

การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดนกทางห้องปฏิบัติการ และ วิธีเก็บและส่งตัวอย่างเพื่อตรวจชันสูตรโรคไข้หวัดนก

นายแพทย์รุ่งเรือง กิจผาติ, คุณปรานี ชวัชสุภา, นายแพทย์สมชาย แสงกิจพร
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดนกทางห้องปฏิบัติการ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้ตระหนักว่า ปัญหาโรคติดเชื้ออุบัติใหม่ (Emerging infectious diseases) เป็นปัญหาที่สำคัญและได้ดำเนินการเฝ้าระวังโรคทางห้องปฏิบัติการอย่างเป็นระบบมาเป็นระยะเวลานาน ประกอบกับมีการระบาดของโรคไข้หวัดนก (Avian influenza) เมื่อต้นปี 2547 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ดำเนินการเตรียมการเพื่อรองรับการกลับมาระบาดของโรคไข้หวัดนก ดังนี้

1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้มีการเฝ้าระวังโรคไข้หวัดนกทางห้องปฏิบัติการในพื้นที่ ทั้งในกรุงเทพมหานครและจังหวัดต่าง ๆ ทั่วประเทศ โดยมีการประสานผลการตรวจชันสูตรกับสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค

2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยฝ่ายไวรัสระบบทางเดินหายใจ และฝ่ายปฏิบัติการเชื้ออันตรายสูง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้พัฒนาวิธีการตรวจชันสูตรสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่สงสัยว่า ติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนก ให้มีประสิทธิภาพและสามารถรองรับสถานการณ์การระบาดของโรค ดังนี้

2.1 เมื่อได้ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากน้ำคัดหลั่งจากบริเวณโพรงจมูก ทางเดินหายใจส่วนบน หรือทางเดินหายใจส่วนล่างของผู้ป่วย จะตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งเป็นเทคนิคการตรวจระดับโมเลกุล หากให้ผลบวก จะสามารถทราบผลได้ภายใน 1 วัน โดยการอ่านผลสามารถให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดนก หรือเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ทั้งชนิดและsubtype

2.2 หากได้สิ่งส่งตรวจมีปริมาณที่มากพอหรือเก็บอย่างถูกวิธี ทำให้มีปริมาณเซลล์และเชื้อมากพอ จะทำการตรวจด้วยวิธี IFA (Immunofluorescence assay) จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโดยตรง ควบคู่ไปกับวิธี PCR วิธี IFA เป็นวิธีการตรวจมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก โดยใช้ Monoclonal antibody ที่ได้รับจากองค์การอนามัยโลก ซึ่งทราบผลการตรวจภายใน 1 วัน การตรวจด้วยวิธี IFA สามารถยืนยันชนิดของเชื้อไวรัสและ subtype

2.3 ในกรณีที่สิ่งส่งตรวจมีปริมาณไม่มากพอหรือเก็บไม่ถูกวิธี หรือผลการตรวจ IFA หรือ PCR เบื้องต้นให้ผลลบ จะนำสิ่งส่งตรวจลงเพาะเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเชื้อ ซึ่งหากให้ผลบวกจะทราบผลภายในระยะเวลา 1 ถึง 14 วัน (ขึ้นอยู่กับว่ามีเชื้อไวรัสหรือไม่ และมีปริมาณเท่าใด) ในกรณีที่เพาะเชื้อจนพบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพาะเชื้อ ซึ่งอาจพบการเปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่ 1 ถึง 14 วัน จะนำน้ำจากเซลล์เพาะเชื้อมาตรวจด้วยวิธี PCR และ IFA อีกครั้ง นอกจากการตรวจเชื้อไวรัสไข้หวัดนกแล้ว ยังตรวจหาเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจอย่างอื่นด้วย เช่น Influenza virus, Adenovirus, Respiratory Syncytial virus (RSV) เป็นต้น ซึ่งทำให้ทราบผลการวินิจฉัยว่าพบเชื้อชนิดใด โดยใช้ระยะเวลาการตรวจ 1 วัน หลังจากพบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพาะเชื้อ

2.4 หากพ้นระยะเวลา 14 วัน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพาะเชื้อ ถือว่าให้ผลลบ หมายถึงตรวจไม่พบการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนก รวมถึงเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจอื่น ๆ

