

คู่มือ

การตรวจวิเคราะห์และจัดการ สิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยสงสัย

โรคติดเชื้ออีโบล่า



กระทรวงสาธารณสุข



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

คู่มือการตรวจวิเคราะห์และจัดการสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยสงสัยโรคติดเชื้อฮิบลา

บรรณาธิการ	อารี ทัตติยพงศ์ พิไลลักษณ์ อัครไพบุลย์ โอภาตะ
ที่ปรึกษา	นพ.อภิชัย มงคล รศ.(คลินิก) พญ.วารุณี จินรัตน์ นพ.สมชาย แสงกิจพร
พิมพ์ครั้งที่ 1	สิงหาคม พ.ศ. 2557 จำนวน 30,000 เล่ม
จัดทำโดย	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 88/7 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 โทรศัพท์ 0 2951 0000 โทรสาร 0 2591 5449
พิมพ์ที่	โรงพิมพ์ ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด



สืบเนื่องจากการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2557 ในประเทศแถบแอฟริกาตะวันตก ได้แก่ประเทศกินี ประเทศไลบีเรีย และประเทศเซียร์ราลีโอน จนถึงเดือนกรกฎาคม 2557 ไม่มีแนวโน้มการระบาดลดลง และยังคงควบคุมไม่ได้ การระบาดได้ขยายไปยังประเทศไนจีเรีย รวมทั้งมีรายงานพบผู้ป่วยรายใหม่เพิ่มขึ้นทุกวัน วันที่ 8 สิงหาคม 2557 องค์การอนามัยโลกจึงประกาศให้การระบาดของโรคติดเชื้ออีโบล่าในแอฟริกาตะวันตกเป็นภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ (Public Health Emergency of International Concern; PHEIC) รวมทั้งได้ออกข้อแนะนำให้ประเทศสมาชิกที่ยังไม่พบการระบาดของโรคนี้เตรียมความพร้อมในหลายด้าน เช่นคำแนะนำในการเดินทางไปยังประเทศที่มีความเสี่ยง การสื่อสารข้อมูลข่าวสารสู่สาธารณชน การขนย้ายผู้สัมผัส การตรวจจับการระบาด การวินิจฉัย และการดูแลผู้ป่วย เป็นต้น

การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการมีส่วนสำคัญในการตรวจจับการระบาด การวินิจฉัยโรค และผลการวิเคราะห์ที่ได้สามารถนำไปใช้ประกอบการรักษาผู้ป่วย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้จัดทำคู่มือการตรวจวิเคราะห์และจัดการสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยสงสัยโรคติดเชื้ออีโบล่าเล่มนี้ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลและห้องปฏิบัติการอ้างอิงใช้เป็นคู่มือในการเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการ เนื้อหาทั้งวิธีการตรวจวิเคราะห์และรายการทดสอบของงานประจำของห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล วิธีการเก็บ วิธีการนำส่งตัวอย่าง และการวิเคราะห์เชื้ออีโบล่าสำหรับห้องปฏิบัติการอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์หวังเป็นอย่างยิ่งว่าคู่มือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลห้องปฏิบัติการอ้างอิง บุคลากรสาธารณสุขที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ที่จะนำไปปฏิบัติ

(นายอภิชัย มงคล)

อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์



คำนำ	3
บทนำ	5
โรคติดเชื้อไวรัสอีโบลา	6
การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ	7
การตรวจยืนยันเชื้อไวรัสอีโบลาทงห้องปฏิบัติการ	10
ภาคผนวก	
ภาคผนวก 1 การขนส่งและเก็บตัวอย่าง	12
ภาคผนวก 2 พื้นที่เฉพาะ (DRA)	13
ภาคผนวก 3 วิธีการ Inactivate ตัวอย่าง	14
ภาคผนวก 4 ชุดปฏิบัติการป้องกันของบุคลากร	15
ภาคผนวก 5 การทำความสะอาดและฆ่าเชื้อในพื้นที่ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือ	16
ภาคผนวก 6 การกำจัดขยะติดเชื้อ	17
ภาคผนวก 7 การดำเนินการเมื่อเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเกิดอุบัติเหตุติดเชื้ออันตราย ระหว่างการทำงาน	17
ภาคผนวก 8 วิธีปฏิบัติในการนำส่งตัวอย่างที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	18
ภาคผนวก 9 แนวทางการจัดการตัวอย่างส่งตรวจเชื้อไวรัสอีโบลากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	22



อีโบล่าเป็นไวรัสที่อันตรายร้ายแรง จัดอยู่ในกลุ่มความเสี่ยงสูงระดับ 4 ซึ่งเป็นกลุ่มเสี่ยงสูงสุด ยังไม่มียาเฉพาะสำหรับการรักษา และยังไม่มียาวัคซีนป้องกัน สิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ เช่น เลือด สารคัดหลั่งจากผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อการนำเชื้ออีโบล่าแพร่กระจายสู่ผู้ปฏิบัติงานได้ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจึงต้องทำด้วยความระมัดระวังเป็นพิเศษ โดยมีมาตรการด้านความปลอดภัยที่เหมาะสม ทั้งการป้องกันผู้ปฏิบัติงานไม่ให้สัมผัสสิ่งส่งตรวจโดยตรงและป้องกันไม่ให้เชื้อกระจายสู่สิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามโรคติดเชื้ออีโบล่าขณะนี้ระบาดในกลุ่มประเทศแอฟริกาตะวันตก ยังไม่พบในประเทศไทย

แม้ว่าสถานการณ์ปัจจุบันประเทศไทยยังไม่พบผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสอีโบลาก็ตาม แต่การคมนาคมที่สะดวกรวดเร็ว เชื้อไวรัสอีโบล่าอาจมากับนักท่องเที่ยวที่มาเที่ยวประเทศไทยหรือมากับคนไทยที่ไปท่องเที่ยวหรือทำธุรกิจในพื้นที่เสี่ยง ผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า มีอาการเริ่มแรกไม่จำเพาะแยกจากโรคอื่นไม่ได้ ผู้ป่วยมาพบแพทย์ด้วยอาการไข้สูง อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ เจ็บคอ จากนั้นจะมีอาเจียน ท้องเสีย และผื่นนูนแดงตามตัว ซึ่งแพทย์จำเป็นต้องส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังนั้นเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต้องรู้วิธีการป้องกันตัวเอง และต้องเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการ ให้มีความปลอดภัยสูงสุด เพื่อรองรับการตรวจวินิจฉัยแยกโรคอื่นออกจากโรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการอ้างอิงที่ตรวจเชื้ออีโบลาก็ต้องระมัดระวังเรื่องความปลอดภัยเช่นกัน



โรคติดเชื้อ ไวรัสอีโบล่า

โรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า (Ebola virus disease, EVD) เดิมเรียกว่า โรคไข้เลือดออกอีโบล่า (Ebola hemorrhagic fever) พบครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2519 ณ สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกใกล้แม่น้ำอีโบล่าพบการระบาดส่วนใหญ่ในแถบภูมิภาคแอฟริกา มีอัตราการป่วยตายสูงถึงร้อยละ 50-90

ไวรัสอีโบล่า มีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว อยู่ในวงศ์ Filoviridae มี 5 สปีชีส์ ได้แก่

1. Zaire ebolavirus
2. Sudan ebolavirus
3. Tai Forest ebolavirus
4. Ebola-Reston แยกได้จากลิง (cynomolgus) ในประเทศฟิลิปปินส์ ใน พ.ศ. 2453 ก่อโรคไม่รุนแรงในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ตอนแรกคิดว่าไม่ก่อโรคในคน จนกระทั่ง พ.ศ. 2552 พบว่าเชื้อนี้สามารถก่อโรคในคนได้โดยคนได้รับจากหมู
5. Bundibugyo ebolavirus พบใน พ.ศ. 2551

