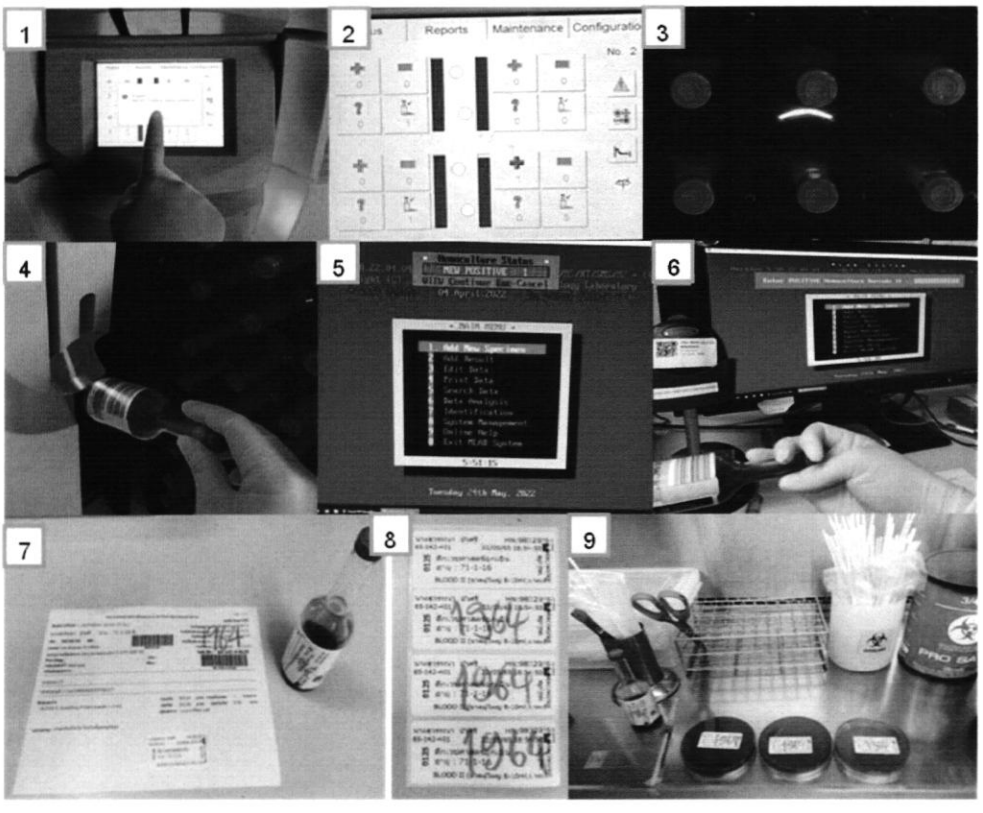
3.6.6.2 ขวดที่มีเชื้อขึ้น หรือ Positive culture

ขวดที่สงสัยว่ามีเชื้อ จะแสดงสัญญาณไฟสีแดงกระพริบขึ้นและมีเสียงสัญญาณแจ้งเตือนขึ้น ดัง**รูปที่ 13**

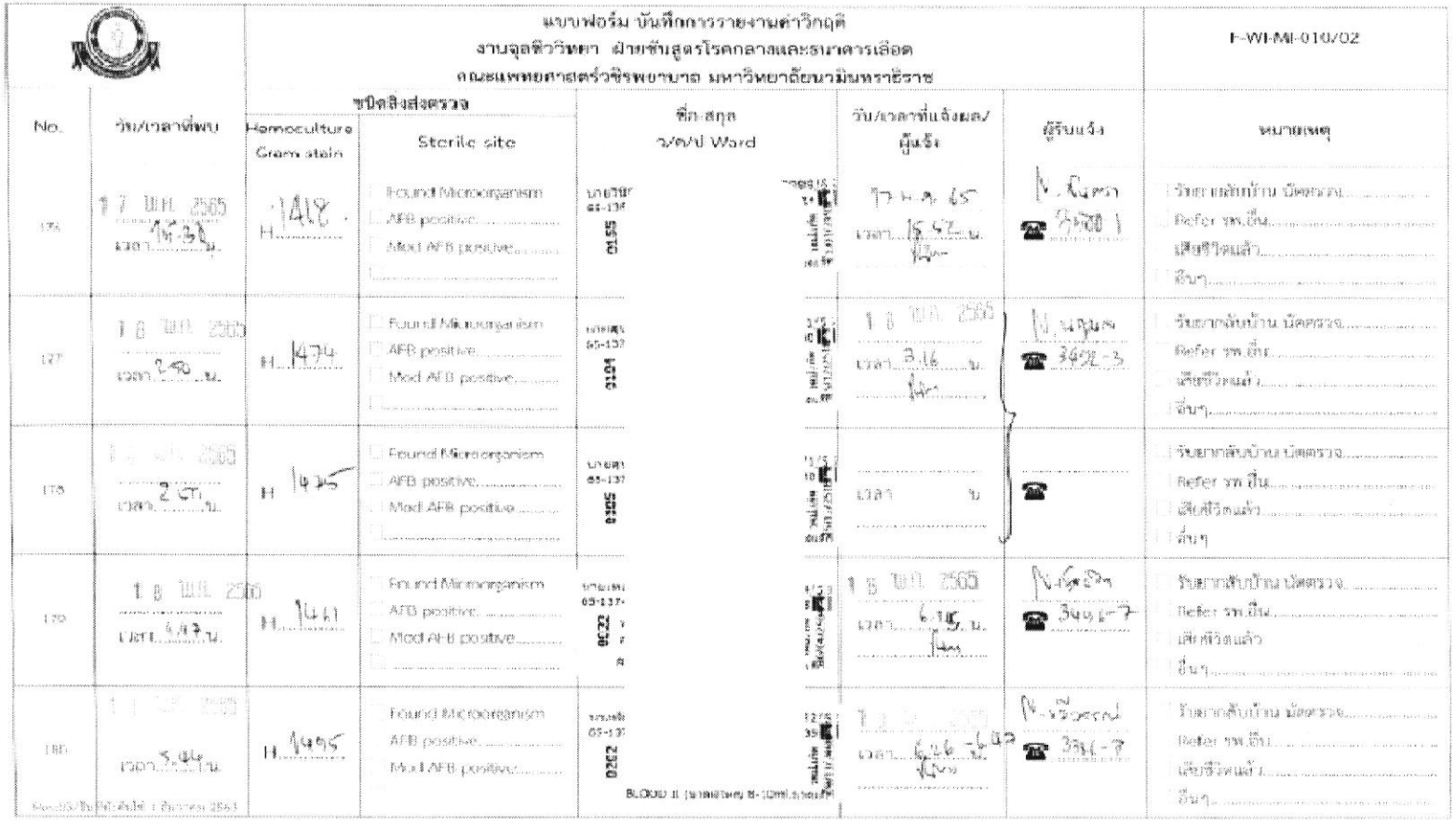
1) นำขวดออกจากเครื่องโดยสแกนบาร์โค้ด และนำขวดไปสแกนบาร์โค้ดที่โปรแกรม MLAB อีกรอบเพื่อลบการแจ้งเตือนในโปรแกรม

2) ตรวจสอบความถูกต้องของขวดให้ตรงกับใบส่งตรวจ

3) พิมพ์สติ๊กเกอร์และแปะลงในแบบฟอร์มบันทึกการรายงานค่าวิกฤติ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-010/02) ดัง**รูปที่ 14**



รูปที่ 13 การนำขวด positive ออกจากเครื่อง (ปฏิบัติตามลำดับหมายเลข 1-9): 1 = เครื่องแสดงสีแดงคือขวดที่สงสัยว่ามีเชื้อ, 2 = เครื่องหมายบวกสีแดงแสดงที่หน้าจอพร้อมทั้งบอกจำนวนขวดที่ positive, 3 = ตำแหน่งขวดที่ positive, 4 = ดึงขวดออกโดยสแกนออก, 5 = การแจ้งเตือนในโปรแกรม MLAB, 6 = นำขวดไปสแกนบาร์โค้ดที่โปรแกรม MLAB อีกรอบเพื่อลบการแจ้งเตือนในโปรแกรม, 7 = ค้นหาใบส่งตรวจและตรวจสอบชื่อ-นามสกุล หมายเลขที่ขวดให้ถูกต้องตรงกันทั้งหมด, 8 = พิมพ์สติ๊กเกอร์จำนวน 4 ใบ สำหรับติดลงในแบบฟอร์มบันทึกการรายงานค่าวิกฤติ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-010/02) และติดที่อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ, 9 = เตรียมอุปกรณ์สำหรับทำการเพาะเชื้อ



แบบฟอร์ม บันทึกการรายงานค่าวิกฤติ
งานจุลชีววิทยา ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

F-WI-MI-010/02

No.	วัน/เวลาที่พบ	ชนิดสิ่งส่งตรวจ Hemoculture Gram stain	ชนิดสิ่งส่งตรวจ Sterile site	ที่ก. สกุล ว/ต/ป Ward	วัน/เวลาที่แจ้งผล/ผู้แจ้ง	ผู้รับแจ้ง	หมายเหตุ
176	17 มิ.ย. 2565 เวลา 16.35 น.	H 1418	Found Microorganism AFB positive Mod AFB positive	0155	17 มิ.ย. 65 เวลา 15.52 น.	[illegible]	รับยากลับบ้าน นัดตรวจ Refer รพ.อื่น เสียชีวิตแล้ว อื่นๆ
177	18 มิ.ย. 2565 เวลา 2.50 น.	H 1474	Found Microorganism AFB positive Mod AFB positive	0104	18 มิ.ย. 2565 เวลา 3.16 น.	[illegible]	รับยากลับบ้าน นัดตรวจ Refer รพ.อื่น เสียชีวิตแล้ว อื่นๆ
178	[illegible] เวลา 2.57 น.	H 1435	Found Microorganism AFB positive Mod AFB positive	0105	เวลา น.		รับยากลับบ้าน นัดตรวจ Refer รพ.อื่น เสียชีวิตแล้ว อื่นๆ
179	18 มิ.ย. 2565 เวลา 5.13 น.	H 1441	Found Microorganism AFB positive Mod AFB positive	0232	18 มิ.ย. 2565 เวลา 6.15 น.	[illegible]	รับยากลับบ้าน นัดตรวจ Refer รพ.อื่น เสียชีวิตแล้ว อื่นๆ
180	[illegible] เวลา 5.44 น.	H 1495	Found Microorganism AFB positive Mod AFB positive	0262	[illegible] เวลา 6.26-6.43 น.	[illegible]	รับยากลับบ้าน นัดตรวจ Refer รพ.อื่น เสียชีวิตแล้ว อื่นๆ

BLOOD II (เพาะเชื้อ 8-10ml.)

รูปที่ 14 บันทึกการรายงานค่าวิกฤติ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-010/02) ใช้บันทึกหลักฐานการรายงานค่าวิกฤติของงานจุลชีววิทยา ได้แก่ การรายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้นใน hemoculture ขวดที่พบเชื้อ หรือการพบเชื้อในส่วน sterile site เป็นต้น

4) การ Subculture และย้อมสีแกรม เชื้อจากขวด positive

4.1) ใช้ sterile swab ชุบแอลกอฮอล์หรือ alcohol cotton ball เช็ดที่ปากขวด แล้วรอให้แห้ง

4.2) ใช้เข็มฉีดยาดูดเลือดจากขวด หยดลงบน Chocolate agar, 5% sheep blood agar และ MacConkey agar ตามลำดับ

4.3) หยดเลือด 1 - 2 หยดลงบนสไลด์ เสมียร์ และปล่อยให้แห้ง

4.4) นำสไลด์ไปย้อมสีแกรม และตรวจดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ตามวิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีย้อมสีแกรม (Gram Stain) (หมายเลขเอกสาร WI-MI-010)

4.4.1) กรณีย้อมสีแกรมแล้วพบเชื้อ

ให้รายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary Gram stain report) ให้โทรแจ้งแพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบ และบันทึกผลที่ได้ลงในแบบฟอร์มบันทึกการรายงานค่าวิกฤติ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-010/02) (**รูปที่ 14**)

สไลด์ที่ย้อมสีแกรม เมื่ออ่านผลแล้ว ให้เก็บรักษาไว้อย่างน้อย 1 เดือน แล้วจึงทิ้งไปได้

4.4.2) กรณีย้อมสีแกรมแล้วไม่พบเชื้อ และสงสัยว่าเป็นเชื้อกลุ่ม *Mycobacterium*

ให้ทำเสมียร์บนสไลด์อีกหนึ่งสไลด์ และย้อมสี Acid Fast stain ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง วิธีการตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยการย้อมสี Acid Fast stain (หมายเลขเอกสาร WI-MI-011)

กรณีผลการย้อมเป็นบวก ให้โทรแจ้งแพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบ และหากต้องการพิสูจน์ทราบว่าเป็นเชื้อชนิดใดในกลุ่ม *Mycobacterium* ให้เก็บขวดเชื้อนั้นจัดส่งไปตรวจยังหน่วยงานนอกโรงพยาบาล

กรณีผลการย้อมสีแกรมแล้วไม่พบเชื้อ ให้นำขวดกลับเข้าเครื่องหรือใส่ใน Thioglycolate broth เพื่อบ่มเพาะเชื้อต่อไป (อย่างไรก็ตาม หากการบ่มเพาะครบกำหนดเวลาแล้ว หรือนำขวดออกจากเครื่องนานเกิน 2 วัน จะไม่สามารถนำขวดเข้าเครื่องได้อีก)

5) การตรวจจำแนกเชื้อและการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Identification and susceptibility test)

5.1) กรณีเมื่อพบเชื้อที่ subculture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Chocolate agar, 5% sheep blood agar และ MacConkey agar ให้ดำเนินการจำแนกชนิดของเชื้อ Aerobes ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง วิธีการตรวจเพาะเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic culture) (หมายเลขเอกสาร WI-MI-006) โดยหลังจากบ่มเพาะเชื้อเป็นเวลาประมาณ 16-24 ชั่วโมง ดูลักษณะของโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วให้เลือกโคโลนีของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุของการก่อโรคมาจำแนกชนิดของเชื้อ โดยการทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical test) หรือโดยการใช้เครื่อง MALDI Biotyper และทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะตามวิธีการปฏิบัติงานเรื่อง การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ (Susceptibility test) ด้วยวิธี Disk diffusion (หมายเลข

เอกสาร WI-MI-009) โดยใช้วิธีมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) ฉบับ M02 และ M45 ตามลำดับ ทดสอบโดยเจือจางเชื้อให้ได้ความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐานแล้วป้ายเชื้อแบคทีเรียบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำแผ่นยาต้านจุลชีพที่ทราบปริมาณ (โดยอาจใช้เป็น Disk หรือ Tablet) มาวางบนผิววุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเพาะเชื้อตามเวลาที่กำหนด วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญรอบยาต้านจุลชีพ (Inhibition zone) เป็นมิลลิเมตร โดยใช้เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ (Vernier Caliper) ที่สอบเทียบได้มาตรฐานแล้วบันทึกขนาด zone เป็นมิลลิเมตร และแปลผลตามมาตรฐาน CLSI ฉบับ M100 นอกจากนี้ผู้ปฏิบัติงานสามารถเลือกใช้เครื่องอัตโนมัติสำหรับแยกชนิดของเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ (Automate Identification) Phoenix M50 ได้ตามความเหมาะสม

5.2) กรณีไม่พบเชื้อขึ้นที่ subculture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Chocolate agar, 5% sheep blood agar และ MacConkey agar หลังบ่มเพาะ 16 - 24 ชั่วโมง ให้บ่มเพาะต่อไปอีก 2 วัน และนำสไลด์เดิมมาตรวจซ้ำด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้ง ดูลักษณะการเจริญของเชื้อใน Thioglycolate broth ประกอบด้วย แล้วให้โทรแจ้งแพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบ

หากต้องการพิสูจน์ทราบเชื้อในกลุ่ม Anaerobes ให้เก็บเชื้อในหลอด Thioglycolate broth และขวด Hemoculture ที่ให้ผลบวก เพื่อนำส่งตรวจยังหน่วยงานนอกโรงพยาบาล

3.7 กรณีการตรวจและสงสัยว่าเป็น False positive culture อาจเกิดขึ้นได้ตามกรณีดังนี้

3.7.1 ย้อม Gram stain ไม่พบเชื้อ และ subculture หลังจาก 16 - 24 ชั่วโมง ไม่มีเชื้อขึ้น และได้ทดสอบซ้ำ (repeat) แล้ว