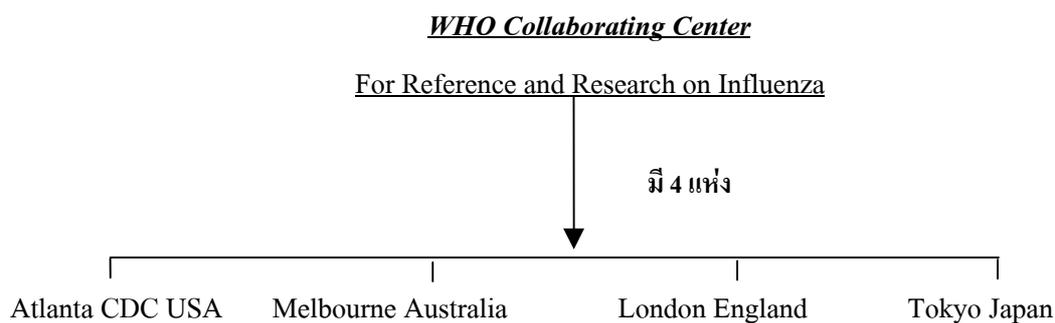
2.5 สำหรับตัวอย่างที่ตรวจพบ และตรวจไม่พบเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ส่งตรวจยืนยันไปยังห้องปฏิบัติการอ้างอิงในเครือข่ายขององค์การอนามัยโลก อย่างสม่ำเสมอตลอดมา

หมายเหตุ วิธีและขั้นตอนการตรวจชันสูตรทางห้องปฏิบัติการ จะพิจารณาตามลักษณะเวชกรรมและปัจจัยเสี่ยงทางระบาดวิทยาของผู้ป่วยตามความเหมาะสม

3 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยฝ่ายไวรัสระบบทางเดินหายใจ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้รับการแต่งตั้งให้เป็น WHO National Influenza Center โดยเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับชาติ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2515 และได้มีการเฝ้าระวังทางห้องปฏิบัติการสำหรับเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ ชนิดและ subtype ต่าง ๆ รวมทั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดนกในคน ตลอดมา โดยมีวัตถุประสงค์ของศูนย์ดังนี้

- เพื่อประสานความร่วมมือในการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่
- เพื่อให้เครือข่ายส่งเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดใหม่ ๆ ไปห้องคัดกรองนามัยโลกยืนยัน เพื่อการป้องกันการระบาดของโรคและควบคุมโรค
- เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสม ไปใช้ในการคัดเลือกวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ ที่มีการประกาศโดยองค์การอนามัยโลกทุกปี

แผนภูมิ แสดงศูนย์ความร่วมมือในการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ทางห้องปฏิบัติการขององค์การอนามัยโลก



นอกจากนั้น องค์การอนามัยโลกจัดตั้ง WHO National Influenza Center (NIC) ขึ้น 110 แห่งใน 82 ประเทศ ซึ่ง WHO National Influenza Center ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นหนึ่งใน NIC ดังกล่าว

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้พัฒนาระบบรายงานผลการตรวจชันสูตร ทั้งในกรณีเร่งด่วนและในกรณีปกติ ซึ่งจะรายงานผลการตรวจทันที เมื่อทราบผลการตรวจชันสูตร โดยจะรายงานผลกลับไปยัง

- แพทย์ผู้รักษาผู้ป่วย
- สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค
- หน่วยงานควบคุมโรคในระดับพื้นที่ เช่น สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดและสำนักงานป้องกันควบคุมโรค

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดตั้งสายด่วนการตรวจชันสูตรโรคไข้หวัดนก (Call center) สำหรับสอบถามข้อมูลการตรวจชันสูตรทางห้องปฏิบัติการ โดยสามารถติดต่อได้ที่ โทร. 0-2951-0000-11 หรือ โทร. 0-1989-1978 ตลอด 24 ชั่วโมง

วิธีเก็บและส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยสงสัยไข้หวัดนก

ตัวอย่างเพื่อการตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) และการแยกเชื้อไวรัส (Viral isolation & IFA)