เชื้อไวรัสอีโบลามีระยะฟักตัว 2-21 วัน ผู้ป่วยที่ติดเชื้อจะมีไข้สูง อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ เจ็บคอ จากนั้นจะมีอาเจียน ท้องเสีย และผื่นผื่นแดงตามตัว ในรายที่อาการรุนแรงจะมีอาการเลือดออกทั้งภายใน และภายนอกร่างกาย มักเกิดร่วมกับภาวะตับถูกทำลาย ไตวาย หรือเกิดอาการที่ระบบประสาทส่วนกลาง ช็อก และเสียชีวิตจากอวัยวะต่างๆ ทำงานล้มเหลว (Multiple organ dysfunction syndromes, MODS) แหล่งรังโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีหลักฐานที่บ่งชี้ว่า ค้างคาวกินผลไม้ และ/หรือลิง น่าจะมีส่วนในห่วงโซ่การถ่ายทอดเชื้อ อย่างไรก็ตามการแพร่เชื้อส่วนใหญ่จะเป็นจากคนสู่คน โดยการสัมผัสเลือดหรือสารคัดหลั่งหรือเนื้อเยื่อจากอวัยวะของผู้ป่วยหรือผู้เสียชีวิต

เชื้อไวรัสอีโบล่าจะเข้าสู่ร่างกายทาง mucus membrane ผิวหนังที่มีรอยฉีก/บาดแผลหรือถูกเข็มทิ่มตำ แล้วเชื้อจะเข้าโจมตีเซลล์หลายชนิด เช่น monocyte, macrophage, dendritic cells, endothelial cells, fibroblasts, hepatocytes, adrenal cortical cells และ epithelial cells เชื้อจะไปอยู่ที่ต่อมน้ำเหลือง ตับ ม้าม และ adrenal gland ทำให้เซลล์ตาย ปริมาณเซลล์ลดลง กระบวนการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ ทำให้การทำงานของอวัยวะล้มเหลว

ผลการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ จะพบผู้ป่วยมีเม็ดเลือดขาวต่ำ เกร็ดเลือดต่ำ เอนไซม์ amylase, ALT, AST สูง PT, PTT มีค่าสูงผิดปกติ

การควบคุมการระบาดโดยแยกผู้ป่วยออกจากผู้ป่วยอื่นๆ และเฝ้าระวังผู้สัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วย ใช้มาตรการการติดเชื้อในสถานพยาบาลอย่างเข้มงวด และให้ความรู้แก่ชุมชนอย่างเหมาะสม

การตรวจ วินิจฉัย ทางห้องปฏิบัติการ

กรมควบคุมโรคได้มีมาตรการเฝ้าระวังผู้ป่วยสงสัยโรคติดเชื้อไวรัสอีโบลามาก่อน และโรงพยาบาล ดังนั้นจึงอาจพบผู้ป่วยได้ทั้งจากจุดผ่านแดนและที่โรงพยาบาล การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการรักษาและดูแลผู้ป่วย จะกระทำโดยเฉพาะในโรงพยาบาลที่มีเครื่องมือและอุปกรณ์ป้องกันพร้อมเท่านั้น เพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงานและป้องกันไม่ให้เชื้อแพร่กระจายสู่ชุมชนและสิ่งแวดล้อม

1. จุดผ่านที่ต้องเฝ้าระวังพิเศษและมีโอกาสพบผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อไวรัสอีโบล่า

1.1 ท่าอากาศยานและด่านชายแดนก่อนเข้าประเทศ มีการตรวจกรองผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อไวรัสอีโบล่า

1.2 สถานพยาบาลต่างๆ : โรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลเอกชน คลินิก สถานพยาบาลดังกล่าว ไม่ควรเก็บตัวอย่างผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้ออีโบล่าเอง ควรส่งต่อผู้ป่วยไปยังโรงพยาบาลที่กำหนด โดยกระทรวงสาธารณสุข

กรณีที่ต้องตรวจทางห้องปฏิบัติการ ให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการปฏิบัติตาม Universal Precaution อย่างเคร่งครัด (สิ่งส่งตรวจทุกชนิดจากผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อไวรัสอีโบล่ามีความเสี่ยงที่จะมีเชื้อและแพร่เชื้อได้)

2. โรงพยาบาลที่กำหนดให้รับผู้ป่วยส่งต่อ หรือรับตัวอย่างส่งต่อ ควรกำหนดให้มีพื้นที่เฉพาะ (Designated Receiving Area; DRA) (ภาคผนวก 2) ซึ่งองค์การอนามัยโลกกำหนดให้เป็นห้องปฏิบัติการชีวรัศมีระดับ 2 (BSL-2) และต้องปฏิบัติการแบบ BSL-3 เป็นอย่างน้อย

พื้นที่เฉพาะ (DRA) สำหรับตรวจทางห้องปฏิบัติการจะต้องมี

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์หลักประกอบด้วย

- ◇ Biosafety cabinet (BSC) class II เป็นอย่างน้อย
- ◇ Autoclave
- ◇ Centrifuge (close system) ที่ bucket มีฝาปิด
- ◇ Automated analyzer/ Fully automated analyzer สำหรับวิเคราะห์ทาง Hematology, Chemistry, Immunology
- ◇ ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง
- ◇ Incubator
- ◇ Heat block

2.2 Personal protective equipment (PPE) เช่น แวนตา face shield, หน้ากากนิรภัย (N95, P100), เสื้อกาวน์กันน้ำแขนยาว ถุงมือ 2 ชั้น หมวกคลุมผม ถุงหุ้มรองเท้า



รูปแสดงอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) ชนิดต่างๆ (ดูรายละเอียดชนิดของ PPE การใช้งานการสวมใส่และการถอดได้จากคู่มือการเก็บตัวอย่างและความปลอดภัย จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พ.ศ. 2557)

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทั่วไป เพื่อแยกโรคอื่นๆ ออกจากโรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า (Non-EVD testing)

การทดสอบต้องยึดหลักความปลอดภัยและความจำเป็นในการรักษา โดยตรวจตามรายการทดสอบเท่าที่จำเป็น และน้อยที่สุด และควร Inactivate สิ่งส่งตรวจก่อนทำการทดสอบ (ภาคผนวก 3.) สิ่งส่งตรวจที่ inactivate แล้วสามารถนำไปทดสอบนอกห้อง DRA ได้ กรณีที่จำเป็นต้องทำการทดสอบกับตัวอย่างผู้ป่วยที่ไม่ผ่านการ inactivate ต้องทำในตู้ BSC class II ในห้อง DRA

กรณีต้องการตรวจสอบสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อโรคไวรัสอีโบล่า ต้องแจ้งให้ห้องปฏิบัติการทราบล่วงหน้าอย่างน้อย 30 นาที ก่อนส่งสิ่งส่งตรวจ เพื่อเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจะได้เตรียมพร้อม ทั้งในส่วนพื้นที่เฉพาะ และพื้นที่ที่ทำงานประจำ

รายการทดสอบที่จำเป็นต้องตรวจได้แก่

1. การตรวจทางโลหิตวิทยา

1.1 Thick/Thin film for Malaria การเตรียมสไลด์ต้องทำในตู้ชีวนิรภัย (BSC class II)

1.1.1 การทำ thick blood films ให้สเมียร์เลือดใน BSC class II ถ้าต้องนำไปย้อมนอกตู้ BSC class II ให้ inactivate โดยการ fix เม็ดเลือดด้วย 10% buffered formalin นาน 15 นาที และ ล้าง 3 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่น pH7.0

1.1.2 การทำ Thin film ให้สเมียร์เลือดใน BSC class II ถ้าต้องนำไปย้อมนอกตู้ BSC class II ให้ inactivate โดยการ fix ใน methanol นาน 5 นาที และ fix ต่อใน 10% buffered formalin นาน 15 นาที หรือ โดยการ fix ใน methanol นาน 30 นาที ตามด้วย dry heat ที่ 95°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.2 Rapid test (สำหรับ malaria) : ปฏิบัติใน BSC II

1.3 CBC ต้องทำในเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติระบบปิด (fully automated analyzer) ในพื้นที่งานประจำ ถ้าเป็น automated analyzer ให้ทำในพื้นที่เฉพาะ หากไม่มีเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติให้ใช้ blood film ในการประเมิน blood indices ต่างๆ

2. Blood Chemistry

2.1 ปั่นแยกซีรัมในเครื่องหมุนเหวี่ยงที่มีฝาปิด แล้ว inactivate ซีรัมที่ 57°C นาน 1 ชั่วโมง ด้วยความร้อนแห้ง (dry heat) เนื่องจากอุณหภูมิ 60°C จะทำให้ enzyme เสื่อมสภาพ เช่น creatinine kinase, ALP, AST, GGT etc. แล้วทดสอบด้วยเครื่อง fully automated analyzer / automated analyzer ในพื้นที่งานประจำ