3.7.2 ตรวจสอบกราฟในเครื่อง Bactec ^{TM} FX ถ้ากราฟ positive ให้ดูผล White blood cell ประกอบ ถ้าผล White blood cell สูงหรือถ้ากราฟ negative ให้นำขวดกลับเข้าเครื่องใหม่ หากพบว่าเมื่อบ่มจนครบเวลากำหนด เครื่องประเมินให้ผล negative ให้รายงานผล “No growth”

3.8 การบันทึกผลและรายงานข้อมูลในระบบ

เมื่อได้ผลการทดสอบ ให้บันทึกผลการทดสอบทางชีวเคมีและชื่อเชื้อลงในแบบฟอร์มบันทึกผลวินิจฉัยชนิดของเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-017/02) ดัง**รูปที่ 15** และบันทึกผลการวินิจฉัยชนิดของเชื้อและผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพแต่ละชนิดลงในแบบฟอร์มบันทึกผลการตรวจเพาะเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-009/01) ดัง**รูปที่ 9** แล้วจึงนำไปลงผลในโปรแกรม MLAB ซึ่งในระบบข้อมูลจะถูกส่งต่อไปยังระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล ข้อมูลต่าง ๆ จะถูกเก็บสำรอง (Back up) และจัดดัชนีค้นหา (Index) ในโปรแกรม MLAB ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่องการใช้โปรแกรม MLAB (หมายเลขเอกสาร WI-MI-005) โดยทำการ Back up โปรแกรม MLAB เครื่อง Clients ทุกเครื่อง อย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง และ Index ข้อมูลในโปรแกรม MLAB อย่างน้อย 1 เครื่องทุกวัน

รูปที่ 15 แบบฟอร์ม บันทึกผลการวินิจฉัยชนิดของเชื้อ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-017/02) ใช้บันทึกผลการทดสอบทางชีวเคมีและชื่อเชื้อที่พบ

การบันทึกผลและรายงานข้อมูลในระบบ โดยสรุปดังนี้

3.8.1 การรายงานผลย้อมสีแกรม

เมื่อได้ผลการย้อมสีแกรม ให้ดำเนินการดังนี้

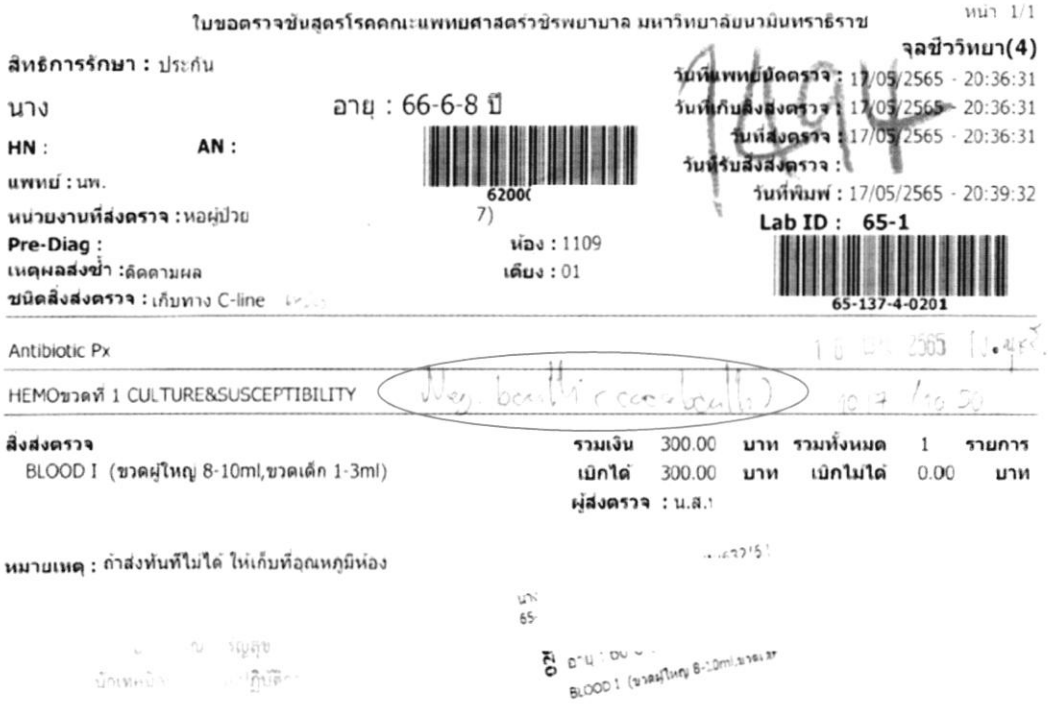
3.8.1.1 จดบันทึกผลการย้อมสีแกรมที่ได้ลงบนใบส่งตรวจ ดัง**รูปที่ 16**

3.8.1.2 รายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary Gram stain report) ในโปรแกรม MLAB ดัง**รูปที่ 17**

3.8.1.3 ส่งข้อมูลเข้า ระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล ดัง**รูปที่ 18**

3.8.1.4 โทรแจ้งไปยังแพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบทันที

3.8.1.5 บันทึกผลในแบบฟอร์มบันทึกการรายงานค่าวิกฤติ (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-010/02) ดัง**รูปที่ 14**



ใบขอตรวจชันสูตรโรคคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช หน้า 1/1

จุลชีววิทยา(4)

สิทธิการรักษา : ประกัน

นาง อายุ : 66-6-8 ปี

HN : AN :

แพทย์ : นพ.

หน่วยงานที่ส่งตรวจ : หอผู้ป่วย

Pre-Diag :

เหตุผลส่งช้า : ติดตามผล

ชนิดสิ่งส่งตรวจ : เก็บทาง C-line

วันที่แพทย์สั่งตรวจ : 17/05/2565 - 20:36:31

วันที่เก็บสิ่งส่งตรวจ : 17/05/2565 - 20:36:31

วันที่ส่งตรวจ : 17/05/2565 - 20:36:31

วันที่รับสิ่งส่งตรวจ :

วันที่พิมพ์ : 17/05/2565 - 20:39:32

Lab ID : 65-1

ห้อง : 1109

เตียง : 01

65-137-4-0201

Antibiotic Px

HEMOขวดที่ 1 CULTURE&SUSCEPTIBILITY

สิ่งส่งตรวจ

BLOOD I (ขวดผู้ใหญ่ 8-10ml,ขวดเด็ก 1-3ml)

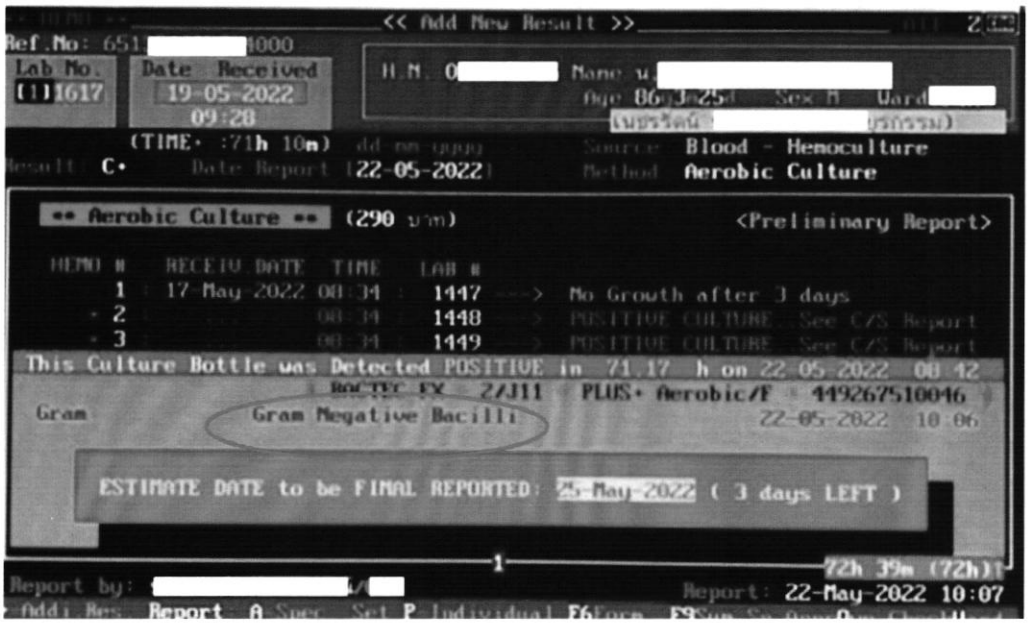
รวมเงิน 300.00 บาท รวมทั้งหมด 1 รายการ

เบิกได้ 300.00 บาท เบิกไม่ได้ 0.00 บาท

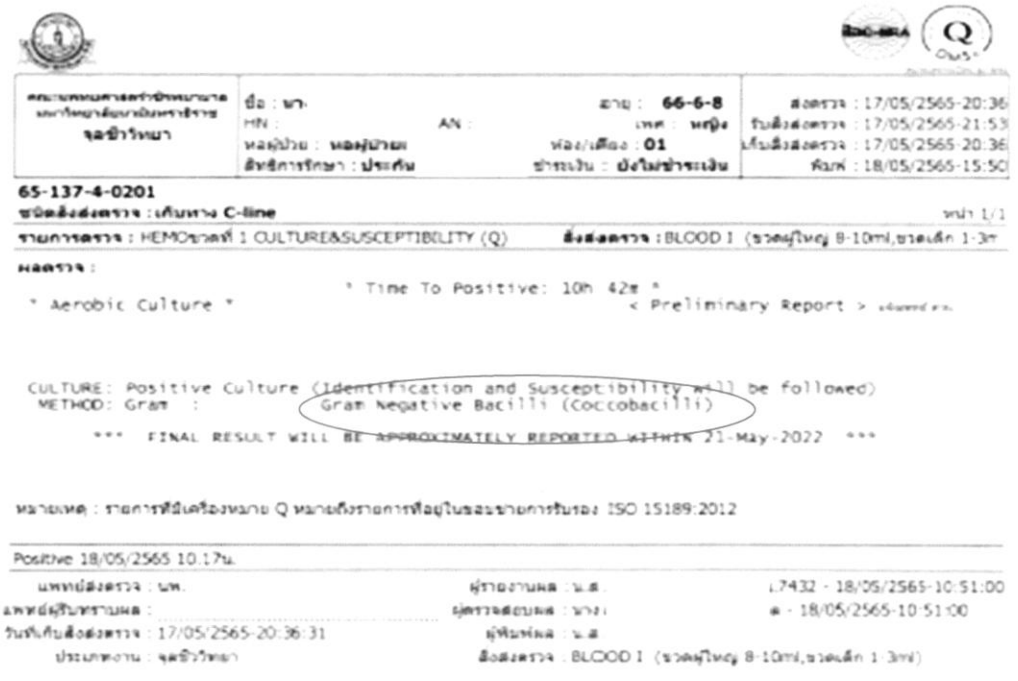
ผู้ส่งตรวจ : น.ส.

หมายเหตุ : ถ้าส่งทันทีไม่ได้ ให้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

รูปที่ 16 การบันทึกผลการย้อมสีแกรมที่ได้ลงบนใบส่งตรวจ เพื่อใช้เป็นหลักฐานการปฏิบัติงาน ส่งต่องาน และตรวจสอบผล ก่อนที่จะนำไปลงผลในโปรแกรม MLAB



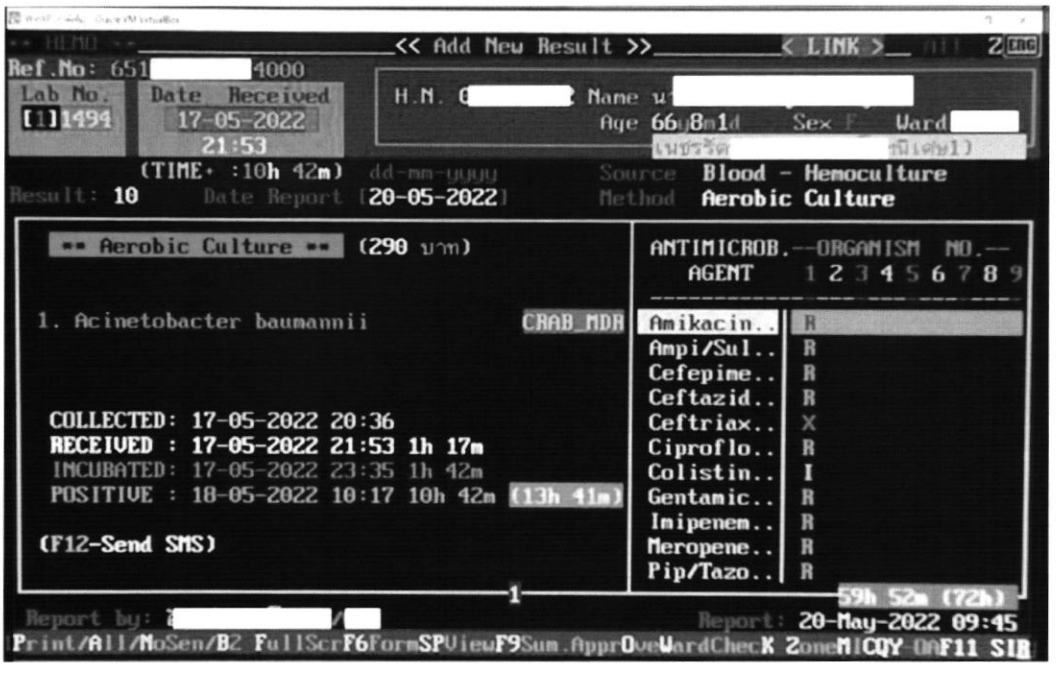
รูปที่ 17 การรายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary report) ในโปรแกรม MLAB โดยใช้เมนู Add New Result ตรวจสอบหมายเลขขวด LN ชื่อ-นามสกุลผู้ป่วยให้ถูกต้องแล้วจึงรายงานผลการติดสี รูปร่างและการเรียงตัวของเชื้อที่พบ



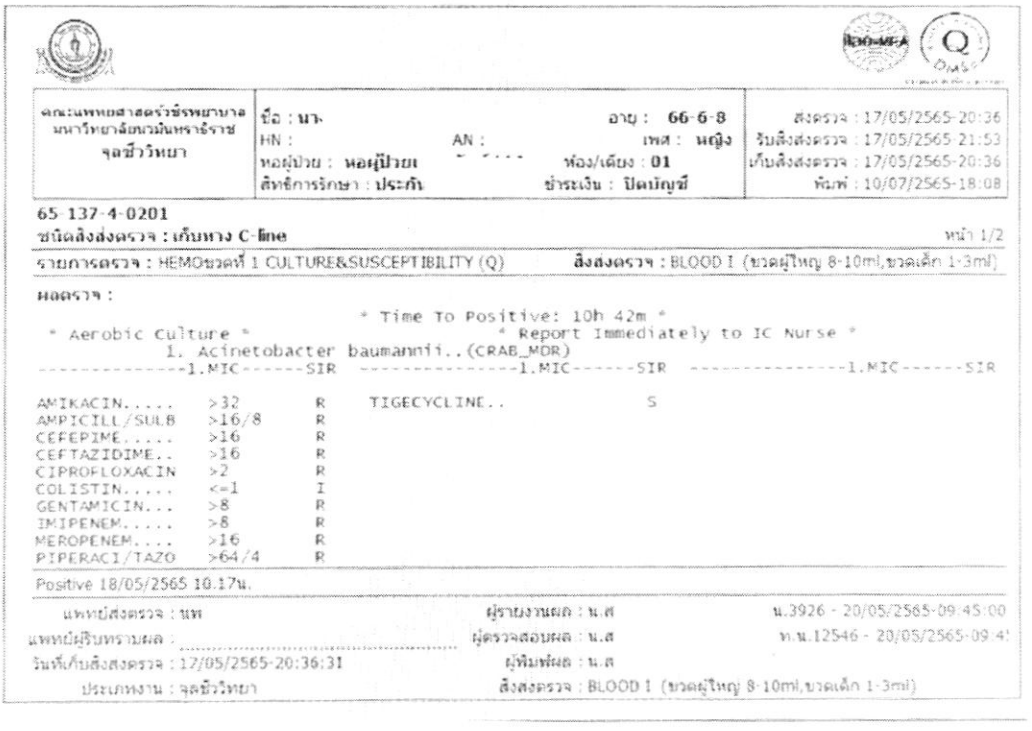
รูปที่ 18 ใบรายงานผลการย้อมสีแกรมเบื้องต้น (Preliminary report) ภายหลังจากส่งข้อมูลเข้าระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล

3.8.2 การรายงานผลการ Subculture และจำแนกชนิดของเชื้อ

เมื่อได้ผลการ Sulculture และจำแนกชนิดของเชื้อแล้ว ให้รายงานผล Final report โดยรายงานชนิดของเชื้อที่ตรวจพบและผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ให้แพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบ และดำเนินการลงผลในโปรแกรม MLAB ซึ่งผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพจะบันทึก zone diameter (หน่วยเป็น mm) หรือรับผลค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ที่ link มาจากเครื่องอัตโนมัติ ซึ่งโปรแกรม MLAB จะแปลผลเป็น S (Susceptible), I (Intermediate), R (Resistant) หรือ N (Non-Susceptible) ให้โดยอัตโนมัติ ดัง**รูปที่ 19** และส่งเข้าระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล ดัง**รูปที่ 20**



รูปที่ 19 การรายงานชนิดของเชื้อที่พบและความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพในโปรแกรม MLAB แล้วส่งข้อมูลต่อไปยังระบบ e-Phis



คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช
จุฬาภรณ์วิทยาลัย

ชื่อ : นาง
HN :
AN :
หอผู้ป่วย : หอผู้ป่วย
สิทธิการรักษา : ประกัน
อายุ : 66-6-8
เพศ : หญิง
ห้อง/เตียง : 01
ชำระเงิน : บัตรบัญชี

สั่งตรวจ : 17/05/2565-20:36
รับสิ่งส่งตรวจ : 17/05/2565-21:53
เก็บสิ่งส่งตรวจ : 17/05/2565-20:36
พิมพ์ : 10/07/2565-18:08

65-137-4-0201
ชนิดสิ่งส่งตรวจ : เก็บทาง C-line
หน้า 1/2

รายการตรวจ : HEMOขวดที่ 1 CULTURE&SUSCEPTIBILITY (Q)
สิ่งส่งตรวจ : BLOOD I (ขวดผู้ใหญ่ 8-10ml,ขวดเด็ก 1-3ml)

ผลตรวจ :

* Time To Positive: 10h 42m *
* Aerobic Culture * * Report Immediately to IC Nurse *
1. Acinetobacter baumannii..(CRAB_MDR)

1.MIC		SIR	1.MIC		SIR	1.MIC		SIR
AMIKACIN.....	>32	R	TIGECYCLINE..		S			
AMPICILL/SULB	>16/8	R						
CEFEPIME.....	>16	R						
CEFTAZIDIME..	>16	R						
CIPROFLOXACIN	>2	R						
COLISTIN.....	<=1	I						
GENTAMICIN...	>8	R						
IMIPENEM.....	>8	R						
MEROPENEM....	>16	R						
PIPERACI/TAZO	>64/4	R						

Positive 18/05/2565 10:17น.

