



กรมควบคุมโรค
สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 นครสวรรค์

TB Laboratory Diagnosis

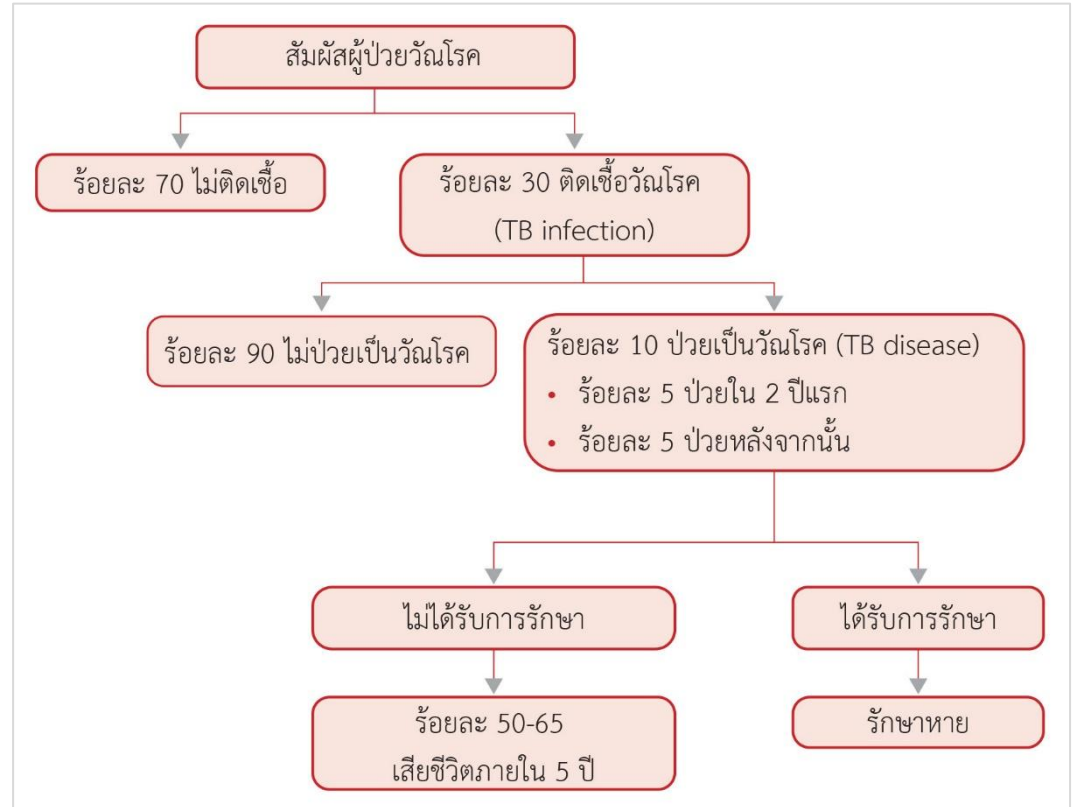
อนุกุล บุญคง

นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ

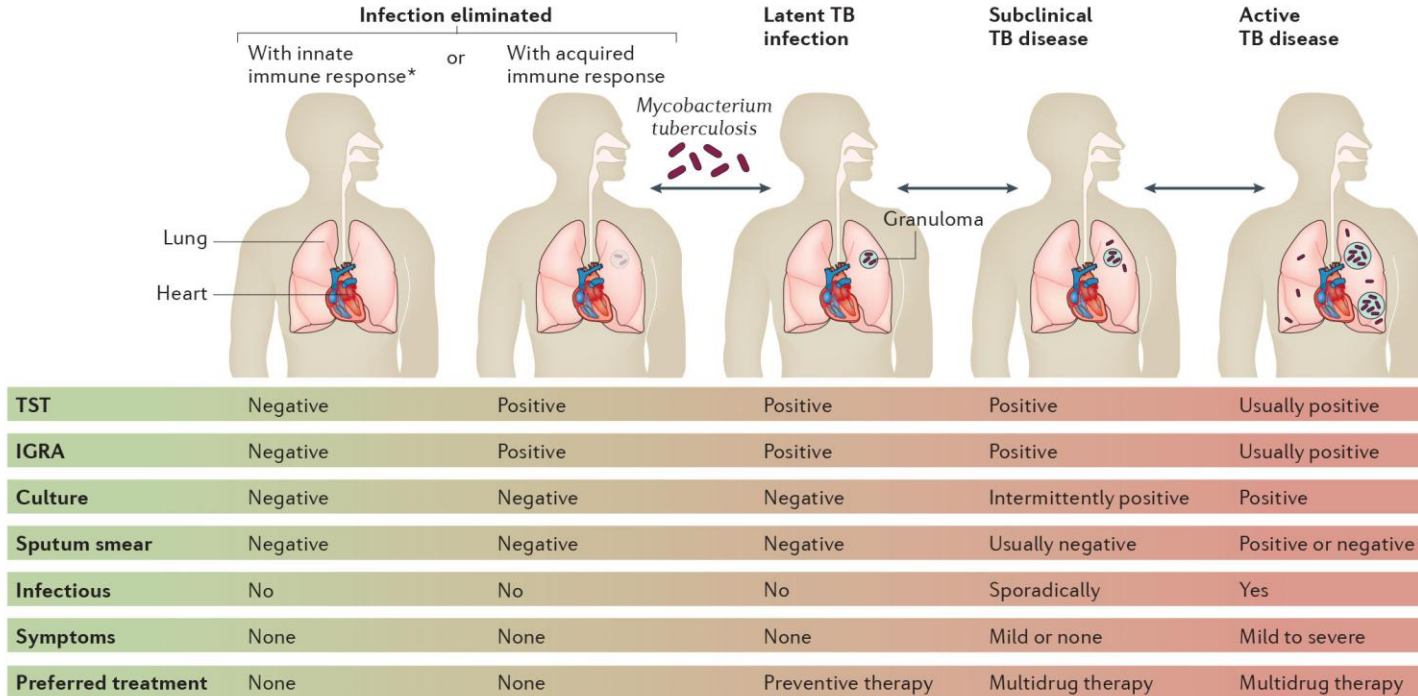
กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์

Tuberculosis



Tuberculosis

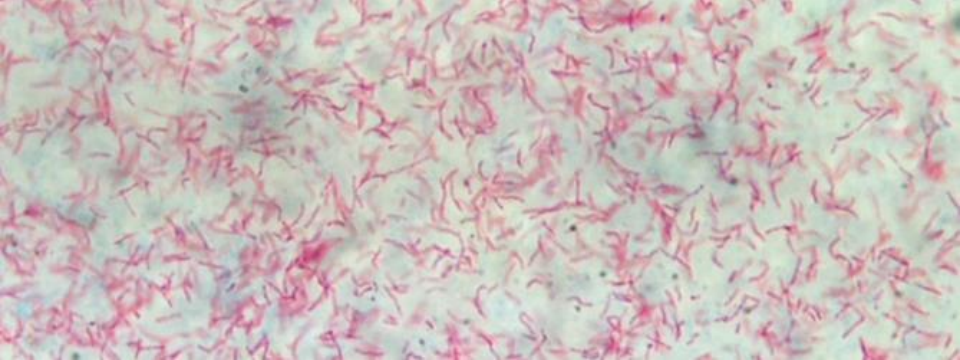


ข้อแตกต่างของการป่วยเป็นวัณโรคระยะแฝงและการป่วยเป็นวัณโรค

ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง (latent TB infection)	ป่วยเป็นวัณโรค (TB disease : Active TB)
▶ ไม่มีอาการ	▶ มีอาการ ดังต่อไปนี้ ไอเรื้อรัง มากกว่า 2 สัปดาห์ เจ็บหน้าอก ไอมีเลือดหรือ เสมหะปน น้ำหนักลด ไข้ เหงื่อออกผิดปกติตอนกลางคืน อ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย เบื่ออาหาร
▶ ไม่แพร่กระจายเชื้อสู่ผู้อื่น	▶ สามารถแพร่กระจายเชื้อสู่ผู้อื่น
▶ ทดสอบ tuberculin skin test (TST) หรือ (IGRA) ให้ผล positive	▶ ทดสอบ tuberculin skin test (TST) หรือ (IGRA) ให้ผล positive
▶ ภาพรังสีทรวงอก และ การตรวจ เสมหะ ให้ผล negative	▶ ภาพรังสีทรวงอก มีความผิดปกติ หรือ การตรวจเสมหะ, Xpert MTB/RIF หรือ การเพาะเลี้ยงเชื้อ ให้ผล positive
▶ ให้การรักษาใน latent TB infection เพื่อป้องกันการเป็น active TB disease	▶ ให้การรักษา active TB disease