2.2 กรณีทดสอบ blood gas / electrolyte ให้ทำการทดสอบด้วย automated analyzer ในพื้นที่เฉพาะ

3. Bacteria

3.1 การเพาะเชื้อจากตัวอย่าง CSF, blood, urine, sputum, feces, genital or wound specimen ต้องทำใน BSC class II ใน DRA และควรใช้อุปกรณ์ที่ใช้แล้วทิ้ง ไม่นำกลับมาใช้ใหม่ (disposable instruments: loop, plate, needle, etc.) นำเปลทใส่ถุงซิปปิด

3.2 บ่มเพาะ (primary culture) ต้องทำในตู้บ่มที่อยู่ใน DRA

3.3 การอ่านผล การแปลผล ทุกขั้นตอนควรอยู่ใน DRA

3.4 Blood culture ให้ทำในเครื่อง automate ระบบปิดเท่านั้น ถ้าไม่มีให้ subculture ใน BSC class II ในห้อง DRA

3.5 Secondary culture สามารถทำในห้องปฏิบัติการของงานประจำหรือในห้อง DRA

4. Serology/Immunology

4.1 ปั่นแยกซีรัมในเครื่องหมุนเหวี่ยงที่มี bucket ซึ่งมีฝาปิด และนำไปเปิดใน BSC class II ในห้อง DRA

4.2 ทำเฉพาะ rapid test ในตู้ BSC class II ในห้อง DRA

กรณีที่ห้องปฏิบัติการมี เครื่อง fully automated analyzer สามารถวิเคราะห์ในพื้นที่งานประจำได้

5. Nucleic acid detection (Non-Ebola detection)

ปั่นตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมาในพื้นที่เฉพาะ DRA แล้วสกัด ด้วยชุดน้ำยาใน BSC class II ทั้งนี้การสกัดสารพันธุกรรม เป็นวิธีการ inactivate เชื้อไวรัสแบบหนึ่งด้วย

6. Blood bank ไม่ควรทำ cross matching หากจำเป็นต้องให้เลือดผู้ป่วยให้ใช้เลือดกรุ๊ปโอ อาร์เอช ลบ (group O Rh negative)

การตรวจ ยืนยัน เชื้อไวรัสอีโบลา ทางห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการตรวจยืนยันเชื้ออีโบลา ได้แก่ ห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และห้องปฏิบัติการเครือข่าย ที่ได้รับการแต่งตั้งจาก WHO หรือ US-CDC

กรณีพบผู้ป่วยสงสัยติดเชื้ออีโบลาในสถานพยาบาลให้ประสานสำนักกระบาดวิทยา/สำนักงานป้องกันและควบคุมโรค/สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพื่อสอบสวนโรคและวางแผนประสานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในการรับตัวอย่างส่งตรวจ (ภาคผนวก H) **ห้ามสถานพยาบาลเจาะเลือดและปั่นเก็บแยกน้ำเหลืองโดยไม่ได้รับคำแนะนำจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์อย่างเด็ดขาดในกรณีที่ต้องการตรวจยืนยันเชื้ออีโบลา**

สำหรับระยะเวลาการติดเชื้อ วิธีการทดสอบ ชนิดตัวอย่างและจำนวนที่เก็บนำส่ง แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงระยะเวลาการติดเชื้อ วิธีการทดสอบ ชนิดตัวอย่างและจำนวนที่เก็บนำส่ง

ระยะเวลา	วิธีทดสอบ	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนที่เก็บนำส่ง
3-10 วัน หลังแสดงอาการ (Acute phase)	<ul style="list-style-type: none"> Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testing Polymerase chain reaction (PCR) Virus isolation 	Whole blood/EDTA	3 มิลลิลิตร (3 หลอด)
	<ul style="list-style-type: none"> IgM ELISA 	Clotted blood / serum separator tube	5 มิลลิลิตร (3 หลอด)
หลัง 10 วัน หรือ ระยะฟื้นตัว (Convalescent phase)	<ul style="list-style-type: none"> IgM and IgG antibodies 	Clotted blood/serum separator tube	5 มิลลิลิตร (3 หลอด)
ผู้ป่วยเสียชีวิต (Post- mortem)	<ul style="list-style-type: none"> Immunohistochemistry testing PCR Virus isolation 	Tissue	ชิ้นเนื้อขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือเก็บด้วย Needle biopsy

ชนิดตัวอย่าง และการนำส่ง สำหรับการตรวจหาเชื้ออีโบลากทางห้องปฏิบัติการ จำแนกตามวิธี

การตรวจด้วยวิธี PCR / การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัส

1. ใช้ Whole blood (หลอดฝาสีม่วง) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด หรือ Clotted blood /serum separator tube ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด
2. ชิ้นเนื้อเยื่อสดแช่แข็ง (fresh frozen tissues) ควรเก็บขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร (1 x 1 x 1 เซนติเมตร) หรือ ชิ้นเนื้อจากการทำ needle biopsies
3. บรรจุตัวอย่างในภาชนะพลาสติกห้ามใช้ภาชนะแก้วนำส่งตัวอย่างโดยแช่เย็นด้วย ice pack

การตรวจทางน้ำเหลือง

1. ใช้ Clotted blood /serum separator tube ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด หรืออาจใช้ whole blood (หลอดฝาสีม่วง) ปริมาตรอย่างน้อย 3 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด
2. นำส่งตัวอย่างโดยแช่เย็นด้วย ice pack

การตรวจด้วยวิธี Immunohistochemistry

1. ชิ้นเนื้อจากปอด ไต ตับ ม้าม หรือ จากอวัยวะอื่น ๆ ที่สามารถเก็บได้ รักษาสภาพด้วยฟอร์มาลิน (formalin-fixed tissue) หรือ รักษาสภาพด้วยพาราฟิน (paraffin-embedded tissue)
2. ตัวอย่างชิ้นเนื้อที่เก็บจากผู้เสียชีวิตมานานแล้ว ให้รักษาสภาพด้วยพาราฟินในรูปแบบบล็อก (paraffin blocks)
3. นำส่งตัวอย่างชนิด paraffin blocks หรือ formalin-fixed ที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามแช่แข็งตัวอย่าง)
4. แนบรายงานการชันสูตรศพ (autopsy report) หรือ รายงานการผ่าตัด (surgical report) ไปพร้อมกับตัวอย่าง

สถานที่รับตัวอย่าง (กรณีส่งตรวจที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 14 ศูนย์ ในส่วนภูมิภาค

