

MEDTECH-HCU

การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ จุลชีววิทยา : ตอนที่ 2

ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์

รองศาสตราจารย์อิสยา จันทรวินยานุชิต

คณะเทคนิคการแพทย์ ม.หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นและสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพราะจะทำให้ได้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้อง (accuracy) แม่นยำ (precision) และน่าเชื่อถือ (reliability) ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อแพทย์ในการนำผลการทดสอบไปใช้ในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและทันเวลาที่ นอกจากนี้ยังทำให้ห้องปฏิบัติการนั้นได้รับความเชื่อถือและการยอมรับจากผู้ให้บริการอีกด้วย

การทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ (antimicrobial susceptibility testing)

การทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพวิธี Kirby-Bauer หรือ disk diffusion เป็นวิธีที่ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) รับรอง และใช้เป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา การควบคุมคุณภาพจะต้องทำทุกขั้นตอน ได้แก่

1. Mueller-Hinton agar (MHA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐานสำหรับทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ ควรมี pH 7.2-7.4 มีความหนาของวุ้น 4 มิลลิเมตร และมีการควบคุมปริมาณของ calcium, magnesium, thymidine ไม่ให้สูงเกินกำหนด เพราะจะมีผลต่อการทดสอบเชื้อและสารต้านจุลชีพบางชนิด
2. 0.5 McFarland turbidity standard เป็นความขุ่นมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบกับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียเตรียมโดยใช้ 1.175% BaCl₂ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ 1% H₂SO₄ 99.5 มิลลิลิตร และตรวจสอบโดยใช้ spectrophotometer วัดค่าดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 625 นาโนเมตร ควรมีค่า OD ระหว่าง 0.08-0.13
3. การเตรียมเชื้อ โดยใช้วิธี growth method หรือ direct colony suspension และปรับความขุ่นด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ เทียบกับ 0.5 McFarland standard โดยใช้ตาเปล่าหรือเครื่อง benchtop nephelometer จะได้ปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 CFU/mL

4. แผ่นยา ควรเก็บในกล่องปิดสนิทและมีสารดูดความชื้น กรณีเก็บเป็นเวลานาน (stock disk) ควรเก็บในตู้แช่แข็งที่ไม่ใช่ระบบ freeze-thaw ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่วนแผ่นยาที่กำลังใช้งานอยู่ (working disk) ควรเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส และตั้งกล่องไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-2 ชั่วโมงก่อนเปิดกล่อง

5. เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน ที่ควรมีประจำห้องปฏิบัติการและทำการทดสอบทุกสัปดาห์ ได้แก่

5.1 *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

5.2 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 เป็นตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก สำหรับการทดสอบ disk diffusion และ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 สำหรับการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration, MIC)

5.3 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 เป็นตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ดื้อยา ใช้ทดสอบคุณภาพของ Mueller-Hinton agar เกี่ยวกับปริมาณของ calcium และ magnesium (Ca^{2+} , Mg^{2+}) โดยทดสอบกับสารต้านจุลชีพกลุ่ม aminoglycoside และทดสอบกับสารต้านจุลชีพชนิดใหม่

5.4 *Escherichia coli* ATCC 35218 ใช้ทดสอบกับสารต้านจุลชีพกลุ่ม beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combination

5.5 เชื้อเจริญเติบโตยาก ได้แก่ *Haemophilus influenzae* ATCC 49247, *Haemophilus influenzae* ATCC 49766, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226

5.6 *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ใช้ควบคุมการทดสอบแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL

5.7 *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ใช้ทดสอบคุณภาพของ Mueller-Hinton agar ว่ามีปริมาณ thymidine สูงเกินไปหรือไม่ โดยทดสอบกับ sulfonamide, trimethoprim, trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) ซึ่งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่นยาควรมากกว่า 20 มิลลิเมตร

6. การวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบแผ่นยา (inhibition zone) ควรใช้ไม้บรรทัดที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว ขนาดควรอยู่ในช่วงที่กำหนดในตารางของ CLSI M100-S19 เช่น ถ้าทดสอบ ampicillin (30 ไมโครกรัม) กับ *E. coli* ATCC 25922 ควรมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16-22 มิลลิเมตร

บุคลากร (Personnel)

คุณภาพของบุคลากรเป็นสิ่งที่มีความสำคัญมากในการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการ บุคลากรจะต้องมีความรู้ ความชำนาญ มีทักษะในการปฏิบัติงานที่ดี และมีประสบการณ์ในการแก้ปัญหาเฉพาะหน้าได้ โดยบุคลากรใหม่ควรได้รับคำชี้แจงเกี่ยวกับแนวทางในการปฏิบัติงาน และฝึกปฏิบัติงานในทุกด้านก่อนลงมือปฏิบัติด้วยตนเอง มีการส่งเสริมให้บุคลากรเพิ่มพูนความรู้ทางวิชาการที่ทันสมัย ได้แก่ จัดสัมมนาทางวิชาการในห้องปฏิบัติการ สนับสนุนให้บุคลากรเข้าร่วมสัมมนาทางวิชาการร่วมกับแพทย์ ในโรงพยาบาล และหน่วยงานภายนอกที่เกี่ยวข้อง ห้องปฏิบัติการควรมีหนังสือหรือวารสารวิชาการที่เกี่ยวข้องกับงาน เพื่อจะได้รับทราบเกี่ยวกับความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีใหม่ ๆ ทางด้านการวินิจฉัยเชื้อหรือการดื้อยาอยู่ตลอดเวลา

การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (Proficiency testing of laboratory)

การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการเป็นการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจประกอบด้วย

1. การประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายใน (internal quality assessment) โดยผู้รับผิดชอบการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการจะทำการส่งสิ่งส่งตรวจจำลองเสมือนกับสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย (internal unknown specimen) ให้กับบุคลากรภายในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิเคราะห์ โดยเวียนทดสอบทุกคนอย่างน้อยคนละ 1 ตัวอย่างต่อเดือน

2. การประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment) ซึ่งส่วนใหญ่มาจากองค์กรหลักคือ สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ส่งวัตถุทดสอบสำหรับการเพาะเลี้ยงและวินิจฉัยแบคทีเรีย การทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ การย้อมสีแกรม และการย้อมสีทนกรด รอบปีละ 3 ครั้ง ผู้รับผิดชอบการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการควรส่งให้กับบุคลากรภายในห้องปฏิบัติการทำการวิเคราะห์ โดยเวียนทดสอบทุกคนอย่างน้อยคนละ 1 ครั้งต่อรอบปี

เอกสารอ้างอิง

1. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Text Book of Diagnostic Microbiology. 3rd ed. Philadelphia : Saunders Elsevier, 2007.
2. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12nd ed. St. Louis : Mosby Elsevier, 2007.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Nineteenth Informational Supplement. Vol. 29 No. 3; 2009.
4. ปทุมพิศ วิมลวัตรเวที. คู่มือสำหรับห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ: พ.ศ. พัฒนาออนไลน์, 2550.
5. มาลัย วรจิตตร. แบคทีเรียก่อโรค. กรุงเทพฯ : สยามศิลปะการพิมพ์, 2545.
6. วิโรจน์ ไวกวนิชกิจ. การจัดการกระบวนการคุณภาพทางห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2550.
7. วัชรินทร์ รัชชี่ภาณุรัตน์, อิสยา จันทรวินยานุชิต, พรทิพย์ พึ่งม่วง, สมหญิง งามอรุณเลิศ, พจมาน ผู้มีสัตย์. การวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2551.
8. สุภาภรณ์ พัวเพิ่มพูลศิริ และมยุรี ศรีสุนข่าง. แบคทีเรียวินิจฉัย. ขอนแก่น : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2544.