แพทย์สั่งตรวจ : แพ
แพทย์ผู้รับทราบผล : .....
วันที่เก็บสิ่งส่งตรวจ : 17/05/2565-20:36:31
ประเภทงาน : จุฬาภรณ์วิทยา

ผู้รายงานผล : น.ส น.3926 - 20/05/2565-09:45:00
ผู้ตรวจสอบผล : น.ส ท.น.12546 - 20/05/2565-09:4
ผู้พิมพ์ผล : น.ส
สิ่งส่งตรวจ : BLOOD I (ขวดผู้ใหญ่ 8-10ml,ขวดเด็ก 1-3ml)

รูปที่ 20 ใบรายงานผลชนิดของเชื้อที่พบและความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพใน e-Phis

เชื้อที่พบบ่อยในการเพาะเชื้อในเลือด ได้แก่ เชื้อกลุ่ม *Enterobacterales, Staphylococcus aureus, Pseudomonas* spp., *Streptococcus* group A and non-group A *Streptococcus*, viridans group *Streptococcus, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Enterococcus* spp., *Neisseria meningitides* และ *Vibrio* spp. เป็นต้น ส่วนเชื้อประจำถิ่นที่พบได้ เช่น coagulase negative *Staphylococci* ต่าง ๆ เป็นต้น แต่บางกรณีอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ เช่น ผู้ป่วยที่ใส่สายต่าง ๆ เข้าไปในร่างกาย ผู้ป่วยมะเร็ง ผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ เป็นต้น (5) ดังสรุปใน**ตารางที่ 1**

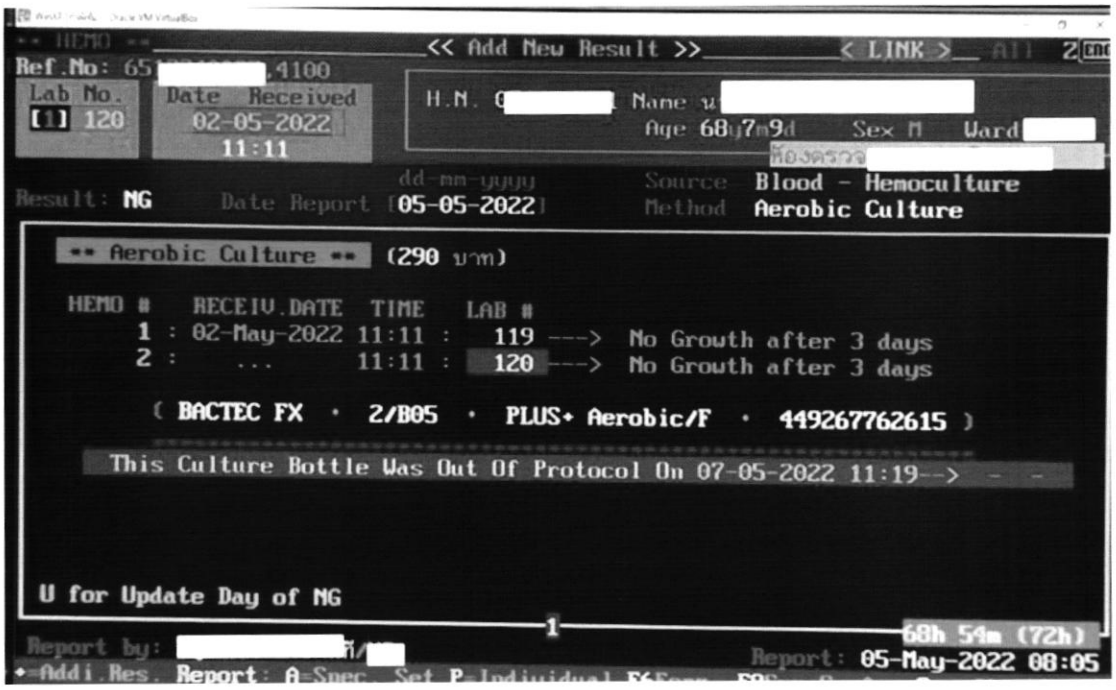
ตารางที่ 1 ตัวอย่างแบคทีเรียที่พบได้ในการเพาะเชื้อในเลือด

Potenial pathogens	Common Contaminants
- *Enterobacterales* - Nonfermentative Gram-negative rods (NFB) - *Vibrionaceae* - *S. aureus* - *Enterococcus* species - Yeasts - Anaerobes เป็นต้น	- Coagulase-negative *Staphylococci* - *Corynebacterium* species expect *C. diptheriae* - *Bacillus* species not *Bacillus anthracis* - *Micrococcus* species

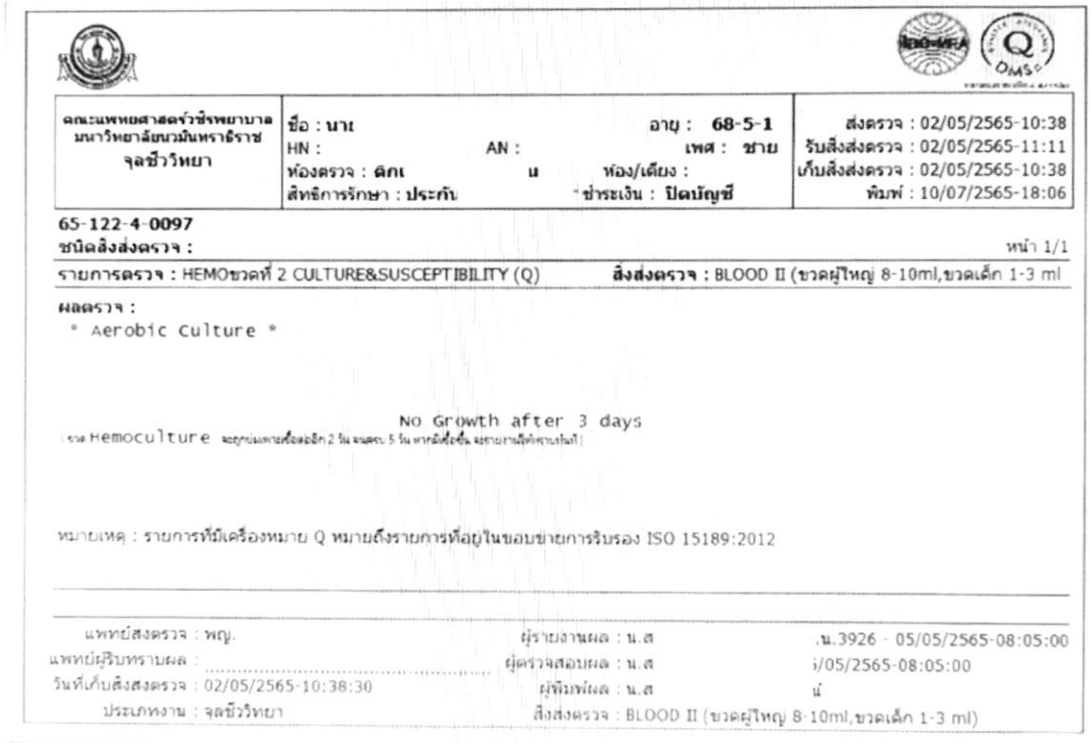
หมายเหตุ: - ถ้าพิสูจน์เชื้อได้เป็น *Micrococcus* species, *Corynebacterium* species ไม่ต้องทดสอบความไวของเชื้อต่อยา ยกเว้นถ้าสงสัย *Corynebacterium diptheriae* ที่อาจเป็นสาเหตุของโรค endocarditis และ catheter associated bacteremia ให้ทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้วย หรือวางยาบางตัวตามกรณีที่แพทย์ต้องการ

- ถ้าพิสูจน์เชื้อได้หรือสงสัยว่าเป็นเชื้อ *Burkholderia pseudomallei,* pathogenic *Neisseria* species ให้โทรแจ้งแพทย์ให้ดูการรายงานผล

กรณีที่ผลการ Subculture พบว่า ไม่มีเชื้อขึ้นหลังจากเพาะเชื้อแล้ว 3 วัน ให้รายงานว่า "No growth after 3 days" โดยลงผลในโปรแกรม MLAB ดัง**รูปที่ 21** และส่งเข้าระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล ดัง**รูปที่ 22** แต่ยังคงทำการเพาะเชื้อในเครื่องต่อไปอีกจนครบ 5 วัน หากผลยังคง Negative จึงนำขวดออกจากเครื่อง (ตามข้อ 3.6.6.1 ดัง**รูปที่ 12**)



รูปที่ 21 การรายงาน No growth after 3 days ในโปรแกรม MLAB แล้วส่งข้อมูลต่อไปยังระบบ e-Phis



รูปที่ 22 ใบรายงานผล No growth after 3 days ใน e-Phis

3.8.3 การรายงานผลย้อม AFB

ในการตรวจหาเชื้อ AFB และให้ผลบวก ให้ดำเนินการดังนี้

3.8.3.1 รายงานผลการตรวจในโปรแกรม MLAB ว่า "Positive for Acid Fast Bacilli"

3.8.3.2 ส่งเข้าระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล

3.8.3.3 โทรแจ้งไปยังแพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบ และสอบถามว่าต้องการส่งพิสูจน์เชื้อในกลุ่ม *Mycobacterium* หรือไม่ หากต้องการ ให้เก็บขวดที่ให้ผลบวกนั้น ไว้ให้แพทย์

3.8.4 การรายงานผลตรวจ Anaerobes

ในการตรวจหาเชื้อ Anaerobic bacteria และให้ผลบวก ให้ดำเนินการดังนี้

3.8.4.1 รายงานผลการตรวจในโปรแกรม MLAB ว่า "Anaerobic bacteria"

3.8.4.2 ส่งเข้าระบบ e-Phis ของโรงพยาบาล

3.8.4.3 โทรแจ้งไปยังแพทย์เจ้าของผู้ป่วยทราบ และสอบถามว่าต้องการส่งพิสูจน์เชื้อในกลุ่ม Anaerobic bacteria หรือไม่ หากต้องการ ให้เก็บขวดที่ให้ผลบวกนั้น ไว้ให้แพทย์

3.9 การทิ้งขวด negative หรือ positive ให้ปฏิบัติดังนี้

3.9.1 การทิ้งขวด negative: ทุกเช้าผู้ที่ได้รับมอบหมายนำขวดที่ทิ้งลงในกล่องเก็บขวด negative ไปกำจัดทิ้งตามขั้นตอนในวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การกำจัดและทำลายสิ่งส่งตรวจ (หมายเลขเอกสาร WI-MI-025) โดยทิ้งใส่ถุงขยะสีแดงสำหรับขยะติดเชื้อ และกำจัดทิ้งตามระบบของโรงพยาบาล

3.9.2 การทิ้งขวด positive: เมื่อออกผลสุดท้าย (Final report) หลังจากทำการพิสูจน์ชนิดของเชื้อ และ/หรือ ทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพเรียบร้อยแล้ว ให้เก็บขวดที่ positive ไว้ในกล่อง positive เป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน เมื่อครบกำหนดแล้ว ผู้ที่ได้รับมอบหมายนำขวดเหล่านั้นไปกำจัดทิ้ง ตามขั้นตอนในวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การกำจัดและทำลายสิ่งส่งตรวจ (หมายเลขเอกสาร WI-MI-025) โดยทิ้งใส่ถุงขยะสีแดงสำหรับขยะติดเชื้อ และกำจัดทิ้งตามระบบของโรงพยาบาล

3.10 การควบคุมคุณภาพ

3.10.1 การควบคุมคุณภาพภายใน

เพื่อเป็นการติดตามและควบคุมกระบวนการทั้งหมดให้มีความถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือ งานจุลชีววิทยามีกระบวนการดำเนินการควบคุมคุณภาพภายใน 6 ข้อ คือ การควบคุมคุณภาพเครื่องอัตโนมัติ การควบคุมคุณภาพของบุคลากร การควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารทดสอบทางชีวเคมี การควบคุมคุณภาพของสีย้อมและการย้อมสี การควบคุมคุณภาพของแผ่นยาต้านจุลชีพ และการควบคุมคุณภาพของเครื่องมือที่ใช้ในงานจุลชีววิทยา ซึ่งแต่ละข้อมีแนวทางการควบคุมคุณภาพดังต่อไปนี้

3.10.1.1 การควบคุมคุณภาพเครื่อง Bactec ™ FX โดยการทำ Blind subculture โดยปกติน้ำยาทุกกล่องมีการรับรองคุณภาพ (Product quality assurance) ที่ระบุชนิดของเชื้อที่ทำการทดสอบและการยอมรับของการทดสอบจากบริษัทแล้ว (11) แต่อย่างไรก็ตาม ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยามีการทำ Blind subculture ในขวด hemoculture ที่บ่มเพาะเชื้อจนครบ 5 วันแล้วให้ผลเป็น negative โดยสุ่มเลือกขวดเหล่านั้นมาอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 - 4 ขวด

เพื่อ subculture ลงบน Chocolate agar (CA) แล้วบ่มเพาะเชื้อไว้ที่ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 34 - 36°C + 5% CO_2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ให้ตรวจดูการเจริญของเชื้อ ถ้าไม่พบเชื้อให้บ่มเพาะเชื้อต่อจนครบ 48 ชั่วโมง จากนั้นถ้ายังไม่พบเชื้อขึ้นให้บันทึกผลลงในแบบฟอร์มรายงานผลการทำ Blind test ของขวด Hemoculture (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-007/01) ดัง**รูปที่ 23** ในกรณีเกิด false negative กล่าวคือ ถ้าพบว่ามีเชื้อขึ้นจากการทำ Blind subculture ซึ่งไม่ใช่มาจาก contamination ให้หยุดการใช้งานและติดต่อบริษัท เพื่อหาแนวทางการแก้ไขต่อไป