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี

- ดร.อารี ทัตติยพงศ์ โทร 089 126 6422
- คุณวัฒน์พงศ์ วุฑธา โทร 081 808 6745



ภาคผนวก 1

การขนส่งและเก็บตัวอย่าง

1. ในระหว่างการเก็บ-นำส่งตัวอย่างต้องไม่ให้หลอดใส่ตัวอย่างหรือภาชนะภายนอกปนเปื้อนเชื้อ ควรแจ้งชื่อผู้เก็บ รหัสผู้ป่วยที่หลอดตัวอย่าง เก็บภาชนะใส่ตัวอย่างลงในถุงพลาสติก ปิดผนึกแล้ววางลงในกล่องพลาสติกใส ข้างนอกหลอดบรรจุตัวอย่างต้องมีวัสดุดูดซับเพียงพอ เช็ดหรือฉีดพ่นพื้นผิวภาชนะภายนอกด้วย 1% sodium hypochlorite และทิ้งให้แห้ง แบบฟอร์มส่งตรวจผู้ป่วยควรติดกับกล่องด้านนอกโดยใช้เทปกาว แบบฟอร์มผู้ป่วยไม่ควรติดกับภาชนะที่เป็นตัวอย่าง และไม่ควรถัดโดยใช้หมุดหรือลวดเย็บกระดาษ ต้องแจ้งห้องปฏิบัติการก่อนทุกครั้งเมื่อต้องการส่งตัวอย่าง
2. ตัวอย่างจะถูกส่งตรงไปยังห้อง DRA โดยมีเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเป็นผู้รับตัวอย่าง ไม่ตั้งทิ้งตัวอย่างไว้โดยไม่มีผู้รับไม่ขนส่งตัวอย่างด้วยระบบอัตโนมัติ เช่น ราง ลิฟท์ท่อสุญญากาศ และไม่นำส่งที่พื้นที่รับตัวอย่างประจำ (routine area) ภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นนอกอาจนำกลับมาใช้ได้แต่ต้องไม่มีรอยรั่ว ทั้งนี้ต้องได้รับการล้างฆ่าเชื้อหรือ decontaminate ด้วย 1% glutaraldehyde เป็นเวลา 20 นาที
3. ถ้าตัวอย่างสามารถ inactivate ได้ ให้ inactivate ในห้อง DRA ก่อนที่จะนำออกไปทดสอบต่อที่ห้องปฏิบัติการประจำ (วิธีการ inactivation ในภาคผนวก 3.)
4. หลัง inactivate ตัวอย่างแล้วให้แบ่งบรรจุตัวอย่างในหลอดพลาสติก ทำความสะอาดผิวภายนอกหลอดด้วย 1% sodium hypochlorite บรรจุตัวอย่างเหมือนตัวอย่างอันตราย และระบุชัดเจนว่าเป็น “Inactivated -noVHFrisk” หรือ “ Not inactivated -VHF risk” ก่อนส่งไปทดสอบนอกห้อง DRA ทุกตัวอย่างต้องส่งให้กับบุคลากรที่รับผิดชอบโดยตรง
5. ตัวอย่างที่ได้รับการ Inactivate และ decontaminate สามารถนำมาตรวจได้ที่ห้องปฏิบัติการปกติ แต่ต้องปฏิบัติตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 2
6. ตัวอย่างที่ไม่ได้ Inactivate ต้องทำในห้อง DRA เท่านั้น ถ้าทดสอบเสร็จแล้วต้องการทำลาย ต้องบรรจุในลักษณะแบบเดียวกับตัวอย่างอันตราย ต้อง ระบุชัดเจน “ทำลาย” หากต้องการจัดเก็บให้ระบุ “จัดเก็บ” ให้ชัดเจนที่ด้านนอกของภาชนะหรือติดภาชนะภายนอกด้วยเทปกาวพลาสติก

ภาคผนวก 2

พื้นที่เฉพาะ (DRA)

1. ห้องต้องมีประตูแยกจากพื้นที่อื่นๆ
2. ต้องเป็นห้องที่สามารถปิดสนิทได้เพื่อการ decontamination
3. ภายในห้องต้องมี ตู้ BSC Class II อ่างน้ำปฏิบัติการ อ่างล้างมือ ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง (-20°C) และ heat block สำหรับ inactivate serum รวมทั้งมีอุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็นขึ้นกับประเภทของตัวอย่างที่นำมาทดสอบ และการทดสอบที่ดำเนินการในห้อง DRA
4. อุปกรณ์ทั้งหมดสำหรับการเตรียมตัวอย่างต้องอยู่ในตู้ BSC class II หรือในห้อง DRA
5. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้อง DRA ต้องประจำในห้องนั้น ห้ามเคลื่อนย้าย ถ้าต้องการเคลื่อนย้ายต้องฆ่าเชื้อก่อน
6. ต้องมีตู้เย็น ตู้แช่แข็ง (-20°C) สำหรับการจัดเก็บตัวอย่าง และห้ามเก็บตัวอย่างนอกพื้นที่ที่ระบุ ถ้าต้องการเก็บตัวอย่างนอกห้อง DRA ต้องบรรจุตัวอย่างใหม่แบบตัวอย่างอันตรายระบุสถานะตัวอย่างให้ชัดเจนก่อนนำไปเก็บ (เช่น (-70°C) ช่องแช่แข็ง) สถานที่จัดเก็บควรถือคฤภยูแจและผู้ถือคฤภยูแจต้องเป็นผู้รับผิดชอบและเป็นผู้ปฏิบัติงานในห้อง DRA
7. ประตูห้องปฏิบัติการจะต้องปิดตลอดเวลาและมีป้ายแสดงสถานะติดไว้ ตัวอย่างเช่น : “กำลังทดสอบตัวอย่าง สงสัยอีโบล่า ห้ามเข้า”
8. ควรมี เครื่อง autoclave อยู่ในห้องปฏิบัติการหรืออยู่ในพื้นที่ติดกัน
9. ควรมี ที่อาบน้ำและห้องเปลี่ยนเสื้อผ้า
10. บุคลากรที่เกี่ยวข้องในการจัดการตัวอย่างต้องเป็นเจ้าหน้าที่ระดับสูงและควรมีขั้นตอนวิธีการจัดการตัวอย่าง ให้น้อยที่สุด
11. เจ้าหน้าที่ปฏิบัติการที่ทำงานในห้อง DRA ต้องมีทักษะและได้รับคำอบรมอย่างเพียงพอ ที่จะดำเนินการได้ ต้องปฏิบัติงานกับตัวอย่างผู้ป่วยในตู้ BSC class II เป็นอย่างน้อย
12. การปั่นแยกตัวอย่างต้องใช้เครื่องปั่นที่เป็นระบบปิดสนิท bucket ต้องมีฝาปิด การเปิดตัวอย่างต้องทำใน BSC class 2 เป็นอย่างน้อย
13. ต้องถือคฤภยูแจห้อง DRA เมื่อไม่ใช้งาน และควรรับผิดชอบโดยเจ้าหน้าที่อาวุโส บุคลากรอื่นๆ ที่ได้รับมอบหมาย (เช่นเจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัย) อาจมีคฤภยูแจสำรอง
14. ขณะปฏิบัติงานกับตัวอย่าง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการต้องสวมใส่ชุดป้องกันอันตราย เช่น ถุงมือ ชุดแขนยาว กันน้ำ รองเท้าแบบปิด face shield และหมวกเต็มหน้า หรือ เสื้อคลุมแขนยาวกันน้ำที่ใช้แล้วทิ้ง ถ้าทำงานใน BSC II หรือ III ไม่จำเป็นต้องสวมหมวกเต็มหน้า และต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดอื่นๆ ทั้งหมดในภาคผนวก 4, 5, 6
15. ก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ
 - 15.1 ถุงมือหน้ากากชุดและหมวกจะต้องใส่ถุงแดง และปิดผนึกทันทีเพื่อนำไปทำลาย ถ้าเสื้อผ้าปนเปื้อนวัสดุที่ติดเชื้อ ควรนำถุงแดงถุงแรกใส่ลงถุงแดงอีกถุง แล้วปิดผนึกด้วยเทป ต้องสเปรย์ถุงด้านนอกด้วย 1% sodium hypochlorite ก่อนนำออกจากห้องปฏิบัติการ face shield สามารถนำมาใช้อีก แต่ต้องแช่ 1% sodium hypochlorite 10 นาที ล้างน้ำแล้วตากให้แห้ง
 - 15.2 อุปกรณ์ป้องกันที่ปนเปื้อนต้องทิ้งก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ และต้องจัดการ เหมือนข้อ 15.1
 - 15.3 ทันทีที่ออกจากห้องปฏิบัติการต้องล้างมือด้วยสบู่แล้วล้างออกด้วยน้ำประปา หรือฟอกมือด้วย alcohol-based gel

16. ของเหลวที่ปนเปื้อนต้องนึ่งฆ่าเชื้อก่อนที่จะออกจากพื้นที่หรือทำลายโดยทิ้งลงในภาชนะที่มี sodium hypochlorite เมื่อเติมน้ำแล้วต้องมีความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 1% และมีปริมาณเพียงพอ ฆ่าเชื้อทิ้งไว้ 10 นาที ก่อนเทน้ำลงในท่อน้ำทิ้ง

17. ก่อนที่จะออกจากห้อง DRA ของใช้แล้วทั้งหมดจะต้องถูกปฏิบัติอย่างใดอย่างหนึ่ง

17.1 นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave

17.2 ใส่ในถุง 2 ชั้นปิดสนิท เช็ดด้านนอกถุงด้วย 1% sodium hypochlorite

17.3 ใส่ของมีคมในภาชนะแข็งป้องกันทะลุแล้วใส่ถุงปิดสนิท เช็ดด้านนอกถุงด้วย 1% sodium hypochlorite (ของใช้แล้วจากข้อ 17.1-17.3 ต้องใส่ในภาชนะที่แข็งแรงเพื่อขนส่งไปเตาเผา)