ควรเก็บตัวอย่างให้เร็วที่สุด เมื่อพบผู้ป่วยในระยะแรกๆ ที่เริ่มปรากฏอาการของโรค (อย่างช้าภายใน 3-5 วัน) การเก็บใช้วิธีไร้เชื้อ (aseptic technique) ตัวอย่างแยกเชื้อ ได้แก่ Nasopharyngeal aspiration, Nasopharyngeal swab และ Nasal swab

Nasopharyngeal aspirate เก็บโดยใช้สายพลาสติกที่ต่อกับเครื่องดูดใส่เข้าไปในช่องจมูก ดูดสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจประมาณ 2-3 มล. ใส่ในหลอดที่ปราศจากเชื้อ กรณีดูดเสมหะได้น้อย ใช้ Viral Transport Media ล้างเซลล์ที่ล้างสายลงในหลอด การเก็บจาก Nasopharyngeal aspirate ให้ค่า Yield ในการตรวจชันสูตรสูงที่สุด

(หมายเหตุ อาจเก็บโดยวิธี Suction จาก Endotracheal tube ในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง)

Nasopharyngeal swab เป็นวิธีการเก็บตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจชั้นสูตรที่ได้ค่า Yield ค่อนข้างสูง (แต่วิธีการเก็บตัวอย่างอาจทำได้ค่อนข้าง)

วิธีการเก็บ

1. ผู้เก็บตัวอย่างต้องป้องกันตนเองจากการติดเชื้อและการแพร่เชื้อสู่ชุมชน
2. ต้องเตรียมผู้ป่วย โดยให้แหงนหน้าขึ้นประมาณ 45 องศา อธิบายให้ผู้ป่วยคลายความวิตกกังวล
3. วัสดุไม้สวอบ (Nasopharyngeal swab) จากปลายจมูกถึงคิงหูของผู้ป่วย แล้วหักครึ่งให้ไม้สวอบทำมุม 90 องศา
4. ให้ผู้ป่วยหายใจเข้าลึก ๆ และหายใจออกยาว ๆ หลังจากนั้นให้ผู้ป่วยกลืนหายใจ
5. ผู้เก็บตัวอย่างควรเข้าเก็บตัวอย่างจากด้านหลังของผู้ป่วย เพื่อป้องกันการติดเชื้อมาสู่ผู้เก็บตัวอย่าง
6. สอดไม้สวอบ (Nasopharyngeal swab) เข้าจนสุดของครึ่งที่ได้หักไว้ (ถ้าสอดเข้าไม่ได้จนสุด แสดงว่าปลายสวอบเข้าไม่ถึงบริเวณ Nasopharynx) ให้พยายามขยับทิศทางของไม้เล็กน้อย จนสอดเข้าได้ การสอดไม้สวอบควรสอดในทิศทางตั้งฉากกับใบหน้าของผู้ป่วย จะทำให้สามารถสอดไม้สวอบเข้าจนสุดได้
7. หมุนไม้สวอบโดยรอบประมาณ 3 วินาที แล้วดึงไม้สวอบออก
8. จุ่มปลายสวอบลงใน Viral Transport Media และตัดปลายสวอบส่วนเกินจากหลอดเก็บตัวอย่าง
9. ปิดฝาและนำส่ง ตัวอย่างส่งตรวจเหล่านี้ต้องปิดจุกให้สนิท พันด้วยเทป ปิดฉลาก แจ้งชื่อผู้ป่วย ชนิดของตัวอย่าง วันที่เก็บ บรรจุใส่ถุงพลาสติก รัดยางให้แน่น แห้งในกระดิกน้ำแข็ง รีบนำส่งทันที ถ้าจำเป็นต้องรอ ควรเก็บไว้ในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) ห้ามแช่ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น ถ้าต้องการเก็บนานเกิน 72 ชั่วโมงให้เก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ Viral Transport Media ขอได้ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง



รูปที่ 1 แสดงการเก็บด้วยวิธี Nasopharyngeal swab

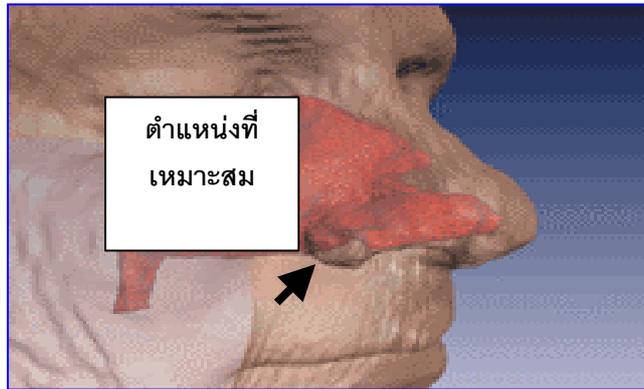
Nasal swab เป็นวิธีการเก็บที่ทำได้สะดวก (แต่ค่า Yield อาจไม่สูงมาก)