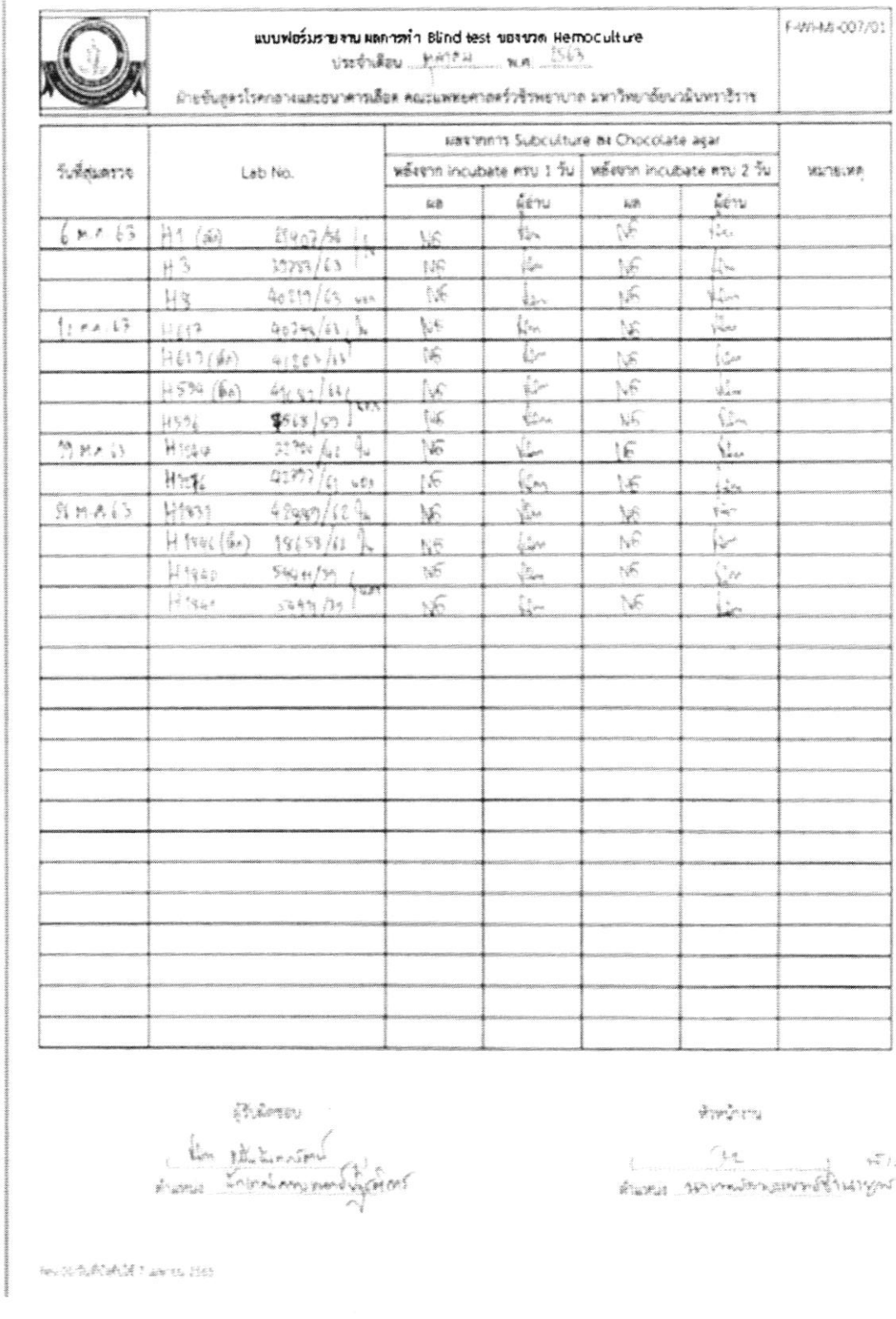
3.10.1.2 จัดให้มีการควบคุมคุณภาพของบุคลากรในการทดสอบการเพาะเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อ โดยผู้ปฏิบัติงานจะต้องผ่านการประเมินความสามารถตามเกณฑ์วิธีการประเมินบุคลากรผู้ปฏิบัติงานจุลชีววิทยาตามคู่มือเรื่อง การประเมินความสามารถบุคลากร (หมายเลขเอกสาร M-LAB-03)

3.10.1.3 จัดให้มีการควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารทดสอบทางชีวเคมี ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical test) (หมายเลขเอกสาร WI-MI-017)

3.10.1.4 จัดให้มีการควบคุมคุณภาพของสีย้อมและการย้อมสี ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง วิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีย้อมสีแกรม (Gram Stain) (หมายเลขเอกสาร WI-MI-010)

3.10.1.5 จัดให้มีการควบคุมคุณภาพของแผ่นยาต้านจุลชีพ ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ (Susceptibility test) ด้วยวิธี Disk diffusion (หมายเลขเอกสาร WI-MI-009) และมีการทบทวนความถูกต้องของการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ ตามเอกสาร Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ทุกปี

3.10.1.6 จัดให้มีการควบคุมคุณภาพของเครื่องมือที่ใช้ในงานจุลชีววิทยา ตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง วิธีการใช้และดูแลรักษาเครื่องมือของงานจุลชีววิทยา (หมายเลขเอกสาร WI-MI-020) วิธีปฏิบัติงานเรื่อง การสอบเทียบ การควบคุมเครื่องตรวจ เครื่องวัดและเครื่องทดสอบ (หมายเลขเอกสาร WI-MI-021) และวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การซ่อมและบำรุงรักษาเครื่องมือทางการแพทย์ (หมายเลขเอกสาร WI-MI-022)



แบบฟอร์มรายงานผลการทำ Blind test ของขวด Hemoculture

ประจำเดือน พ.ศ. 2563

ภาควิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

F-WI-MI-007/01

วันที่ตรวจ	Lab No.	ผลจากการ Subculture ลง Chocolate agar				หมายเหตุ
		หลังจาก incubate ครบ 1 วัน		หลังจาก incubate ครบ 2 วัน		
		ผล	ผู้อ่าน	ผล	ผู้อ่าน	
6 พ.ค. 63	H1 (60) 25407/56	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H3 32783/63	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H8 40819/63	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
7 พ.ค. 63	H617 40744/61	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H617 (60) 41565/61	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H594 (60) 41652/61	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H594 [illegible]	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
9 พ.ค. 63	H[illegible] [illegible]	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H[illegible] 42377/61	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
11 พ.ค. 63	H[illegible] 42989/62	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H1946 (60) 18658/61	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H1946 [illegible]	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	
	H1946 [illegible]	ไม่พบ	[illegible]	ไม่พบ	[illegible]	

ผู้รับผิดชอบ

ตำแหน่ง

ผู้ตรวจงาน

ตำแหน่ง

รูปที่ 23 แบบฟอร์มรายงานผลการทำ Blind test ของขวด Hemoculture (หมายเลขเอกสาร F-WI-MI-007/01)

3.10.2 การควบคุมคุณภาพภายนอก

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเข้าร่วมเป็นสมาชิกการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์กับสำนักมาตรฐาน ห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยทำการทดสอบปีละ 3 ครั้ง

3.10.3 การประเมินผลการควบคุมคุณภาพ

3.10.3.1 การประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายใน สำหรับผู้ปฏิบัติงานจะต้องผ่านการประเมินความสามารถตามเกณฑ์วิธีการประเมินบุคลากรผู้ปฏิบัติงานจุลชีววิทยาตามคู่มือเรื่อง การประเมินความสามารถบุคลากร (หมายเลขเอกสาร M-LAB-03) และเก็บข้อมูลไว้ในแฟ้มแบบประเมินคุณภาพภายในของเจ้าหน้าที่งานจุลชีววิทยา (หมายเลขเอกสาร SD-MI-004) การประเมินผลคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารทดสอบทางชีวเคมี สีย้อมและการย้อมสี และแผ่นยาต้านจุลชีพ ต้องผ่านมาตรฐานตามเกณฑ์การทดสอบ และเก็บข้อมูลไว้ในแฟ้มใบบันทึกการควบคุมคุณภาพ (ยาต้านจุลชีพ การย้อมสี อาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารทดสอบทางชีวเคมี) (หมายเลขเอกสาร SD-MI-005) มีการควบคุมอุณหภูมิของตู้เย็นและตู้บ่มเพาะเชื้อ และเก็บไว้ในแฟ้มใบบันทึกอุณหภูมิเครื่องมือประจำวัน (หมายเลขเอกสาร SD-MI-006)

3.10.3.2 การประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายนอก ปฏิบัติตามวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยองค์กรภายนอก (External Quality Assessment; EQA) (หมายเลขเอกสาร WI-MI-016) และเก็บข้อมูลไว้ในแฟ้ม External Quality Control (EQC) (หมายเลขเอกสาร SD-MI-003)

บทที่ 4
ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข

สิ่งที่เป็นปัญหาและอุปสรรคสำหรับการตรวจหาแบคทีเรียในเลือดโดยการใช้เครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX นอกจากผู้ปฏิบัติงานที่จะต้องมีความรู้ด้านจุลชีววิทยาโดยเฉพาะแล้ว ประการสำคัญคือประสบการณ์ของผู้ที่ทำการทดสอบและอ่านผล ขึ้นอยู่กับความแม่นยำในการทดสอบ ส่วนประการอื่นที่ไม่ได้เกิดจากผู้ปฏิบัติงานก็คือ ความพร้อมของเครื่องอัตโนมัติ เครื่องมือ น้ำยา อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดสอบ ข้อจำกัดของการทดสอบ หรือสิ่งรบกวนการวิเคราะห์ที่สามารถพบได้แก่ Contamination, Volume of White blood cell เป็นต้น เนื่องจากเครื่องอัตโนมัติใช้การตรวจหาก๊าซที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อ จึงสามารถเกิดผลบวกปลอมและลบปลอมได้ ดังนั้นในสิ่งส่งตรวจที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงจึงให้ผลเป็นบวกได้แม้ว่าจะไม่มีเชื้ออยู่ ทั้งนี้หลัก ๆ สามารถแบ่งปัญหาหรืออุปสรรคที่พบออกเป็น ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิคและปัญหาหรืออุปสรรคจากเครื่อง ดังสรุปได้ใน**ตารางที่ 2** พร้อมแนวทางแก้ไข

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
1) ปัญหาในขั้นตอนการเจาะเก็บเลือดเพื่อเพาะเชื้อ	ขาดความรู้ความเข้าใจในการเก็บสิ่งส่งตรวจ ไม่ทราบว่าจะต้องเจาะเลือดช่วงเวลาไหน	ให้ความรู้โดย - จัดให้มีการอบรมการเก็บสิ่งส่งตรวจ - จัดทำคู่มือการเก็บสิ่งส่งตรวจ - ควรเจาะช่วงที่เริ่มมีไข้ เนื่องจากเป็นระยะที่มีการแบ่งตัวของเชื้อในเลือดจำนวนมาก (3-4) - ควรเจาะเลือดก่อนรับยาปฏิชีวนะ (3-4, 8, 15) - กรณีได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนควรเจาะเร็วที่สุดหลังรับยาหรือเจาะที่ 15 นาทีก่อนรับยาปฏิชีวนะครั้งต่อไป (3-4)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
1) ปัญหาในขั้นตอนการเจาะเก็บเลือดเพื่อเพาะเชื้อ (ต่อ)	ไม่ทราบว่าควรจะเจาะจำนวนกี่ขวด	- กรณีไม่เร่งด่วน เจาะเลือด 2 ครั้ง ห่างกัน 15 - 30 นาที (3) - กรณีต้องรีบให้ยาปฏิชีวนะ สามารถเจาะเลือดพร้อมกันจากตำแหน่งที่ต่างกัน (3-4) - ถ้าสงสัยการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจและภาวการณ์ติดเชื้อในกระแสเลือดแบบต่อเนื่อง (Persistent bacteremia) เจาะอย่างน้อย 2 ขวดห่างกัน 12 ชั่วโมง (3-4)
	ไม่ทราบว่าการเจาะเลือดเด็กมีแนวทางอย่างไร	- ในเด็กปริมาณเลือดที่เจาะเก็บขึ้นอยู่กับอายุและน้ำหนัก (16) - ผู้ป่วยเด็กที่ไม่ได้สงสัยภาวะติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจ อาจเจาะเลือดเพียงครั้งเดียวได้ เพราะเจาะเลือดในเด็กยาก แต่หากสงสัยภาวะติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจควรเจาะเลือดเพาะเชื้ออย่างน้อย 2 ครั้ง (โดยไม่ใช่แบ่งเลือดส่ง 2 ขวด จากการเจาะครั้งเดียว) ห่างกันไม่เกิน 24 ชั่วโมง (4) - ขวดเพาะเชื้อสำหรับเด็กมีการออกแบบมาเพื่อรองรับปริมาณที่ลดลงและมีการเติมสารที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเชื้อที่พบได้บ่อยในเด็ก (16)
	ลำดับการเจาะเลือดใส่ขวดเพื่อเพาะเชื้อหรือหลอดเลือดอื่นไม่ถูกต้อง	- ถ้าเจาะเลือดร่วมกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ต้องใส่เลือดลงในขวดเพาะเชื้อก่อนเสมอ (4)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
2) เชื้อที่ไวต่อ SPS เช่น *Neisseria* spp. หรือ *Peptostreptococcus anaerobius* โตได้ไม่ดีหรือเพาะไม่ขึ้น	SPS ซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อในขวด hemoculture มีความเป็นพิษต่อเชื้อดังกล่าวจึงส่งผลกระทบกับการโตของเชื้อ	เลือดสามารถ neutralize ความเป็นพิษของ SPS ได้ ดังนั้นจึงควรใส่เลือดในปริมาณที่เหมาะสมตามชนิดของขวดที่ใช้ กรณีที่ต้องการเพาะเชื้อที่ไวต่อ SPS ถ้าเจาะได้ปริมาณเลือดน้อยกว่า 8 มล. ให้ใส่เลือดเพิ่ม (7, 11-12)
3) เชื้อ Fastidious เช่น *Haemophilus* spp. ขาด growth factor เช่น NAD หรือ factor V ที่มีอยู่ในเลือด	เชื้อ Fastidious เช่น *Haemophilus* spp. ต้องการ growth factor เช่น NAD หรือ factor V ที่มีอยู่ในเลือด ถ้าเจาะเลือดได้ปริมาณน้อย จึงส่งผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อได้เนื่องจากขาดแคลนสารดังกล่าว	ต้องได้ปริมาณเลือด 3 มล. ในขวด Bactec PLUS Aerobic/ F หรือ 0.5 มล. ในขวด Bactec PEDS PLUS/ F ให้เติมเลือดครบส่วนเพิ่มลงไปอีก หรือเติม BACTEC BRAND POS fastidious Organism Supplement (Cat No # 442153) (11-12)
4) การตรวจหาเชื้อ *Streptococcus pneumoniae* บางกรณีอาจตรวจไม่พบโดยการย้อมสี Gram stain หรือการ subculture แบบปกติ	*S. pneumoniae* อาจจะโตได้ในสภาวะ aerobic หรือ anaerobic ก็ได้	ลองทำการ subculture แบบ aerobic โดยใช้เชื้อจากขวด Anaerobic เนื่องจากมีรายงานว่าเชื้อสามารถเติบโตได้ดีภายในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจน (13)
5) Recovery rate และเวลาในการพบเชื้อ ไม่ดี ล่าช้า	ปริมาณเลือดที่น้อยเกินไปหรือมากเกินไปจากที่บริษัทแนะนำส่งผลให้เชื้อเติบโตได้ไม่ดีและระยะเวลาในการตรวจหาเชื้อนานขึ้น	เจาะเลือดให้ได้ปริมาณที่เหมาะสม เพราะปริมาณเลือดที่เหมาะสมช่วยให้เชื้อเติบโตได้อย่างเหมาะสม ส่งผลต่อการตรวจพบเชื้อ Recovery rate และระยะเวลาในการพบเชื้อ เนื่องจากเชื้อจะสามารถโตได้อย่างเหมาะสมเมื่อใส่เลือดในปริมาณสูงสุดตามคำแนะนำของบริษัท (11-12, 15)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
6) ขวด BD BACTEC Myco/F Lytic มีข้อจำกัดการใช้งาน	- ถ้าใส่เลือดน้อยกว่า 3 มล. อาจทำให้ตรวจหาเชื้อ *M. intracellulare, M. malmoense, M. haemophilum* และ *M. xenopi* ล่าช้าหรือบกพร่องไป - ถ้าใส่เลือดมากกว่า 5 มล. มักจะให้ผลบวกปลอม - เชื้อ *Penicillium purpurescens* และ *Blastomyces dermatitidis* ไม่สามารถใช้ขวด BD BACTEC Myco/F Lytic ได้ - *Hansenula anomala, Exophiala jeamselmei, Actinomyces bovis, Rhodotorula rubra* และ *Mucor ramosissimus* จะให้ผลที่ไม่สอดคล้องเมื่อมีเชื้อปริมาณต่ำ (<10 CFU/vial) (14)	- เจาะเลือดให้ได้ปริมาณระหว่าง 3 - 5 มล. - เจาะเลือดให้ได้ปริมาณระหว่าง 3 - 5 มล. - ใช้การเพาะเลี้ยงด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม - ใช้การเพาะเลี้ยงด้วยวิธีอื่นควบคู่ไปด้วยเพื่อดูความสอดคล้องของผลที่ได้ (14)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
7) ผลลบปลอม (False Negative)	- ในเลือดมียาปฏิชีวนะหรือสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ	- ควรเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารยับยั้งการทำงานของยาปฏิชีวนะ หลายบริษัทจะใส่ resins ในขวดเพาะเชื้อเพื่อดูดซับยาปฏิชีวนะและลดการออกฤทธิ์ต่อเชื้อในขวดเพาะเชื้อ ขึ้นอยู่กับปริมาณยาและเวลาที่เก็บสิ่งส่งตรวจ (11-12, 15)
	- ปริมาณของเลือดที่เก็บได้ไม่เหมาะสม	- ใส่เลือดในปริมาณที่เหมาะสม อัตราส่วนที่แนะนำคือ 1:10 ถึง 1:5 ของเลือดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อประสิทธิภาพการเติบโตของเชื้อ ถ้าได้เลือดมากเกินกว่าปริมาณที่แนะนำ อาจยับยั้งการเจริญเติบโตเนื่องจากเชื้อโตได้ไม่ดี (7, 11-12, 15, 17)
	- เชื้อสร้างก๊าซ CO_2 ได้น้อยกว่าที่เครื่องจะสามารถตรวจจับได้ หรือมีการทิ้งขวดไว้ข้างนอกเครื่องนานจนเชื้อโตก่อนที่จะนำเข้าสู่ระบบตรวจสอบ (15)	- รีบส่งขวดเพาะเชื้อถึงห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการรีบนำขวดเข้าเครื่องอัตโนมัติ
8) ผลบวกปลอม (False Positive)	- ในเลือดมีจำนวนเม็ดเลือดขาวสูง เช่น ให้ใช้เลือด 1 - 5 มล. แต่ที่เหมาะสมคือ 3 - 5 มล. หากใส่เลือดมากกว่า 5 มล. อาจเกิด false positive ได้	- ใส่เลือดในปริมาณที่เหมาะสมตามชนิดของขวดที่ใช้
	- การปนเปื้อนเชื้อ หรือ contamination	- เตรียมผู้ป่วยโดยทำความสะอาดผิวหนังก่อนเจาะเก็บสิ่งส่งตรวจอย่างถูกวิธี รวมทั้งตรวจสอบความสะอาดของอุปกรณ์และสถานที่ที่ใช้เจาะด้วย ความถี่ของการปนเปื้อนจะลดลงได้บ้างจากขั้นตอนการเจาะเก็บเลือดที่ถูกต้อง อัตราการปนเปื้อนที่ CLSI ยอมรับได้คือ น้อยกว่า 3% จากการเพาะเชื้อในเลือดทั้งหมด (17)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
8) ผลบวกปลอม (False Positive) (ต่อ)	- การปนเปื้อนเชื้อ หรือ contamination (ต่อ)	- ใช้ตัวบ่งชี้เพื่อช่วยแยก probable pathogen ออกจาก contamination ○ **ความถี่ของการพบมีเชื้อขึ้นในขวดจากจำนวนขวดที่ทำการเพาะเชื้อ** (positive bottles among collection) กรณีที่พบเชื้อเพียง 1 ใน 2 ขวด มักจะเป็นการปนเปื้อนจากการเชื้อบริเวณผิวหนังมากกว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด (3, 15) การเก็บแยก 2 ครั้ง คนละตำแหน่ง จะช่วยแยกเชื้อจริงและเชื้อปนเปื้อนได้ เนื่องจากเชื้อที่ปนเปื้อนมักพบเพียงขวดเดียว ไม่ได้พบเชื้อเดียวกันในหลายขวดแบบเชื้อที่ก่อโรคจริง (3, 16) ○ **ชนิดของเชื้อที่พบ** เชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนังมักจะเป็น coagulase-negative *Staphylococcus* หรือ *Bacillus* spp. มักจะเป็นเชื้อปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม แสดงว่ามีการปนเปื้อนที่ตำแหน่งเจาะเลือดและทำความสะอาดผิวหนังไม่ดี แต่บางครั้งเชื้อเหล่านี้อาจเป็นเชื้อก่อโรคได้ด้วย (3, 15, 18) ○ **จำนวน species ที่แยกได้จากเลือดแต่ละขวด** เชื้อที่เพาะได้หลายตัว (multiple organisms isolates) มักสัมพันธ์กับการปนเปื้อน เนื่องจากทำความสะอาดผิวหนังไม่ดี การติดเชื้อในเลือดมักพบเชื้อเพียงชนิดเดียว (3)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคทางเทคนิค		
8) ผลบวกปลอม (False Positive) (ต่อ)	- การปนเปื้อนเชื้อ หรือ contamination (ต่อ)	- ใช้ตัวบ่งชี้เพื่อช่วยแยก probable pathogen ออกจาก contamination (ต่อ) ○ **จำนวนและชนิดของเม็ดเลือดขาวในเลือด** ขณะที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดผู้ป่วยที่มีภูมิต้านทานปกติ ถ้ามี left shift (>10% bands) โดยจำนวนเม็ดเลือดขาวไม่เพิ่มขึ้นมักมีความสัมพันธ์กับ positive blood culture (3) ○ **อาการแสดงของผู้ป่วย** เช่น มีไข้สูง หรือไข้ต่ำ ๆ (3) ○ **ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจนตรวจพบเชื้อ** ถ้าเจาะเลือดได้เพียงพอเวลาที่เชื้อแบ่งตัวจนตรวจพบเชื้อได้มักไม่เกิน 48 ชั่วโมง กรณีที่มีเชื้อปริมาณมาก จะตรวจพบ positive culture ได้เร็ว ถ้าตรวจพบได้ช้าชี้บ่งว่ามีเชื้อปริมาณน้อยมากที่เข้าไปในขวดซึ่งมักมีความจำเพาะคือไม่มีเชื้อในเลือดแต่มีการปนเปื้อนในขวดเลือดจากเชื้อภายนอก (3)
9) เพาะเชื้อไม่ขึ้น	เชื้อบางชนิดไม่สามารถเพาะได้ด้วยวิธีเพาะเชื้อทั่วไป (11-12)	เชื้อที่เพาะยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อกลุ่ม fastidious เช่น *Brucella* และ *Mycobacterium* ที่ต้องใช้เวลาเพาะเชื้อนาน หรือต้องใช้อาหารพิเศษในการเพาะเชื้อ หรือเพาะเชื้อไม่ได้ จำเป็นที่จะต้องใช้วิธีการตรวจอื่น ๆ (11-12, 15) เช่น การตรวจทาง serology หรือการตรวจทาง molecular เช่น PCR กรณีที่ติดเชื้อนั้น ๆ ทำให้ผลเพาะเชื้อเป็นลบ (15)