ภาคผนวก 3

วิธีการ Inactivate ตัวอย่าง

1. ให้ความร้อนตัวอย่าง ซีรัม หรือสารคัดหลั่งชนิดอื่นๆ ที่อุณหภูมิ 57°C นาน 60 นาที ซึ่งจะไม่มีผลกระทบต่อ sodium, potassium, magnesium, urea, urate, creatinine, bilirubin, glucose และ C-reactive protein และไม่ทำลาย enzyme เช่น alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, gamma-glutamyltransferase และ creatinine kinase

2. การทำ air-dried thick blood films จะต้อง fix เม็ดเลือดแดงด้วย 10% buffered formalin นาน 15 นาที และ ล้าง 3 ครั้งด้วย น้ำกลั่น pH7.0 แล้วจึงนำไปย้อมสี

3. การทำ Thin film จะต้อง inactivate โดยการ fix ใน methanol นาน 5 นาที และ fix ต่อใน 10% buffered formalin นาน 15 นาที หรือ โดยการ fix ใน methanol นาน 30 นาที ตามด้วย dry heat ที่ 95°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4. ตัวอย่าง tissue ที่ตรวจด้วยวิธี Histology ต้อง fix ใน 10% buffered formalin หรือ 2.5% glutaraldehyde จนสารละลายซึมเข้าไปใน tissue

5. ตัวอย่างตรวจด้วยวิธี PCR การเติม lysis reagent ถือว่าได้ inactivate เพียงพอแล้ว ตัวอย่าง tissue ต้อง fix ใน 10% buffered formalin หรือ fixative ตัวอื่นที่เหมาะสม ก่อนที่จะนำไปทำ nucleic acid amplification

6. ตัวอย่างที่จะตรวจแอนติเจน ด้วยวิธี Immunofluorescent จะต้อง inactivate ไวรัสด้วย 85-100% acetone, 1% glutaraldehyde หรือมากกว่าหรือ 10% buffered formalin นาน 15 นาที

ภาคผนวก 4

ชุดปฏิบัติการป้องกันของบุคลากร

1. ใส่ชุดป้องกันเต็มรูปแบบ ประกอบด้วย เสื้อกาวน์กันน้ำแขนยาว ถุงมือ ถุงหุ้มรองเท้า หน้ากากนิรภัย (N95, P100) และ face shield



2. ผู้ปฏิบัติงานทุกคนต้องลงบันทึกการปฏิบัติงานการใช้ยาและวัสดุต่างๆ ที่เก็บในห้องปฏิบัติการวันทีเวลาเข้า-ออก และต้องมีสมุดบันทึกการรับ-ส่งตัวอย่าง เพื่อให้เจ้าหน้าที่ที่นำส่งได้ลงบันทึก โดยมีหัวหน้าห้องปฏิบัติการเป็นผู้รับผิดชอบตรวจสอบ

3. เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกคนที่ได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติงานเกี่ยวกับผู้ป่วยและตัวอย่างของผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อไวรัสฮีโบล่า จะต้องเจาะเลือดประมาณ 10 มิลลิลิตร และแยกซีรัมเก็บไว้ เพื่อตรวจวิเคราะห์เป็นข้อมูลพื้นฐานก่อนปฏิบัติงานเมื่อต้องการ

4. เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ประสบอุบัติเหตุสัมผัสกับวัตถุที่ปนเปื้อนเชื้อร้ายแรง (โดยการทิ่มแทงหรือของมีคมบาดมือ) ต้องล้างส่วนที่สัมผัสด้วยสบู่ทันที จากนั้นจึงล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น 70% แอลกอฮอล์ หากสารปนเปื้อนเชื้อกระเด็นเข้าตาให้รีบล้างตาด้วยน้ำ หรือน้ำยาสำหรับล้างตา (ห้ามใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ) กรณีที่สารปนเปื้อนเชื้อหกใส่เสื้อกาวน์ต้องถอดเสื้อกาวน์ทั้งทันที และรีบชำระร่างกายด้วยฝักบัวที่อยู่ในห้องปฏิบัติการ ต้องบันทึกอุบัติเหตุที่เกิดขึ้นอย่างครบถ้วนบุคลากรที่สัมผัสกับสารปนเปื้อนเชื้อ หรือต้องสงสัยว่าอาจสัมผัสต้องอยู่ในข่ายเฝ้าระวัง (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก 7) และแจ้งให้หัวหน้าห้องปฏิบัติการ และหัวหน้าดูแลความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการ หรือผู้รับผิดชอบทราบ

5. เมื่อเสร็จภารกิจการปฏิบัติงานหรือออกจากห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติ ดังนี้

5.1 ถุงมือ หน้ากากนิรภัย เสื้อกาวน์ และหมวก ต้องถอดทิ้งลงในถุงขยะติดเชื้อ (ถุงแดง) และมัดถุงให้แน่น ถุงขยะติดเชื้อดังกล่าวต้องถูกนำไปยังบริเวณที่จัดเตรียมไว้เฉพาะ เพื่อการกำจัด กรณีอุปกรณ์ป้องกันดังกล่าวมีการปนเปื้อนสารติดเชื้อต้องนำถุงที่ใส่ขยะติดเชื้อ ดังกล่าวที่ปิดสนิทแล้วมาใส่ลงในถุงขยะติดเชื้ออีกชั้นหนึ่ง และปิดปากถุงอีกครั้งด้วยเทปกาวให้สนิท เพื่อกำจัดต่อไป ส่วนอุปกรณ์ป้องกันที่ไม่มีการปนเปื้อนสารติดเชื้อให้ส่งไปกำจัดด้วยวิธีปกติ

5.2 เมื่อปฏิบัติงานเสร็จสิ้นแล้ว face shield ต้องแช่ลงใน 1% sodium hypochlorite นาน 10 นาที จากนั้นจึงล้างและผึ่งให้แห้งก่อนนำมาใช้ใหม่อีกครั้ง

5.3 ก่อนออกจากห้องปฏิบัติการวัสดุทุกอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อต้องถูกกำจัดตามวิธีในข้อ 5.1

5.4 ต้องล้างมือด้วยสบู่หรือน้ำยาล้างมือก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ

6. ห้ามเจ้าหน้าที่ที่ตั้งครรภ์หรือมีภูมิคุ้มกันบกพร่องปฏิบัติงานกับตัวอย่างของผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อไวรัสฮีปอไลตา

ภาคผนวก 5

การทำความสะอาดและฆ่าเชื้อในพื้นที่ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือ

1. ต้องมีน้ำยาฆ่าเชื้อเตรียมไว้ให้เพียงพอ เช่น มี 1% sodium hypochlorite (10% bleach stock), 70% alcohol และ 1% glutaraldehyde และต้องเตรียมใหม่ก่อนใช้งาน รวมทั้ง น้ำยาสำหรับล้างตา และ น้ำยาล้างมือ ต้องมีพร้อมใช้งาน

2. การใช้ glutaraldehyde ซึ่งเป็นสารพิษอันตราย จึงต้องใช้ใน sealed container หลังจากใช้แล้วทิ้ง ควรจัดการให้กลิ่นน้ำยาสลายหายไป

3. เมื่อวัสดุปนเปื้อนเชื้อหก ต้องใช้กระดาษซับ (pad) ที่ชุ่มด้วย 1% sodium hypochlorite วางคลุมบริเวณที่วัสดุสารปนเปื้อน ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วเช็ดออกด้วยกระดาษซับที่ทำให้ชุ่มด้วย 1% sodium hypochlorite นำขยะติดเชื่อนั้นใส่ในถุงแดง (biohazard bag) 2 ชั้น แล้วปิดผนึกด้วยเทป สำหรับนำไปทิ้ง/กำจัด

4. ถ้าวัสดุปนเปื้อนที่หก ตก หล่น นั้นเป็น aerosol หรือทำให้เกิดการฟุ้งกระจายในอากาศได้ เช่น อาจทำสิ่งปนเปื้อนเชื้อตกหล่นนอกตู้นิรภัย ต้องให้เจ้าหน้าที่ทุกคนออกจากห้องปฏิบัติการ รอจนครบ 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงเข้ามาดำเนินการตาม ข้อ 3 เพื่อทำการกำจัดวัสดุปนเปื้อน