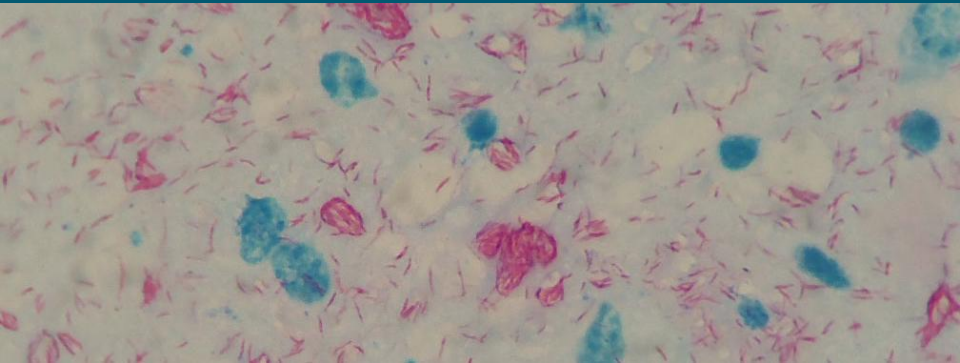
Mycobacteria

- *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC, MTC)
- Nontuberculous mycobacteria (NTM)
or Mycobacteria other than tuberculosis (MOTT)
or Atypical mycobacteria
or Environmental mycobacteria
- *Mycobacterium leprae*



M. tuberculosis complex

NTM



M. leprae

Mycobacterium tuberculosis complex

- 1) *M. tuberculosis*
- 2) *M. africanum*
- 3) *M. canetti*
- 4) *M. bovis* & Bacillus Calmette-Guérin (BCG) strain
- 5) *M. orygis*
- 6) *M. microti*
- 7) *M. caprae*
- 8) *M. pinnipedii*
- 9) *M. suricattae*
- 10) *M. mungi*

Nontuberculous mycobacteria (NTM)

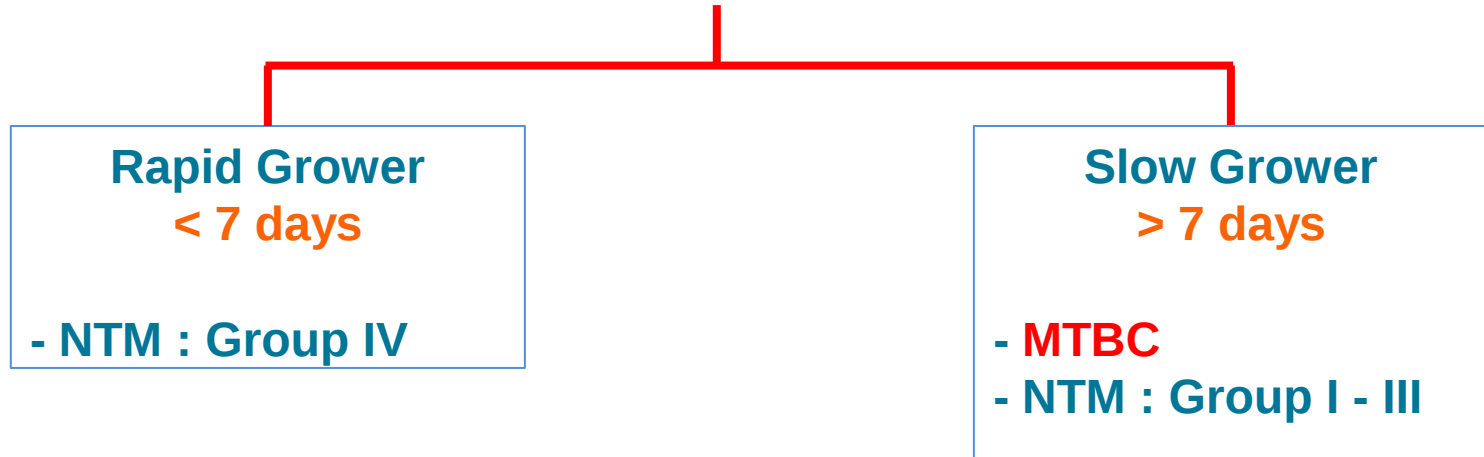
- There are **over 170 different species** identified to date.
- Organisms can be found in **soil, dust and water**, including both natural and treated water sources.
- There is no evidence of animal-to-human or human-to-human transmission of NTM.
- Runyon classification
 - Group I : Photochromogen
 - Group II : Scotochromogen
 - Group III : Nonphotochromogen
 - Group IV : Rapid grower