ตารางที่ 2 ปัญหา อุปสรรคและแนวทางแก้ไข (ต่อ)

ปัญหา	อุปสรรค	แนวทางแก้ไข
ปัญหาหรืออุปสรรคจากเครื่อง		
1) เครื่องแจ้งเตือนว่าพบเชื้อ แต่ย้อมไม่พบเชื้อ	สงสัยผลบวกปลอม	สังเกต growth curve จากเครื่อง ช่วยแยกความแตกต่างระหว่างผลบวกจริงและผลบวกปลอมได้ แต่การย้อมแกรมและการเพาะเชื้อยังจำเป็นที่จะต้องทำเมื่อเครื่องให้ผลเป็นบวก (8)
2) Rack offline หรือความไม่เสถียรในการส่งสัญญาณของแต่ละ rack	การวัดสัญญาณของขวดที่อยู่ใน rack ดังกล่าวไม่ต่อเนื่องก่อให้เกิดผลบวกปลอมได้	ให้สแกนขวดออกจากเครื่อง และสแกนออกจากโปรแกรม MLAB ด้วย จากนั้น reload กลับเข้าเครื่องไปใหม่โดยย้ายช่องไปใส่ตำแหน่งอื่น จากนั้นให้แก้ไขโดยเสียบ flash drive แล้วไปที่ maintenance เลือก Utilities แล้วเลือก BD Utilities กดเลือกคำสั่ง change rack เลือกตำแหน่ง drawer และ rack ที่มีปัญหา รอจนสัญญาณไฟสีเหลืองที่หน้าเครื่องหายไปแล้วจึงเคลียร์ข้อความที่แจ้งเตือนหน้าจอออก หลังจากที่ทำตามแนวทางเบื้องต้นนี้แล้วยังแก้ไขไม่ได้ ให้ติดต่อช่างประจำเครื่องมาตรวจสอบเครื่อง เพื่อหาสาเหตุและแก้ไขหรือเปลี่ยนอุปกรณ์ให้
3) สัญญาณอินเตอร์เน็ตขัดข้อง	ระบบการเชื่อมต่อและส่งสัญญาณระหว่าง Epicenter, โปรแกรม MLAB และเครื่อง Bactec ™ FX ล่มหรือขัดข้อง	ลอง Restart Epicenter และโปรแกรม MLAB และ Reboot เครื่อง Bactec ™ FX เมื่อระบบเชื่อมต่อกลับเป็นปกติแล้ว สัญญาณไฟสีเหลืองที่หน้าเครื่องหายไปแล้ว ให้ตรวจสอบอีกครั้งว่าระบบปกติหรือไม่ ถ้ายังไม่สามารถแก้ไขได้ให้ติดต่อช่างประจำเครื่องมาตรวจสอบเครื่อง และติดต่อ IT โรงพยาบาลเพื่อร่วมกันหาสาเหตุและแก้ไขต่อไป

บทที่ 5
ข้อเสนอแนะ

คู่มือการปฏิบัติงานเรื่อง วิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในเลือดโดยเครื่องอัตโนมัติ Bactec ™ FX ได้รวบรวมเนื้อหาหลักการและกระบวนการปฏิบัติงานต่าง ๆ ที่จำเป็นในการปฏิบัติงาน เพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานมีความรู้ความเข้าใจในหลักการของเครื่อง มีแนวทางที่เป็นมาตรฐานเดียวกันในการตรวจเพาะเชื้อในเลือด ใช้งานและดูแลรักษาเครื่องได้อย่างถูกต้อง ทราบถึงปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นได้ แล้วสามารถแก้ไขหาสาเหตุของปัญหาเหล่านั้นในเบื้องต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อผู้ปฏิบัติงานสามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม แพทย์จะเชื่อมั่นในผลการเพาะเชื้อนำไปสู่ผลการรักษาที่ดี สามารถลดการใช้ยาเกินความจำเป็นหรือการใช้ยาที่ไม่เหมาะสมในการรักษา ผู้ป่วยมีความปลอดภัย ลดระยะเวลาการนอนโรงพยาบาลและลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยอันเนื่องมาจากการติดเชื้อในกระแสเลือดได้มากขึ้น

เพื่อให้การปฏิบัติงานตามคู่มือเล่มนี้เป็นไปอย่างมีคุณภาพและเกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้น ผู้ที่เกี่ยวข้องตั้งแต่ ผู้ปฏิบัติงาน หัวหน้างาน จนถึงผู้บริหาร ควรดำเนินการตามข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

5.1 ข้อเสนอแนะสำหรับผู้ปฏิบัติงาน

ผู้ปฏิบัติงานมีข้อควรคำนึงและปฏิบัติในการปฏิบัติงาน ดังนี้

5.1.1 ปฏิบัติตามพันธกิจ มาตรการหรือนโยบายต่าง ๆ ของฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด และคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

5.1.2 ทบทวนความรู้ความเข้าใจในหลักการและขั้นตอนการปฏิบัติงานให้เป็นปัจจุบันอยู่เสมอ เพื่อให้สามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้อง

5.1.3 ไม่ประมาท ตระหนักถึงความปลอดภัยในการปฏิบัติงาน ใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ป้องกันอย่างถูกวิธี เพื่อป้องกันการติดเชื้อสู่ผู้ปฏิบัติงานและป้องกันการฟุ้งกระจายเชื้อสู่สิ่งแวดล้อมขณะที่ปฏิบัติงาน

5.1.4 ให้ความสำคัญกับการปฏิบัติงาน ดังนี้ เมื่อได้รับขวดตามระบบแล้วต้องนำเข้าเครื่องทันที เพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมและการเขย่าขวดจะช่วยให้เชื้อแบ่งตัวได้ไวขึ้น subculture ทันทีเมื่อเครื่องส่งสัญญาณเตือน เมื่อเลือดที่เสมียร์ไว้แห้งต้องรีบย้อมแกรม อ่านผล และรายงานผลให้แพทย์ทราบทันที เพราะการรู้ว่ามีเชื้อขึ้นและรู้ลักษณะของเชื้อจะช่วยให้แพทย์เลือกใช้สารต้านจุลชีพได้เหมาะสมมากขึ้น ซึ่งอาจสามารถช่วยชีวิตผู้ป่วยได้ทันท่วงทีหรือลดความรุนแรงของโรคได้ เมื่อแจ้งผลผู้ที่รับผลทางโทรศัพท์ต้องจดผลลงในกระดาษและอ่านทวนผลที่ได้รับเพื่อยืนยันความถูกต้อง และผู้โทรแจ้งผลต้องขอทราบชื่อผู้รับการแจ้งผลและบันทึกไว้ กรณีไม่สามารถตัดสินใจได้ให้ทำการปรึกษากับแพทย์เจ้าของไข้โดยตรงและเก็บสไลด์ไว้ทวนสอบ สไลด์ที่พบเชื้อควรเก็บไว้ระยะหนึ่งเพื่อกลับมาดูใหม่ได้หากมีข้อสงสัย

5.1.5 แก้ไขปัญหาเฉพาะหน้า จดบันทึกและรวบรวมปัญหา เพื่อรายงานปัญหาที่พบเสนอต่อหัวหน้างาน เพื่อหาแนวทางแก้ไขที่ยั่งยืนต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะสำหรับหัวหน้างาน

หัวหน้างานมีข้อควรปฏิบัติ ดังนี้

5.2.1 ควบคุม กำกับดูแลและตรวจสอบระบบการปฏิบัติงานให้ดำเนินการได้อย่างราบรื่น

5.2.2 รับฟังและร่วมแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่พบในการปฏิบัติงาน เช่น การประสานงานเรื่องการรายงานผลการเพาะเชื้อจากเลือดให้มีความรวดเร็ว เนื่องจากเป็นค่าวิกฤติที่ต้องรายงานเร่งด่วนและต้องมีวิธีที่ให้แพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยได้รับผลที่รายงานโดยเร็ว การประสานช่างเข้ามาดำเนินการซ่อมเครื่องมือต่าง ๆ เป็นต้น

5.2.3 จัดให้มีการอบรมเพิ่มพูนความรู้ความสามารถในการปฏิบัติงานให้แก่บุคลากรผู้ปฏิบัติงานอยู่เสมอ ทั้งเชิงปฏิบัติการและเชิงวิชาการ เพื่อให้ก้าวทันเทคโนโลยีที่ทันสมัยและมีวิสัยทัศน์ทางความคิด

5.2.4 จัดให้มีวาระการแลกเปลี่ยนความรู้ ปัญหาที่พบ แนวทางการแก้ไขหรือข้อแนะนำต่าง ๆ ทั้งภายในหน่วยงานและระหว่างหน่วยงาน และรวบรวมเพื่อเสนอข้อมูลต่อผู้บริหารในวาระการประชุมต่าง ๆ เช่น การประชุมคณะบริหาร การประชุมคณะกรรมการโรคติดเชื้อ การทำแบบสอบถามข้อมูลการใช้ยาของแพทย์เพื่อวางแผนการเลือกใช้รูปแบบยาของแต่ละเชื้อ การเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาและอุบัติการณ์ความเสี่ยงต่าง ๆ เป็นต้น

5.2.5 ถ่ายทอดนโยบายการปฏิบัติงานให้แก่เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้องและครบถ้วน เป็นระบบ ชัดเจน สามารถปฏิบัติได้จริงและตรวจสอบได้

5.3 ข้อเสนอแนะสำหรับผู้บริหาร

ผู้บริหารมีข้อควรปฏิบัติ ดังนี้

5.3.1 วางแผนและออกแบบมาตรการหรือนโยบายที่สามารถปฏิบัติได้จริง

5.3.2 จัดสรรงบประมาณสำหรับจัดซื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ น้ำยา อย่างเพียงพอ

5.3.3 ปรับโครงสร้างห้อง อาคาร สถานที่ให้มีความเหมาะสม ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและผู้ที่มารับบริการ

5.3.4 สนับสนุนการพัฒนาศักยภาพในด้านต่าง ๆ ของบุคลากรในองค์กร

5.3.5 เปิดรับฟังความคิดเห็นและปัญหาของผู้ปฏิบัติงาน พร้อมทั้งสนับสนุนและช่วยหาแนวทางในการแก้ไข

บรรณานุกรม

1. ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด. สืบค้น 3 กุมภาพันธ์ 2565, จาก https://www.rama.mahidol.ac.th/rama_hospital/th/services/knowledge/04292020-0119
2. ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด. สืบค้น 3 กุมภาพันธ์ 2565, จาก https://www.bumrungrad.com/th/health-blog/may-2021/what-causes-sepsis
3. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐ ด้านสาธารณสุข. (2561). คู่มือการปฏิบัติงานแบคทีเรียและรา สำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 3). ใน: มาลัย วรจิตร, วันทนา ปวีณกิตติพร, สุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์, สุรางค์ เดชศิริเลิศ (บ.ก.), นนทบุรี: บริษัท พรีเมียร์ มาร์เก็ตติ้ง โซลูชั่น จำกัด.
4. สุรางค์ เดชศิริเลิศ, สุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์, กาญจนา คชินทร. (2554). แนวปฏิบัติการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อและการเพาะเชื้อก่อโรคจากเลือด. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
5. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2560). คู่มือมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข (พิมพ์ครั้งที่ 1). นนทบุรี: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด.
6. Ryan, MR; Murray, PR (1993). Historical evolution of automated blood culture systems. *Clinical Microbiology Newsletter*. 15 (14): 105-108. doi:10.1016/0196-4399(93)90051-N. ISSN 0196-4399.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and Procedures for Blood Culture: Approved Guideline. CLSI document M47-A. Pennsylvania: Wayne; 2007.
8. Blood culture. สืบค้น 3 มิถุนายน 2565, จาก https://www.testing.com/tests/blood-culture/
9. Vajira. สืบค้น 3 มิถุนายน 2565, จาก https://www.vajira.ac.th/content/5fd940438e2ea310b2946d06
10. Vajira. สืบค้น 3 มิถุนายน 2565, จาก https://ed.vajira.ac.th/content/607ebd5eb0caed666f794965
11. Becton, Dickinson and Company. BACTEC™ Plus Aerobic/F Culture Vials Soybean-Casein Digest Broth in a Plastic Vial [pamphlet]. USA: Becton, Dickinson and Company; 2019.
12. Becton, Dickinson and Company. BACTEC™ Peds Plus™/F Culture Vials Soybean-Casein Digest Broth with Resins in a Plastic Vial [pamphlet]. USA: Becton, Dickinson and Company; 2019.