วิธีการเก็บ

1. ผู้เก็บตัวอย่างต้องป้องกันตนเองจากการติดเชื้อและการแพร่เชื้อสู่ชุมชน
2. ต้องเตรียมผู้ป่วย โดยให้แหงนหน้าขึ้นประมาณ 45 องศา อธิบายให้ผู้ป่วยคลายความวิตกกังวล
3. วัสดุไม้ Nasal swab จากปลายจมูกถึงบริเวณโพรงจมูกดังรูปที่ 2
4. ให้ผู้ป่วยหายใจเข้าลึก ๆ และหายใจออกยาว ๆ หลังจากนั้นให้ผู้ป่วยกลืนหายใจ
5. ผู้เก็บตัวอย่างควรเข้าเก็บตัวอย่างจากด้านหลังของผู้ป่วย เพื่อป้องกันการติดเชื้อมาสู่ผู้เก็บตัวอย่าง
6. สอดไม้สวอบเข้าจนถึงบริเวณโพรงจมูก
7. หมุนไม้สวอบโดยรอบประมาณ 3 วินาที แล้วดึงไม้สวอบออก

8. จุ่มปลายสวอบลงใน Viral Transport Media และหักไม้สวอบส่วนเกินจากหลอดเก็บตัวอย่าง
9. ปิดฝาและนำส่ง ตัวอย่างส่งตรวจเหล่านี้ต้องปิดจุกให้สนิท พันด้วยเทป ปิดฉลาก แจ้งชื่อผู้ป่วย ชนิดของตัวอย่าง วันที่เก็บ บรรจุใส่ถุงพลาสติก รัดยางให้แน่น แซ้ในกระติกน้ำแข็งรีบนำส่งทันที ถ้าจำเป็นต้องรอ ควรเก็บไว้ในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) ห้ามแช่ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น ถ้าต้องการเก็บนานเกิน 72 ชั่วโมงให้เก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ Viral Transport Media ขอได้ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง



รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งที่เหมาะสมบริเวณโพรงจมูกของผู้ป่วย ที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธี Nasal swab

หมายเหตุ การตรวจตัวอย่าง Nasopharyngeal aspirate จะมีโอกาสตรวจพบเชื้อได้เร็วที่สุดภายใน 1-2 วัน ถ้าใช้ Nasal swab อาจจะต้องนำไปเลี้ยงในเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อเสียก่อน และไม่แนะนำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธี Throat swab เนื่องจากให้ค่า Yield ในการตรวจต่ำมาก

ตัวอย่างเพื่อตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม

ควรเจาะเลือดตรวจ 2 ครั้ง เจาะเลือดในระยะเริ่มเป็นโรค (acute serum) และระยะโรคทุเลา (convalescent serum) ห่างประมาณ 14 วัน ในกรณีที่ไม่สามารถเจาะเลือดได้ตั้งแต่ระยะแรกของการติดเชื้อ อาจตรวจหา IgM จาก convalescent serum

วิธีเจาะเลือด

เจาะจากเส้นเลือดดำประมาณ 3-5 มล. ปั่นแยกซีรัมใส่หลอดไร้เชื้อ ปิดจุกให้สนิท ปิดฉลาก เก็บใส่ตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) รอจนได้ซีรัมครั้งที่ 2 บรรจุรวมใส่ถุงพลาสติก รัดยาง แซ้ในกระติกน้ำแข็ง ส่งตัวอย่างพร้อมกัน สถานที่ติดต่อ

ศูนย์ประสานงานการตรวจวิเคราะห์และเฝ้าระวังโรคทางห้องปฏิบัติการ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข 88/7 ซอยโรงพยาบาลบาราศนราดรุร

ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

หรือที่ Call center โทร. 0-2951-0000-11 หรือ ที่โทร. 0-1989-1978 ตลอด 24 ชั่วโมง