5. ถ้ามีวัสดุปนเปื้อนหก ตก หล่น ในตู้นิรภัย ต้องทำความสะอาดฆ่าเชื้อในตู้หลังจาก วัสดุปนเปื้อนหก หรือทำงานเสร็จแล้ว และเมื่อทำงานกับตัวอย่างเชื้อ อันตรายสูง การทำความสะอาดตู้นิรภัย ให้ใช้ 1% glutaraldehyde หรือ 1% sodium hypochlorite ทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นต้องเช็ดออก เพื่อลดการสึกกร่อนของผิวตู้ ถ้าใช้สาร glutaraldehyde จะต้องปล่อยให้กลิ่นระบายออกไปให้หมด

6. ถ้ามีวัสดุปนเปื้อนหกในเครื่อง centrifuge bucket (ที่ใส่หลอดปั่น) หรือ rotor (แขนเหวี่ยง) จะต้อง autoclave หรือแช่ใน 1% glutaraldehyde โดยวางในภาชนะที่ปิดมิดชิดนาน 10 นาที

7. เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ จะต้องทำการฆ่าเชื้อปนเปื้อน ด้วย 0.5 % sodium hypochlorite โดยระบบอัตโนมัติของเครื่อง พื้นผิวภายนอกของเครื่องที่มีโอกาสสัมผัสกับตัวอย่างผู้ป่วย ต้องเช็ดด้วย 0.5 % sodium hypochlorite ถ้าบริษัทผู้ผลิตแนะนำให้ใช้น้ำยาชนิดอื่น หรือวิธีอื่นในการฆ่าเชื้อปนเปื้อน จะต้อง ตรวจสอบว่าเพียงพอต่อการ inactivate เชื้อไวรัสฮีปอไลตาหรือไม่ ถ้าวิธีนั้น ใช้ได้กับการ inactivate เชื้อ hepatitis C หรือ hepatitis B virus ก็สามารถใช้วิธีนั้น ในการฆ่าเชื้อไวรัสฮีปอไลตาได้

8. Rack (ตะแกรงที่ใช้วางหลอดทดลอง) ที่ใช้ใส่หลอดตัวอย่าง หลังจากใช้แล้ว ต้องวางในกล่องพลาสติกใส และปิดผนึกแน่น และใส่ถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่ง และทำความสะอาดผิวนอกถุงพลาสติกด้วย 1% sodium hypochlorite และบ่งชี้ ชนิดของขยะและส่งไปยัง DRA

ภาคผนวก 6

การกำจัดขยะติดเชื้อ

1. ตัวอย่างจากผู้ป่วย วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเชื้อและภาชนะที่ปนเปื้อนเชื้อ ให้เก็บในถุงแดงแล้วใส่ในกล่องพลาสติกที่ปิด ก่อนใส่ในกล่องพลาสติกต้องเช็ดทำความสะอาดฆ่าเชื้อภายนอกถุงด้วย 1% sodium hypochlorite ระบุให้ชัดเจนว่าต้องการทำลาย ให้นำไปทำลายที่ ห้อง DRA
2. อุปกรณ์ที่ต้องนำมาใช้ใหม่ ที่ไม่สามารถ autoclave ได้ใส่ในภาชนะแข็งไม่รั่ว แล้วใส่ถุงแดง ปิดผนึก และเช็ดทำความสะอาดภายนอก ด้วย 1% sodium hypochlorite และชี้บ่งบอกชนิดของอุปกรณ์ และบ่งบอกว่า for re-use ส่งไปฆ่าเชื้อที่ห้อง DRA
3. ของมีคมที่ใช้แล้วทิ้ง จะต้องเก็บในภาชนะแข็งไม่รั่ว ตามข้อกำหนดการทิ้งของมีคม เมื่อทิ้งของมีคมจนเกือบเต็ม ให้นำภาชนะนั้นใส่ลงในถุงแดง ปิดผนึกและฆ่าเชื้อภายนอก ด้วย 1% sodium hypochlorite และส่งไปที่ DRA โดยบ่งชี้ชนิดของขยะ และบ่งบอกว่ากำจัดเชื้อแล้วทิ้ง
4. สำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป ขยะติดเชื้อจะเก็บในถุงแดงสองชั้น แล้วปิดผนึก ฆ่าเชื้อภายนอกถุง ด้วย 1% sodium hypochlorite ส่งไปที่ DRA และชี้บ่งชนิดของขยะและบ่งบอกว่ากำจัดแล้วทิ้ง
5. ของเหลวปนเปื้อนเชื้อที่มาจากเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียม/ทดสอบตัวอย่างเลือด ซีรัม หรือสารคัดหลั่งอื่นๆ ก่อนทิ้งลงท่อ ต้องแช่น้ำยา sodium hypochlorite เมื่อเติมน้ำลงไปปริมาณเพียงพอ ต้องได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1% แช่นาน 10 นาที

ภาคผนวก 7

การดำเนินการเมื่อเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเกิดอุบัติเหตุติดเชื้ออันตราย ระหว่างการทำงาน

เมื่อมีเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ทำความสะอาดสัมผัสเลือด หรือสารคัดหลั่งจากผู้ป่วย หรือผู้สงสัยว่าติดเชื้อไวรัสฮีโบล่า โดยการถูกเข็มตำ หรือเชื้อกระเด็นเข้าตา ปาก จมูก ผิวน้ำที่มีบาดแผล ให้ปฏิบัติ ดังนี้

1. ผู้รับผิดชอบต้องรายงานตามระบบ และนำผู้ประสบอุบัติเหตุส่งแพทย์ทันที
2. เจ้าหน้าที่ผู้ประสบอุบัติเหตุ จะต้องรายงานอาการ และวัดอุณหภูมิร่างกายทุกวัน ถ้าอาการไม่ดีขึ้น หรือมีไข้ ต้องรีบพบแพทย์ทันที

ภาคผนวก 8

วิธีปฏิบัติในการนำส่งตัวอย่างที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนดแนวทางในการรับและบรรจุตัวอย่าง เฉพาะตัวอย่างที่ได้รับการประสานจากทีมสอบสวนโรคของสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด หรือ สำนักงานป้องกันและควบคุมโรคเขต หรือ สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค เท่านั้น ไม่รับการประสานจากโรงพยาบาลโดยตรง

วิธีการเก็บและนำส่งตัวอย่าง

ผู้เก็บตัวอย่าง หมายถึง ผู้ที่มีหน้าที่เก็บวัตถุตัวอย่างจากร่างกายผู้ป่วย ควรสวมใส่ชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) ให้ครบถ้วน ได้แก่ เสื้อคลุมควรเป็นชนิดป้องกันของเหลวซึมผ่าน หมวกคลุมผม หน้ากากนิรภัย N95 หรือ เครื่อง respirator hood with supplied filtered-air (powered air purifying respirator; PAPR) อุปกรณ์ป้องกันอันตรายบริเวณใบหน้า (face shield) สวมใส่ถุงมือ 2 ชั้น และ ถุงหุ้มรองเท้า หรือสวมใส่ PPE ตามที่สถานพยาบาลนั้นกำหนด เมื่อเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยเสร็จแล้ว ควรเปลี่ยน PPE ใหม่ทั้งหมดก่อนออกสู่พื้นที่อื่นหรือพื้นที่สาธารณะ PPE ที่สวมใส่ ในขณะที่เก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อสูงมากให้ทำการฆ่าเชื้อหรือทำลาย PPE นั้นหลังการใช้งาน

ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 1 (D: dirty person) หมายถึง ผู้ที่มีหน้าที่จะต้องหยิบจับหรือสัมผัสกับขวดหรือหลอดวัตถุตัวอย่างจากผู้ป่วย ที่จะบรรจุลงในกล่อง 3 ชั้น เพื่อการขนส่งตัวอย่าง ควรสวมใส่ PPE ได้แก่ เสื้อคลุม หมวกคลุมผม หน้ากากนิรภัย N 95 แว่นตา และใส่ถุงมือ 2 ชั้น

ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 2 (C : clean person) หมายถึงผู้ที่มีหน้าที่ช่วยในการเปิดปิดกล่อง 3 ชั้น และ ล้างกล่องเพื่อการขนส่ง ห้ามสัมผัสกับขวดหรือหลอดวัตถุตัวอย่าง ควรสวมใส่ PPE ได้แก่ เสื้อคลุม หมวกคลุมผม หน้ากากนิรภัย N 95 แว่นตา และใส่ถุงมือ 2 ชั้น

1. การนำขวด/หลอดวัตถุตัวอย่างออกนอกห้องผู้ป่วย ก่อนเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย ควรเตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่จะใช้ในการเก็บตัวอย่างให้พร้อม รวมทั้งขวด/หลอดสำหรับใส่วัตถุตัวอย่างเขียนรายละเอียดผู้ป่วย เช่น ชื่อผู้ป่วย ชนิดของตัวอย่าง วันเดือนปีบนฉลากข้างขวด/หลอดให้ครบถ้วนปิดทับฉลากด้วยวัสดุกันน้ำ เมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว ถอดถุงมือชั้นนอกสุด เปลี่ยนสวมใส่ถุงมือคู่มือใหม่ ทำการฆ่าเชื้อภายนอกขวดหรือหลอดวัตถุตัวอย่างโดยฉีดพ่นหรือเช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ควรตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลบนฉลากข้างขวดหรือหลอดวัตถุตัวอย่างอีกครั้ง จากนั้นนำขวดหรือหลอดวัตถุตัวอย่างใส่กล่องหรือภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด ตั้งขวด/หลอดวัตถุตัวอย่างในสภาพตั้งตรง เพื่อป้องกันการหกกระจายของตัวอย่าง ฉีดพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อภายนอกกล่องหรือภาชนะที่ขนส่งตัวอย่าง ถอดชุด PPE ทั้งในถังขยะติดเชื้อ และนำไปทำลายหรือฆ่าเชื้อ

2. การบรรจุตัวอย่างลงในกล่อง 3 ชั้น เพื่อการขนส่ง

การบรรจุขวด/หลอดวัตถุตัวอย่างลงในกล่อง 3 ชั้นเพื่อการขนส่ง ควรทำในห้องที่สะอาด มีประตูปิดมิดชิดจำกัดคนเข้าออก เตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่จะใช้ให้ครบถ้วน และดำเนินการตามลำดับ ดังนี้

ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 1 (D) พันขวดหรือหลอดวัตถุตัวอย่างด้วยกระดาษซับ ห่อตัวอย่างด้วยวัสดุกันกระแทก โดยม้วนวัสดุกันกระแทกเข้าด้านใน



ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 2 (C) เปิดฝากระป๋อง (primary container) ฝากล่องโฟม (secondary container) และ ฝากล่องกระดาษชั้นนอก (outer container) เตรียมขวดน้ำยาฆ่าเชื้อไว้พร้อมใช้งาน



ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 1 (D) หย่อนขวด/หลอดวัตถุตัวอย่างที่ห่อหุ้มด้วยวัสดุกันกระแทกลงในกระป๋องที่ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 2 เปิดฝาอรับ รมั้ดระวังไม่ให้มือสัมผัสฝากล่อง



ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 2 (C) ปิดฝากระป๋องให้แน่น พันน้ำยาฆ่าเชื้อภายนอกกระป๋องโดยรอบ นำกระป๋องวางลงในกล่องโฟม (secondary container) ถอดถุงมือชั้นนอกทิ้งในถังหรือถุงขยะติดเชื้อ ใส่ ice pack รอบๆกระป๋อง ปิดฝากล่องโฟม ปิดผนึกฝากล่องโฟมด้วยเทปเพื่อรักษาอุณหภูมิภายในกล่องโฟม พันน้ำยาฆ่าเชื้อให้ทั่วบริเวณฝากล่องโฟม ถอดถุงมือทิ้งในถุงขยะติดเชื้อ



ผู้บรรจุตัวอย่างคนที่ 2 (C) ปิดฝากล่องกระดาษชั้นนอกสุดให้เรียบร้อย ติดป้ายสัญลักษณ์สากลที่ข้างกล่อง ได้แก่ infectious substance และ package orientation ฉลาก proper shipping name, UN specification, สัญลักษณ์อันตรายอื่นๆที่เกี่ยวข้อง ชื่อที่อยู่ผู้รับและผู้ส่งตัวอย่าง รวมไปถึงผู้สามารถติดต่อได้ในกรณีฉุกเฉิน (ตามรูป)

การติดสัญลักษณ์สากลข้างกล่องขนส่งตัวอย่างตามข้อกำหนดขององค์การสหประชาชาติ (A Guide for Shippers of Infectious Substances, 2013; www.who.int/ihr/infectious_substances/en)

ประเภทของสัญลักษณ์สากลในการขนส่งวัตถุตัวอย่างและการติดสัญลักษณ์

Marking

1. Shipper's name and address
2. Receiver's name and address
3. Emergency contact information (ชื่อและเบอร์โทรศัพท์ผู้ที่ติดต่อได้ตลอด 24 ชั่วโมงในกรณีฉุกเฉิน)
4. UN Specification Marking
5. UN Number (โดยเฉพาะ Category B)
6. Proper Shipping Name and UN Number
(Category A, [www.iata.org/whatwedo/cargo/dgr/Documents/DGR52_InfectiousSubstances\(DGR362\).pdf](http://www.iata.org/whatwedo/cargo/dgr/Documents/DGR52_InfectiousSubstances(DGR362).pdf))

Labels

7. Infectious substance labels
8. Dangerous substance labels (UN1845 dry ice net quantity kg)
9. Package orientation labels

MARKINGS

1 SHIPPER AREA TIME LOGISTICS BP 102 ERAGNY/OISE F-95613 CERGY Pontoise CTC SEAN KAUFMAN	2 RECEIVER LAB PASTEUR CERBA RUE DE L'EQUERRE F-44567 FORT DE FRANCE CTC NICOLETTA ESPRETTY
3 EMERGENCY CONTACT 24H/24H Dr RAFY : + 33 1 34 02 46 58	
4 U n	4G/CLASS 6.2/02 F/BVT 312103
5 UN 3373	6 INFECTIOUS SUBSTANCE, AFFECTING HUMANS UN2814

LABELS

7 INFECTIOUS SUBSTANCE In case of damage or leakage immediately notify public health authority	9 ↑↑
--	-------------

1 SHIPPER'S NAME AND ADDRESS :

Tel:

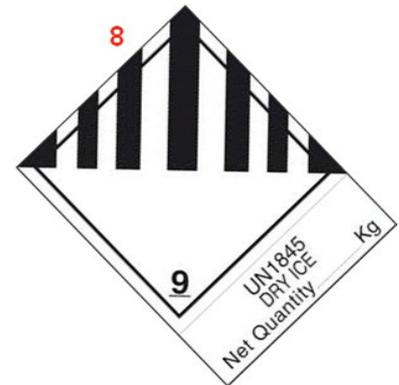
2 RECEIVER'S NAME AND ADDRESS :

Tel:

3 EMERGENCY CONTACT INFORMATION:

Tel:

6 INFECTIOUS SUBSTANCE,
AFFECTING HUMANS
UN 2814 Net.Qty.....mL



2010

SHIPPERS' PROGRAMME

Marking and Labelling Packages of Infectious Substances

Page 8 of 42

Category A Markings and Labels

Markings

- Shipper's name and address
- Receiver's name and address
- Name and telephone of responsible person (who is available 24 hours a day until shipment arrives)
- Proper Shipping Name and UN Number
- UN Specification Marking

Labels

- Infectious substance label
- Package orientation label (only used when primary container exceeds 50ml)