13. Becton, Dickinson and Company. BACTEC™ Plus Anaerobic/F Culture Vials Soybean-Casein Digest Broth in a Plastic Vial [pamphlet]. USA: Becton, Dickinson and Company; 2017.
14. Becton, Dickinson and Company. BACTEC™ Myco/F Lytic Culture Vials Supplemented Middlebrook 7H9 and Brain Heart Infusion Broth For Use with BD BACTEC Fluorescent Series Instruments [pamphlet]. USA: Becton, Dickinson and Company; 2019.
15. Blood culture. สืบค้น 3 มิถุนายน 2565, จาก https://en.wikipedia.org/wiki/Blood_culture
16. Dien Bard, J; McElvania TeKippe, E; Kraft, CS (2016). "Diagnosis of Bloodstream Infections in Children". *Journal of Clinical Microbiology*. 54 (6): 1418-1424. doi:10.1128/JCM.02919-15. ISSN 0095-1137. PMC 4879304. PMID 26818669.
17. Garcia, RA; Spitzer, ED; Beaudry, J; Beck, C; Diblasi, R; Gilleeny-Blabac, M; et al. (2015). "Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line–associated bloodstream infections". *American Journal of Infection Control*. 43 (11): 1222-1237. doi:10.1016/j.ajic.2015.06.030. ISSN 0196-6553. PMID 26298636.
18. Doern, GV; Carroll, KC; Diekema, DJ; Garey, KW; Rupp, ME; Weinstein, MP; et al. (2019). "Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem". *Clinical Microbiology Reviews*. 33 (1). doi:10.1128/CMR.00009-19. ISSN 0893-8512. PMC 6822992. PMID 31666280. S2CID 204974894.

ภาคผนวก

เอกสารแนบ 4

ตารางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อวินิจฉัยทางจุลชีววิทยา (แอโรบ) เพื่อผลตรวจที่ถูกต้อง ควรรีบนำส่งตรวจทันทีหลังการเก็บ

สิ่งส่งตรวจ	การเตรียมบริเวณที่จะเก็บ	วิธีการเก็บ	ปริมาณสิ่งส่งตรวจ (ml)	ภาชนะที่ใส่	ถ้าส่งทันทีไม่ได้ให้เก็บไว้ที่	รายงานผล	หมายเหตุ
Blood	เช็ดด้วย 70% Alcohol เมื่อแห้งแล้วเช็ดตามด้วย 2% Chlorhexidine glutanate ใน 70% Alcohol 30 วินาที หรือ 10% Providone iodine 2 นาที	Aseptic technique ใส่เลือดลงในขวด media ที่เช็ดจุกขวดแล้วด้วย 70% Alcohol	8-10 (ในผู้ใหญ่) 1-3 (ในเด็ก)	ขวด Hemoculture ผู้ใหญ่ – จุกสีน้ำเงิน เด็ก – จุกสีชมพู	อุณหภูมิห้อง	3-7	- ถ้าไม่มีเชื้อขึ้นหลังเพาะเชื้อ 3 วันจะรายงานผล “No growth after 3 days” - หากมีเชื้อขึ้นจะรายงานผล preliminary report หลังจากนั้นเมื่อทำการพิสูจน์ชนิดของเชื้อจะรายงาน Final report โดยรายงานชนิดของเชื้อและความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ
CSF Sterile Body fluids	เช่นเดียวกับ Blood	Aseptic technique	2-3	ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	อุณหภูมิห้อง	2-3	(CSF ส่งทันทีที่อุณหภูมิห้อง) เก็บในอุณหภูมิห้องได้ 24 ชม.
Urine	- ผู้หญิงเช็ด vulva ด้วยสำลีชุบน้ำสบู่จากหน้าไปหลัง แล้วเช็ดตามด้วยสำลีชุบน้ำสะอาด - ผู้ชายทำความสะอาด glands penis ด้วยสำลีชุบน้ำสบู่แล้วเช็ดตามด้วยสำลีชุบน้ำสะอาด	ปัสสาวะส่วนแรกทิ้งไปก่อนการเก็บแล้วจึงเก็บช่วงกลางของปัสสาวะ (Midstream urine)	5-10	ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	อุณหภูมิห้อง ห้ามเกิน 1 ชม. 30 นาที และระบุวัน-เวลาที่เก็บ	2-3	

เอกสารแนบ 4

ตารางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อวินิจฉัยทางจุลชีววิทยา (แอโรบ) เพื่อผลตรวจที่ถูกต้อง ควรรีบนำส่งตรวจทันทีหลังการเก็บ

สิ่งส่งตรวจ	การเตรียมบริเวณที่จะเก็บ	วิธีการเก็บ	ปริมาณสิ่งส่งตรวจ (ml)	ภาชนะที่ใส่	ถ้าส่งทันทีไม่ได้ให้เก็บไว้ที่	รายงานผล	หมายเหตุ
Cervix, Vagina	ใช้สำลีปราศจากเชื้อเช็ด Vaginal secretion และ Mucous ออกก่อน ใส่ speculum	ใช้ sterile swab ป้ายหมุนรอบๆ หรือใช้ Syringe ดูด discharge	เท่าที่เก็บได้	Stuart transport media หรือภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	อุณหภูมิห้อง	2-3	ในกรณีสงสัย Gonococci ให้ส่งทันที
Urethra	เช็ดรอบ Urethra ด้วยสำลีปราศจากเชื้อ	ใช้ sterile swab ป้ายบริเวณหนองหากไม่มีหนองใช้ Sterile Loop ขนาดเล็กสอดลงไปในท่อ Urethra ลึก 2-3 ซ.ม.ทิ้งไว้ 2-3 นาทีแล้วดึงออก	-	Stuart transport media	อุณหภูมิห้อง	2-3	ในกรณีสงสัย Gonococci ให้ส่งทันที
Endometrium	เช็ดรอบ Cervix ด้วยสำลีปราศจากเชื้อ	Aspiration หรือ curetting	เท่าที่เก็บได้	ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	อุณหภูมิห้อง	2-3	ในกรณีสงสัย Gonococci ให้ส่งทันที
Stool	-	ใช้ sterile swab ป้ายหลายๆ จุด โดยเฉพาะบริเวณที่มีมูกเลือดหรือเลือดปน	-	- Cary-blair transport media - ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	- อุณหภูมิห้อง - ตู้เย็น (2-8°C)	3-4	เก็บที่อุณหภูมิห้องไม่เกิน 24 ชม.
Rectal swab	-	สอด sterile swab เข้า rectum ลึก 1-2 นิ้ว หมุนช้าๆ 2-3 รอบ	-	- Cary-blair transport media	- อุณหภูมิห้อง	3-4	เก็บที่อุณหภูมิห้องไม่เกิน 24 ชม.
Throat	กดลิ้นผู้ป่วยไว้ด้วยไม้กดลิ้น	ใช้ sterile swab ป้ายบริเวณที่อักเสบแดงของทอนซิล 2 ข้าง ลิ้นไก่และผนังด้านหลังของ Oropharynx	-	Stuart transport media	อุณหภูมิห้อง	2-3	- เก็บไว้ไม่เกิน 24 ชม. - อย่าให้ swab ป้ายถูกลิ้น

เอกสารแนบ 4

ตารางการเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อวินิจฉัยทางจุลชีววิทยา (แอโรบ) เพื่อผลตรวจที่ถูกต้อง ควรรีบนำส่งตรวจทันทีหลังการเก็บ

สิ่งส่งตรวจ	การเตรียมบริเวณที่จะเก็บ	วิธีการเก็บ	ปริมาณสิ่งส่งตรวจ (ml)	ภาชนะที่ใส่	ถ้าส่งทันทีไม่ได้ให้เก็บไว้ที่	รายงานผล	หมายเหตุ
Sputum	บ้วนปากด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง	ระวังอย่าให้มีน้ำลายปนลงมาในภาชนะที่เก็บ	เท่าที่เก็บได้	ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	ตู้เย็น (2-8°C)	2-3	เก็บไว้ไม่เกิน 24 ชม.
Eye	เช็ดเปลือกตาและขอบตาด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ	ใช้ sterile swab ที่เปียกป้ายหนองจากตาหรือป้ายบริเวณ lower conjunctiva	-	Stuart transport media	อุณหภูมิห้อง	2-3	- เก็บไว้ไม่เกิน 24 ชม. - ในกรณีสงสัย Gonococci ให้ส่งทันที
Ear	เช็ดช่องหูชั้นนอกด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ	ใช้ sterile swab ป้ายหรือใช้วิธีดูดหนอง	-	- swab ใส่ Stuart transport media - หนองใส่ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	อุณหภูมิห้อง	2-3	เก็บไว้ไม่เกิน 24 ชม.
Skin, Superficial wound	เช็ดแผลด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ	ใช้ sterile swab ป้ายที่ก้นแผล	เท่าที่เก็บได้	Stuart transport media	อุณหภูมิห้อง	2-3	-
Fistula, sinus tract	เช็ดด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ	ใช้ syringe ดูดหนองหรือ sterile swab ป้าย	-	- swab ใส่ Stuart transport media - หนองใส่ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	อุณหภูมิห้อง	2-3	เก็บไว้ไม่เกิน 24 ชม.
Closed abscess, Rash	เช็ดด้วย 70% Alcohol	ใช้ syringe ดูดหนองหรือ fluid ถ้าไม่มี fluid ฉีดน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อเข้าไปแล้วดูดออก	-	ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ	-	2-3	ควรนำส่งห้องปฏิบัติการให้เร็วที่สุด

ข้อควรระวัง: 1. เก็บรักษาขวด Hemoculture ก่อนที่จะใช้งานไว้ที่อุณหภูมิ 2-25°C ถ้าเก็บไว้ในตู้เย็น จะต้องนำออกมาวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และรอให้ขวดมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้องก่อนนำไปใช้งานได้

2. Hemoculture ผู้ใหญ่ (จุกสีน้ำเงิน) Hemoculture เด็ก (จุกสีชมพู) ควรตรวจสอบวันหมดอายุทุกครั้งก่อนเจาะเลือดใส่ขวด Hemoculture

3. เช็ดจุกยางที่ปากขวด Hemoculture ด้วย 70 % Alcohol เท่านั้น (ห้ามเช็ดด้วยทิงเจอร์ไอโอดีนหรือเบตาดีน เพราะจะทำให้จุกยางเสื่อมสภาพ) และรอให้แห้งก่อนใส่เลือด

4. ไม่ควรเก็บสิ่งส่งตรวจประเภทน้ำจากช่องต่าง ๆ ของร่างกาย ลงในขวด Hemoculture ยกเว้นกรณีที่มีความจำเป็น เพราะการเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เหมาะสม เป็นสาเหตุทำให้ได้ผลการตรวจล่าช้า การแปลผลทำได้ยาก และอาจทำให้ผู้ป่วยต้องเจ็บตัวซ้ำเนื่องจากต้องเก็บสิ่งส่งตรวจใหม่ รวมทั้งเป็นการเพิ่มต้นทุนโดยไม่จำเป็น

5. ควรหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดเพื่อใช้ในการทดสอบอื่นในคราวเดียวกันกับการส่งตรวจ Hemoculture เพราะมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย หากมีความจำเป็นควรเจาะเลือดใส่ในขวด Hemoculture ก่อนทุกครั้ง

6. กรณีที่ไม่สามารถส่งขวด Hemoculture ไปยังห้องปฏิบัติการได้ในทันที ให้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ไม่ควรเกิน 1 ชั่วโมง <u>ห้ามแช่ตู้เย็น</u>

7. ถ้าเป็นปัสสาวะที่ไม่ใช่ midstream urine ต้องเขียนระบุวิธีการเก็บลงในใบส่งตรวจให้ชัดเจน ระบุเวลาเก็บปัสสาวะให้ชัดเจน และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

8. Stuart transport media (จุกสีขาว) ใช้สำหรับเก็บหนอง ฝี แผลหรือชิ้นเนื้อเล็กๆ และ Cary-blair transport media (จุกสีแดง) ใช้สำหรับเก็บอุจจาระกับ rectal swab ภายในมีอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน สำหรับใช้รักษาสภาพของสิ่งส่งตรวจ ลักษณะเป็นวุ้นใส ไม่มีสี และมีไม้พันสำลีซึ่งปราศจากเชื้อสำหรับใช้ป้ายสิ่งส่งตรวจบรรจุอยู่ในซอง <u>สามารถเบิกจากงานจุลชีววิทยาได้ภายในเวลาราชการ</u> และนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง (5-30°C โดยมีวันหมดอายุระบุไว้ที่ข้างหลอด)

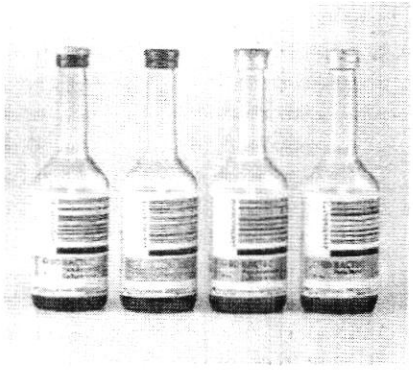
เอกสารแนบ 4

รหัสรายการตรวจ	รายการตรวจ	ราคา	
4000	Hemo ขวดที่ 1 culture & susceptibility	300	บาท
4100	Hemo ขวดที่ 2 culture & susceptibility	300	บาท
4111	Aerobic (Sputum) culture & susceptibility	250	บาท
4112	Aerobic (Urine) culture & susceptibility	250	บาท
4113	Aerobic (Other) culture & susceptibility	250	บาท
4121	Gram's stain (Sputum)	65	บาท
4123	Gram's stain (Other)	65	บาท
4131	AFB Stain (Sputum)	60	บาท
4132	AFB Stain (Urine)	60	บาท
4133	AFB Stain (Other)	60	บาท
4004	Modified Acid Fast Stain	70	บาท
4005	Wet smear (*Trichomonas vaginalis*)	50	บาท
4006	KOH	60	บาท
4007	Indian Ink Preparation	55	บาท
Profile			
409	Sputum Acid Fast Stain X 3 days	180	บาท
408	Sputum Acid Fast Stain X 2 days	120	บาท

เทคนิคการเพาะเชื้อในเลือดด้วยเครื่อง **Fully Automated**

1. เก็บขวด Hemoculture ไว้ที่อุณหภูมิห้อง
2. ควรตรวจดูขวด Hemoculture ให้แน่ใจว่าไม่มีการบวมเปื่อน ไม่หมดอายุ หรือมีรอยแตก
3. แนะนำให้เจาะ 2 ข้าง ต่างตำแหน่งในเวลาเดียวกัน พร้อมระบุตำแหน่งที่เจาะ