MARKINGS

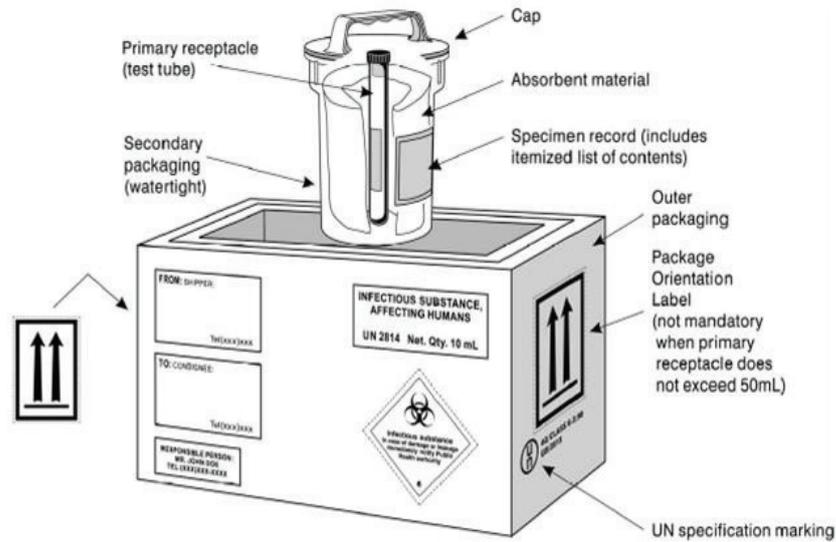
SHIPPER AREA TIME LOGISTICS BP 102 ERAGNY/OISE F-95613 CERGY Pontoise CTC SEAN KAUFMAN	RECEIVER LAB PASTEUR CERBA RUE DE L'EQUERRE F-44567 FORT DE FRANCE CTC NICOLETTA ESPRETTY
EMERGENCY CONTACT 24H/24H Dr RAFY : + 33 1 34 02 46 58	
U n	4G/CLASS 6.2/02 F/BVT 312103
UN 3373	INFECTIOUS SUBSTANCE, AFFECTING HUMANS UN2814

LABELS

INFECTIOUS SUBSTANCE In case of damage or leakage immediately notify public health authority 6	↑↑
--	----

Packing Instruction 602 (PI602)

This packaging is used for Category A infectious substances



หลังจากบรรจุตัวอย่างในกล่องส่งวัตถุตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว ให้เจ้าหน้าที่ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในพื้นที่รับผิดชอบเป็นผู้ติดสัญลักษณ์สากลและตรวจสอบเอกสารก่อนขนส่งกล่องวัตถุตัวอย่างมายังกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี

3. การขนส่งกล่องวัตถุตัวอย่าง

การขนส่งกล่องวัตถุตัวอย่างโดยรถยนต์ ควรวางกล่องวัตถุตัวอย่างในพื้นที่ราบมีอุปกรณ์ช่วยยึดกล่องให้อยู่ติดกับตัวรถอย่างมั่นคง และไม่ถูกแสงแดดโดยตรง ควรมีชุดเก็บกวาดสารชีวภาพหกหล่น (biological spill kit) ประจำรถไปด้วย เพื่อใช้หากเกิดเหตุฉุกเฉิน มีชื่อและหมายเลขโทรศัพท์ผู้ติดต่อกรณีเกิดเหตุฉุกเฉิน (ตามวิธีการขนส่งตัวอย่างในคู่มือการเก็บตัวอย่างและความปลอดภัยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พ.ศ. 2557)

การขนส่งกล่องวัตถุตัวอย่างทางอากาศ ให้ปฏิบัติตามระเบียบของสายการบิน

4. น้ำยาฆ่าเชื้อ (Disinfectant solution)

น้ำยาซักผ้าขาว 1 ส่วน และ น้ำสะอาด 9 ส่วน ผสมน้ำยาในน้ำสะอาด ให้เตรียมใหม่ทุกครั้ง

5. ชุดเก็บกวาดสารชีวภาพหกหล่น (Biological Spill Kit) ประกอบด้วย

- วิธีการจัดการ (Instruction Protocol)
- อุปกรณ์

- ชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (personal protective equipment, PPE) ได้แก่ เสื้อคลุม หน้ากากนิรภัย N95 หรือ หน้ากากอนามัย (ถ้าขนส่งเชื้อโรคอันตรายร้ายแรงหรือติดต่อทางเดินหายใจให้ใช้หน้ากาก N95) หมวกคลุมผม แวนตา หรือ อุปกรณ์ป้องกันอันตรายบริเวณใบหน้า (face shield) ถุงมือ ถุงหุ้มรองเท้า
- ชุดอุปกรณ์เก็บกวาด ได้แก่ กระจาดขี้บั้ง แปรง ที่โกยเศษวัสดุ ปากคีบ
- ภาชนะทิ้งเศษวัสดุมีคม (leak-proof sharps container)
- ถังใส่วัสดุติดเชื้อ
- น้ำยาฆ่าเชื้อ (Disinfectant solution)



ภาคผนวก 9

แนวทางการจัดการตัวอย่างส่งตรวจเชื้อไวรัสอีโบล่า กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

เมื่อต้องการส่งสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจเชื้อไวรัสอีโบล่า ให้ปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอน	ผู้รับผิดชอบ
1. ประสานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เพื่อขอสนับสนุน Sample transport container ระบุชัดเจนว่าเป็นตัวอย่างสงสัย EBOLA - ส่วนกลาง/ปริมนทลประสานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข - ส่วนภูมิภาคประสานศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์	สสจ. สคร. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุม
2. เดินทางไปรับและบรรจุตัวอย่างในบรรจุภัณฑ์ 3 ชั้นและแช่เย็นในกล่อง เอกสารส่งตรวจใส่ซองข้างนอกกล่องบรรจุตัวอย่าง	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
3. นำส่งตัวอย่างมาที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี	ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ (กรณีส่วนภูมิภาค)
4. วิเคราะห์เชื้ออีโบล่า 4.1 ตรวจเชื้อไวรัสอีโบล่าด้วยวิธี real time RT-PCR 4.2 เก็บตัวอย่างแช่ -70°C กรณีต้องการตรวจยืนยันเพิ่มเติมส่งต่อ US-CDC 4.3 ประสานและจัดเตรียมเอกสารเพื่อการส่งตัวอย่างไปที่ US-CDC 4.4 ติดต่อ World Courier เพื่อการส่งของทางอากาศตามการขนส่งระหว่างประเทศ IATA	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กิตติกรรมประกาศ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ขอขอบคุณ นางศิริรัตน์ ลิกานนท์สกุล นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ และทีมงานจากกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค และ Dr. Toni Whistler, Director Strengthening Laboratory Capacity Program ศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐ ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ

เอกสารอ้างอิง

Technical Report series ; Laboratory Precautions for Samples Collected from Patients with Suspected Viral Haemorrhagic Fevers, Commonwealth of Australia 2001: 1-19.

แนวทางการดำเนินงาน เฝ้าระวัง สอบสวน ป้องกัน และควบคุมโรค Ebola ประเทศไทย 2557 สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค

Centers for Disease Control and Prevention. Ebola Hemorrhagic Fever [Online]. [cited 2014Aug7]; [1 screen] Available from: URL: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidance for Managing Patients with Suspected Viral Hemorrhagic Fever in U.S. Hospitals. May 19, 2005.

Centers for Disease Control and Prevention. Instructions for submitting Diagnostic Specimens to CDC's Viral Special Pathogens Branch.

WHO recommended Guidelines for Epidemic Preparedness and Response: Ebola Haemorrhagic Fever (EHF).[Online]. [cited 2014 Aug 7]; [5 screens] Available from: URL: <http://www.who.int/emc>

รายนามผู้จัดทำ

1. ดร.อารี ทัดติยพงศ์
2. นางสุขใจ ผลอำไพสถิตย์
3. นายวัฒนพงศ์ วุทธา
4. ดร.วิมล เพชรกาญจนางค์
5. ดร.เกรียงศักดิ์ ฤชฤศาวัต
6. ดร.อารีรัตน์ สง่าแสง
7. นางสาวนันทวรรณ เมฆา
8. นางสาวอัจฉรียา อนุกุลพิพัฒน์
9. ดร.พิไลลักษณ์ อัครไพบุลย์ โอภาตะ
10. นายรติกร กัณฑ์พงษ์
11. นายอธิวัฒน์ ปริมสิริคุณาวุฒิ
12. นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชัย
13. ดร.ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์

นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ เชี่ยวชาญ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการพิเศษ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ชำนาญการ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ชำนาญการ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ชำนาญการ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ชำนาญการ



คู่มือ

การตรวจวิเคราะห์และจัดการ
สิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยสงสัย

โรคติดเชื้ออีโบล่า