ขั้นที่ 1 เลือกขวดที่จะใช้เจาะเลือด และใส่เลือดตามปริมาณที่เหมาะสม



- ขวด BD BACTEC MYCO/F-lytic (สีแดง) ปริมาตร 3-5 ml

หมายเหตุ สำหรับเด็กที่มีน้ำหนักตัวเกิน 40 Kg ขึ้นไป ให้ใช้ขวด BACTEC Plus Aerobic F Vial แทน

ขั้นที่ 2 การเตรียมขวด BACTEC™ ก่อนการเติมเลือด

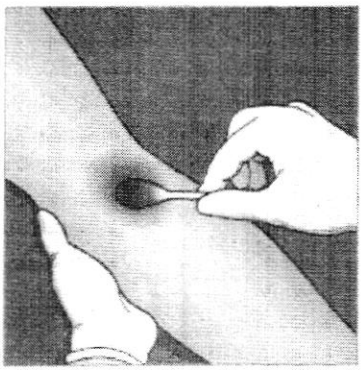
- หักฝาที่ปิดขวดด้านบนออก
- เช็ดส่วนบนของขวดด้วย 70% แอลกอฮอล์แล้วปล่อยให้แห้ง

ข้อควรระวัง ห้ามใช้เบตาดีนเช็ดจุกยางที่ปากขวด เนื่องจากจะทำให้ยางเสื่อมสภาพ

ขั้นที่ 3 การเตรียมบริเวณเจาะ (Skin Preparation)

การเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ (Venipuncture)

- เช็ดผิวหนังบริเวณที่จะเจาะด้วยสำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์ เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 ซม. ปล่อยให้แอลกอฮอล์แห้งเอง (ห้ามใช้ปากเป่า)
- เช็ดด้วยสำลีชุบ 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol โดยเช็ดออกจากจุดตรงกลางเป็นวงกลม รอให้แห้งสนิทประมาณ 1 นาที ห้ามคลำเส้นเลือดอีก
- ทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ (Venipuncture) ฉีดตัวอย่างเลือดลงในขวดน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ *โดยไม่ต้องเปลี่ยนหัวเข็มใหม่*
- เขย่าขวดให้เลือดผสมกับน้ำเลี้ยงเชื้อทันทีเพื่อป้องกันเลือดแข็ง



การเจาะเลือดจากตำแหน่งอื่นที่มีสายคาเส้น (Catheter draw)

- เช็ดปลายสายบริเวณที่จะเจาะด้วยสำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์ ปล่อยให้แอลกอฮอล์แห้งเอง (ห้ามใช้ปากเป่า)
- เช็ดด้วยสำลีชุบ 2% chlorhexidine gluconate in 70% alcohol รอให้แห้งสนิทประมาณ 30 วินาที
- draw เลือดในส่วนแรกทิ้งไปก่อนประมาณ 3-5 ml
- เจาะเลือดใส่ขวดเพาะเชื้อในเลือดแต่ละชนิด ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
- เขย่าขวดให้เลือดผสมกับน้ำเลี้ยงเชื้อทันทีเพื่อป้องกันเลือดแข็ง

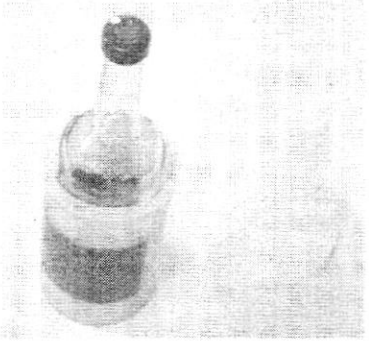
ข้อควรระวัง ถ้าทิ้งไว้นานเกินไป เชื้อจุลชีพประจำถิ่นสามารถปนเปื้อนเข้าไปในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ อาจส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์เชื้อผิดพลาด เสียเวลา และต้องทำการเก็บตัวอย่างตรวจใหม่ภายหลัง

ขั้นที่ 4 เขียนชื่อ นามสกุล วัน เวลาและตำแหน่งที่เจาะเลือดผู้ป่วยลงบนที่ว่างข้างขวด
หรือติดรหัสบาร์โค้ด ดังตัวอย่างด้านซ้ายมือ
ข้อควรระวัง ระวังอย่าเขียนทับบนแท่งรหัสบาร์โค้ด

ขั้นที่ 5 ส่งขวดที่เติมเลือดแล้วไปยังห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด โดย
ข้อควรระวัง กรณีที่ไม่สามารถส่งขวดไปยังห้องปฏิบัติการได้ทันที ให้เก็บขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามแช่ตู้เย็น) และรีบทำการจัดส่งภายใน 2 ชั่วโมง

ขั้นที่ 6 ขั้นตอนการนำส่งสิ่งส่งตรวจมาห้องปฏิบัติการโดยท่อลม

- นำขวดใส่ pneumatic tube holder ปิดฝาเกลียวให้แน่น
- นำใส่กระสวยแล้วส่งมายังห้องปฏิบัติการ



หมายเหตุ:

- **ควรเก็บอย่างน้อย 2 ตัวอย่างตรวจ** การเก็บเพียงตัวอย่างเดียวอาจทำให้เกิดผลลบปลอมจากการตรวจไม่พบเชื้อ ยกเว้นบางกรณีที่การเก็บตัวอย่างทำได้ยาก เช่น ในเด็กเล็กอาจเก็บเพียงตัวอย่างเดียว การเก็บตัวอย่างอาจทำซ้ำในวันต่อมาเพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อในกรณีที่มีเชื้อจำนวนน้อยในเลือด หรือช่วยยืนยันหรือใช้ในการติดตามผลการรักษา ควรเก็บตัวอย่างตรวจแต่ละชุดจากต่างตำแหน่งในเวลาเดียวกัน เช่น การเจาะเลือดจากแขนคนละด้าน ทั้งนี้เพื่อช่วยพิจารณาในกรณีสงสัยเชื้อปนเปื้อน
- **กรณีเร่งด่วนต้องรีบให้ยาปฏิชีวนะ** ให้เจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ 2 ขวดพร้อมกัน โดยเจาะที่ตำแหน่งต่างกัน
- **กรณีสงสัยภาวะติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจและภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดแบบต่อเนื่อง** (Persistent bacteremia) ให้เจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ อย่างน้อย 2 ขวดห่างกัน 12 ชั่วโมง

ผู้จัดทำ : _____ ผู้ทบทวน : _____ ผู้อนุมัติ : _____

BACTEC FX OPERATION

การนำขวดเข้าเครื่อง (Vial Entry)

1. เปิดลิ้นชักที่มีช่องว่าง
2. สแกน Barcode ที่ข้างขวด Media
3. ใส่ข้อมูลที่ต้องการเพิ่มเช่น lab no.
   - ถ้าต้องการเปลี่ยน Protocol ให้กดปุ่ม "Modify" แล้วปรับวันที่ที่ต้องการ
4. ใส่ขวดเข้าไปในตำแหน่งที่ยังว่าง (ไฟเขียวติดสว่าง)

การนำขวด Negative ออกจากเครื่อง

1. เปิดลิ้นชักที่มีขวด Negative
2. ดึงขวดจาก station ที่มีไฟสีเขียวติดกระพริบ

การนำขวด Positive ออกจากเครื่อง

1. เปิดลิ้นชักที่มีขวด Positive
2. ดึงขวดจาก station ที่มีไฟสีแดงติดกระพริบ
3. ปรากฏหน้าจอ Positive removal display
4. สแกน Barcode ข้างขวด
5. ถ้ามีมากกว่า 1 ขวดให้ทำตามขั้นตอนที่ 2-4 จนครบทุกขวด
   (ถ้า Sequence number ใส่แบบ manual ในตอนแรก ระบบจะขึ้นมาให้ยืนยันโดยกดปุ่ม"verify")

การแก้ไข Anonymous

1. เปิดลิ้นชักที่มีขวด Anonymous
2. ดึงขวดออกจากตำแหน่งที่มีไฟเหลือง หรือเหลืองสลับแดงติดกระพริบ
3. สแกน Barcode ข้างขวด
4. - ถ้าต้องการใส่ขวดกลับไปให้ใส่ยังตำแหน่งที่มีไฟเขียวติดกระพริบ
   - ถ้าไม่ต้องการใส่ขวดกลับไปให้กดปุ่ม "Save"

การนำขวด Anonymous Positive ออกจากเครื่อง

1. เปิดลิ้นชักที่มีขวด Positive
2. ดึงขวดจาก station ที่มีไฟสีเหลืองสลับแดง
3. ปรากฏหน้าจอ ID anonymous display
4. สแกน Barcode ข้างขวด
5. กดปุ่ม "Save" แล้วกดปุ่ม "Exit" เพื่อเข้าสู่หน้าจอ Positive removal display
6. สแกน Barcode ข้างขวด

Reference: WI-MI-007

ผู้อนุมัติเอกสาร
(ผศ.นพ.จักราวุธ มณีฤทธิ์)
ผู้อำนวยการโรงพยาบาล

แนวทางปฏิบัติ เรื่อง การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์วิกฤต (Critical values Report)

1. วัตถุประสงค์

1.1 เพื่อให้ผู้ป่วยที่มีผลการตรวจวิเคราะห์มีค่าวิกฤตได้รับการดูแลรักษาอย่างเหมาะสม ปลอดภัย ทันท่วงที

1.2 เพื่อให้เกิดแนวทางในการทำงานระหว่างทีมสหสาขาวิชาชีพในการดูแลรักษาผู้ป่วยที่มีผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการวิกฤต อย่างมีประสิทธิภาพ

2. ขอบเขต/ กลุ่มเป้าหมาย

2.1 เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด

2.2 แพทย์ พยาบาล

2.3 ผู้ป่วยมีผลการตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วงค่าวิกฤต

2.4 เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโทรศัพท์

2.5 เจ้าหน้าที่ห้องบัตร

3. นิยามศัพท์/ คำจำกัดความ

ค่าวิกฤตทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory Critical values): คือค่าการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่มีความแตกต่างจากช่วงค่าปกติมาก หรือผลการตรวจที่ผิดปกติ ซึ่งมีความเสี่ยงสูงที่อาจก่อเกิดอันตรายกับตัวผู้ป่วย ถ้าไม่ได้รับการรักษาโดยเร็ว ซึ่งมักจะเป็นรายการตรวจวิเคราะห์ที่มีความสำคัญ หรืออาจมีอันตรายถึงชีวิตผู้ป่วย หรือรายการตรวจวิเคราะห์ที่มีการตกลงให้รายงานผลด่วน โดยได้รับมติเป็นข้อตกลงร่วมกันจากที่ประชุมทีมสหสาขาวิชาชีพ เพื่อดูแลผู้ป่วยที่อยู่ในสภาวะวิกฤต

การรายงานค่าวิกฤต (critical intervals/alert): เป็นการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่มีการทำความตกลงไว้กับผู้ใช้บริการ หรือทีมสหสาขาวิชาชีพ ให้รายงานผลด่วนเป็นกรณีพิเศษ เพื่อประโยชน์ในกระบวนการรักษาผู้ป่วย ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนย่อย ได้แก่ 1) กระบวนการรายงานค่าวิกฤต นับตั้งแต่ฝ่ายชันสูตรฯ รับทราบผลค่าวิกฤตจนถึงการรายงานให้พยาบาลรับทราบผลในลักษณะการสื่อสารสองทาง และ 2) กระบวนการให้การดูแลรักษาผู้ป่วย นับตั้งแต่พยาบาลสื่อสารกับแพทย์จนได้มาซึ่งคำสั่งการรักษา ดังนี้

ผู้อนุมัติเอกสาร
(ผศ.นพ.จักราวุธ มณีฤทธิ์)
ผู้อำนวยการโรงพยาบาล

แนวทางปฏิบัติ เรื่อง การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์วิกฤต (Critical values Report)

ค่าวิกฤฝ่ายชันสูตรโรคกลางและงานธนาคารเลือด

รายการ	ค่าเดิม	ค่าที่ปรับใหม่	หมายเหตุ
1. Blood sugar	≤ 60, ≥ 400 mg/ dl	≤ 70, ≥ 400 mg/ dl	PCT MED
2. Sodium	≤ 120, ≥ 160 mmol/ L	≤ 125, ≥ 155 mmol/ L (อายุ 0 – 15 ปี) ≤ 120, ≥ 160 mmol/ L (อายุ > 15 ปี)	PCT กุมาร
3. Potassium	≤ 2.0, ≥ 6.0 mmol/ L	≤ 2.5, ≥ 6.0 mmol/ L (อายุ 0 – 15 ปี) ≤ 2.0, ≥ 6.0 mmol/ L (อายุ >15 ปี)	PCT กุมาร
4. Blood Ketone	≥ 0.6 mmol/ L		
5. Troponin T	≥ 0.05 ng/ ml		
6. Calcium-Total	≥ 14 mg/ dl		
7. Lactate	≥ 4 mmol/ L		
8. Magnesium	≤ 1 mg/ dl		
9. Carbon Dioxide	≤ 12 mmol/ L		
10. Cyclosporine	≥ 300 ng/ ml	ยกเลิกการรายงาน	PCT MED
11. Prograft	≥ 20 ng/ ml		
12. Hematocrit	< 15%, > 60%		
13. WBC count	< $1x10^3$ cells/µl, > $100x10^3$ cells/µl		
14. Platelet count	< $10x10^3$ cells/µl, > $1000x10^3$ cells/µl		
15. INR	> 5		
16. aPTT	> 120 second		
17. Hemoculture	Positive รายงานผล gram เบื้อต้น		
18. Gram stain in CSF, body fluid	พบเชื้อ		
19. Crass match	หมู่เลือดหายากหรือหาเลือดที่เข้ากันไม่ได้		
20. Rh negative	แจ้งแพทย์เจ้าของไข้		
21. HIV-viral load	> 200 copies/ ml		

4. ผู้รับผิดชอบ:

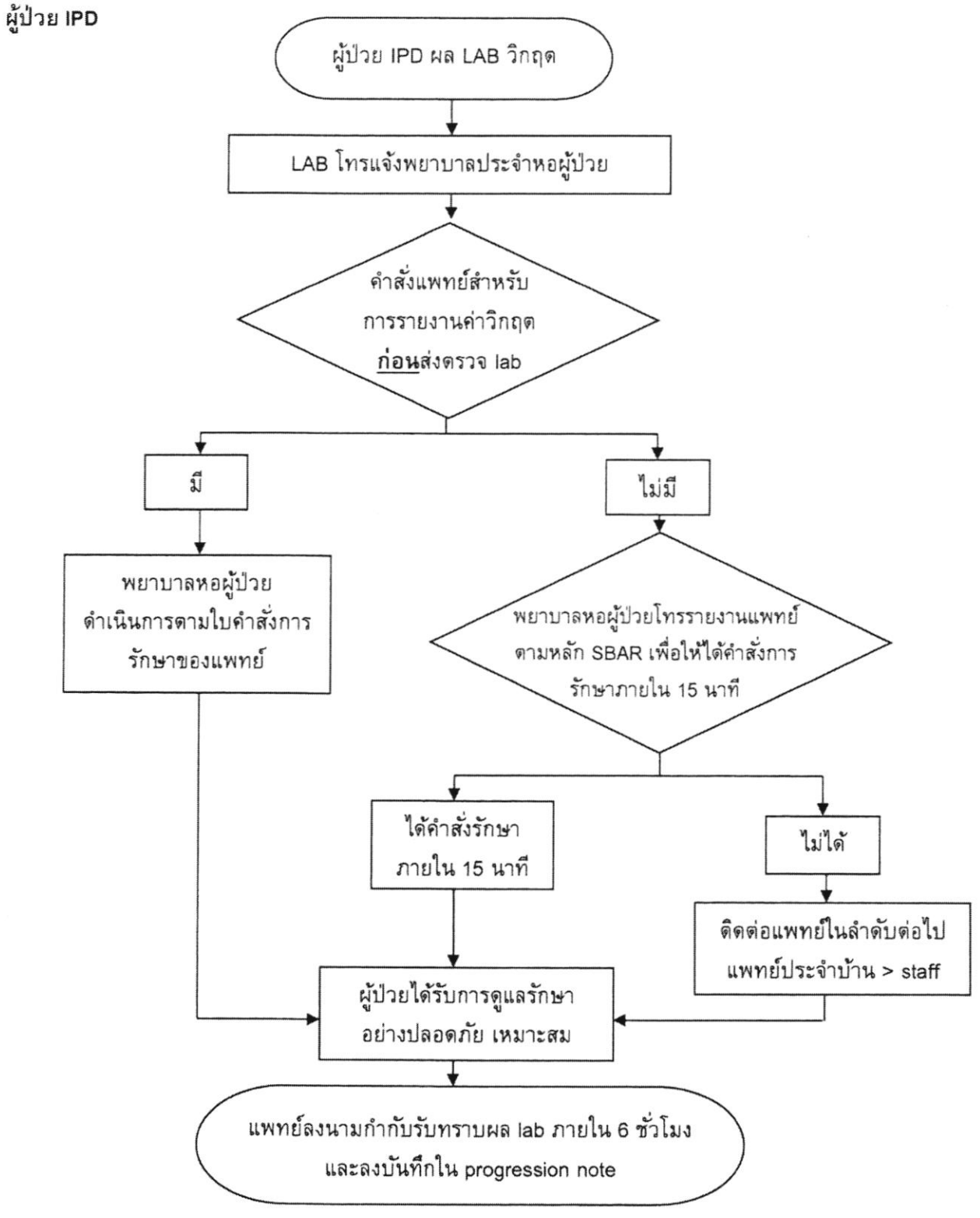
- เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด
- ทีมสหสาขาวิชาชีพ แพทย์ พยาบาล บุคลากรทางการแพทย์ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องในการดูแลผู้ป่วยที่มีผลการตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วงค่าวิกฤต

5. อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- โทรศัพท์ภายในที่พร้อมใช้งาน
- รายการเบอร์โทรศัพท์ทุกหน่วยงาน และหอผู้ป่วยที่ Update ให้เป็นปัจจุบัน
- คอมพิวเตอร์ และระบบคอมพิวเตอร์ที่พร้อมใช้งาน
- ระบบเสียงตามสายในโรงพยาบาล

ผู้อนุมัติเอกสาร
(ผศ.นพ.จักราวุธ มณีฤทธิ์)
ผู้อำนวยการโรงพยาบาล

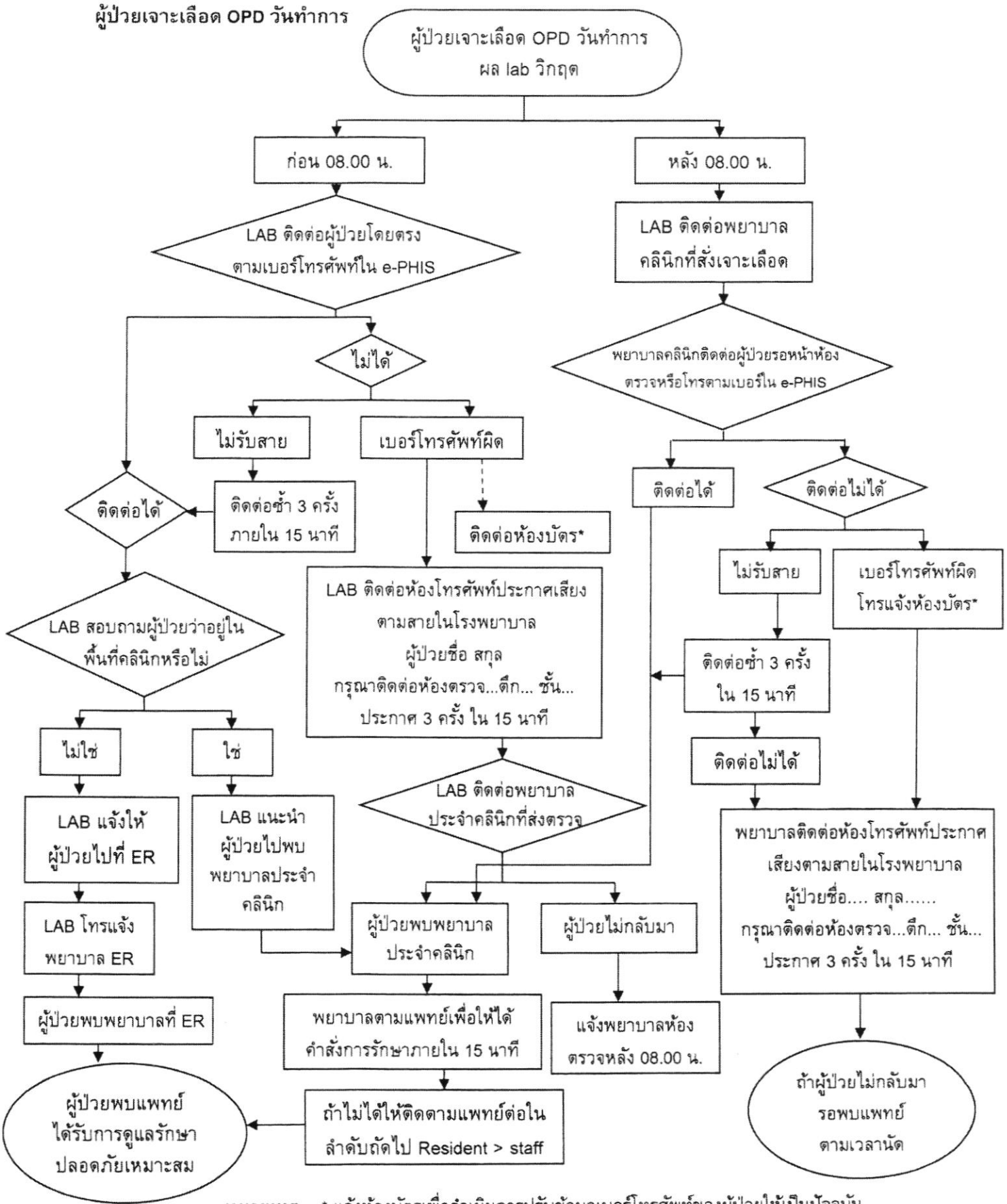
แนวทางปฏิบัติ เรื่อง การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์วิกฤต (Critical values Report)



หมายเหตุ : กรณีผู้ป่วย D/C หรือ Refer Out ออกจากโรงพยาบาลแล้ว ให้ LAB ประสานกับพยาบาลประจำหอผู้ป่วย เพื่อแจ้งแพทย์เจ้าของไข้ให้ดำเนินการตามความเหมาะสมต่อไป

ผู้อนุมัติเอกสาร
(ผศ.นพ.จักราวุธ มณีฤทธิ์)
ผู้อำนวยการโรงพยาบาล

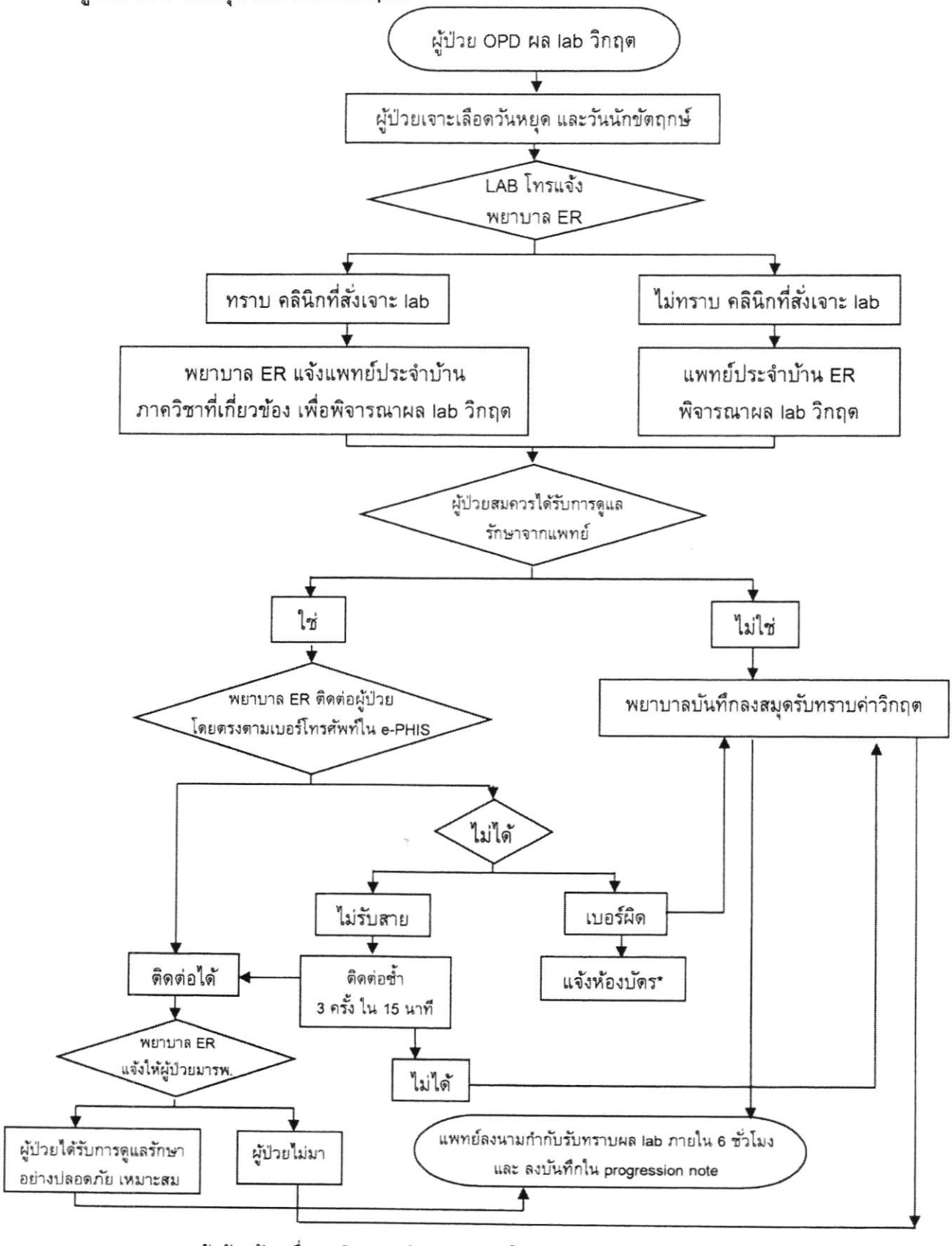
แนวทางปฏิบัติ เรื่อง การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์วิกฤต (Critical values Report)



หมายเหตุ * แจ้งห้องบัตรเพื่อดำเนินการปรับข้อมูลเบอร์โทรศัพท์ของผู้ป่วยให้เป็นปัจจุบัน

แนวทางปฏิบัติ เรื่อง การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์วิกฤต (Critical values Report)

ผู้ป่วย OPD วันหยุด และวันนักขัตฤกษ์



หมายเหตุ * แจ้งห้องบัตรเพื่อดำเนินการปรับข้อมูลเบอร์โทรศัพท์ของผู้ป่วยให้เป็นปัจจุบัน

7. กำหนดมาตรฐานเวลาให้บริการ

- ผู้ป่วยได้รับคำสั่งรักษาจากแพทย์ ภายใน 60 นาที

8. เครื่องมือชี้วัดคุณภาพ

ลำดับ	เครื่องมือชี้วัดคุณภาพ	เป้าหมาย	ผู้รับผิดชอบ	วงรอบ
8.1	ร้อยละการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ ภายในเวลา 15 นาที (%)	90	ฝ่ายชันสูตรฯ	3 เดือน
8.2	ร้อยละของผู้ป่วย OPD ที่ได้รับคำสั่งรักษาจากแพทย์ ภายใน 60 นาที (%)	80	ฝ่ายชันสูตรฯ	3 เดือน
8.3	ร้อยละของผู้ป่วย IPD ที่ได้รับคำสั่งรักษาจากแพทย์ ภายใน 60 นาที (%)	80	ฝ่ายชันสูตรฯ	3 เดือน
8.4	จำนวน Adverse Event (AE) ระดับ E (ขึ้นไป) ที่เกิดจากผู้ป่วยที่มีผล lab วิกฤต ได้รับการรักษาล่าช้า (ครั้ง) *ติดตามผ่านระบบรายงานความเสี่ยงทางคลินิก*	0	ฝ่ายชันสูตรฯ	3 เดือน

เครื่องมือ น้ำยา อุปกรณ์

1. เครื่องมือ

1.1 เครื่องอัตโนมัติสำหรับตรวจหาเชื้อจุลชีพในเลือด Bactec ™ FX

1.2 Slide warmer

1.3 กล้องจุลทรรศน์

1.4 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 34 - 36°C และ 41 - 43°C

1.5 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 34 - 36°C + 5% CO_2

1.6 Vortex mixer

1.7 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave)

1.8 เครื่อง MALDI Biotyper และ MALDI Target Plate

2. น้ำยา

2.1 ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ Bactec ชนิดต่าง ๆ เช่น Bactec PLUS Aerobic/ F สำหรับผู้ใหญ่หรือ Bactec PEDS PLUS/ F สำหรับเด็ก เป็นต้น

2.2 70% Alcohol

2.3 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ ที่เตรียมตามคู่มือการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาทดสอบทางชีวเคมี (หมายเลขเอกสาร SD-MI-036)

2.4.1 Chocolate agar (CA)

2.4.2 5% Sheep blood agar (SBA)

2.4.3 MacConkey agar (MAC)

2.4.4 Tryptone soya broth (TSB)

2.4.5 Thioglycollate broth (บางกรณี)

2.5 อาหารทดสอบทางชีวเคมีและน้ำยาทดสอบต่าง ๆ ที่เตรียมตามคู่มือการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาทดสอบทางชีวเคมี (หมายเลขเอกสาร SD-MI-036)

2.6 70% Formic acid

2.7 2.5% Trifluoroacetic acid (2.5% TFA)

2.8 Matrix HCCA

2.9 Bruker Bacterial test Standard (BTS)

3. อุปกรณ์

3.1 Sterile swab/Sterile cotton

3.2 Sterile syringes และ Sterile needles

3.3 สไลด์ (Slide)

3.4 Loop/Needle

3.5 Disposable gloves

3.6 Racks

3.7 ไม้ขีดไฟ

3.8 Candle Jar และเทียนไข

3.9 Sterile dropper

3.10 Pipette และ Tips

ขั้นตอนการเตรียมเชื้อจุลชีพก่อนเข้าเครื่อง MALDI Biotyper เพื่อตรวจพิสูจน์ตัวเชื้อ (Identify)

วิธี Direct Transfer Technique มีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

1. ใช้ไม้จิ้มฟันเขี่ยโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเสมียร์ลง MALDI Target Plate พร้อมทั้งเขียนระบุตำแหน่งในใบ MSP 96 Target แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
2. จากนั้นหยด Matrix HCCA 1 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
3. นำ MALDI Target Plate เข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ MALDI Biotyper

วิธี Extended Direct Transfer Technique มีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

1. ใช้ไม้จิ้มฟันเขี่ยโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบมาเสมียร์ลง MALDI Target Plate พร้อมทั้งเขียนระบุตำแหน่งในใบ MSP 96 Target แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
2. หยด 70% Formic acid 1 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
3. จากนั้นหยด Matrix HCCA 1 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
4. นำ MALDI Target Plate เข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ MALDI Biotyper

หมายเหตุ: การจำแนกชนิดของเชื้อโดยการใช้เครื่อง MALDI Biotyper ต้องทำการ Calibrate ควบคู่ไปกับการทดสอบด้วย โดยใช้สารละลายมาตรฐาน BTS ปริมาตร 1 ไมโครลิตร หยดลงใน MALDI Target Plate หลุม A12 แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยด Matrix HCCA 1 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

Reference: WI-MI-006

บันทึกข้อความ

ส่วนงาน งานจุลชีววิทยา ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด (โทร.๓๑๓๒)

ที่ ..... **วันที่** ๔ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๕

เรื่อง ขอรับรองการนำคู่มือการปฏิบัติงานมาใช้จริงในฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด

เรียน หัวหน้าฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด

เนื่องด้วย ข้าพเจ้า นางสาวชนิกา แม้นจันทรารัตน์ ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ (ตำแหน่งเลขที่ พวช. ๑๒๒๙๘) ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ ระดับชำนาญการ ได้จัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน เรื่อง "วิธีการตรวจหาเชื้อจุลชีพในเลือดโดยเครื่องอัตโนมัติ Bactec™FX"

ในการนี้ ข้าพเจ้าขอรับรองว่าได้มีการใช้งานคู่มือการปฏิบัติงานเรื่องดังกล่าวจริง เพื่อใช้ประกอบการขอประเมินแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ระดับชำนาญการ

(นางสาวชนิกา แม้นจันทรารัตน์)
นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ

พวช. ๑๓/๔๕
เรียน หัวหน้าฝ่ายทรัพยากรบุคคล
เพื่อโปรดพิจารณา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุราภรณ์ ภูมิศานติพงศ์)
รักษาการแทนหัวหน้าฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช
๗ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๕

สำเนาถูกต้อง
ชนิกา แม้นจันทรารัตน์
สำหรับทำตำแหน่งทางวิชาการ