เชื้อ NTM ที่ตรวจพบจากตัวอย่างเพาะเชื้อ
ห้องปฏิบัติการวัณโรค สคร.3 นครสวรรค์ ปีงบประมาณ 2555 - 2560

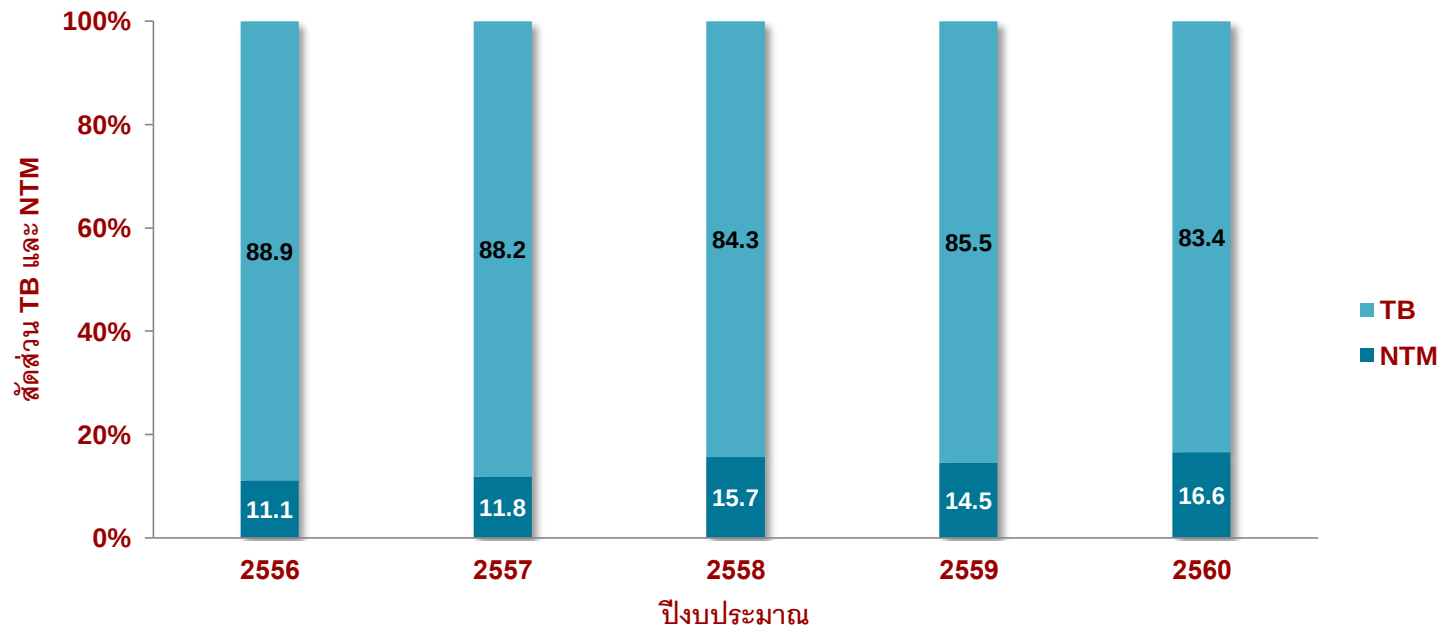
NTM	N	%
<i>M. intracellulare</i>	101	27.7
<i>M. avium</i> ssp.	65	17.9
<i>M. abscessus</i> complex	61	16.8
<i>M. fortuitum</i>	33	9.1
<i>M. scrofulaceum</i>	21	5.8
<i>M. kansasii</i>	14	3.8
<i>M. gordonae</i>	13	3.6
<i>M. malmoense</i>	7	1.9
<i>M. chelonae</i>	2	0.5
<i>M. spp.</i> (unidentified species)	47	12.9
Total	364	100.0

} *M. avium* complex (MAC)

Growth rate of Mycobacteria



สัดส่วน TB และ NTM จากตัวอย่างเพาะเชื้อ
ห้องปฏิบัติการวัณโรค ศคร. 3 นครสวรรค์ ปีงบประมาณ 2556-2560



The image features a person in a white lab coat, partially visible on the left side, holding a small vial with a green cap. The background is a solid blue color. The text "Laboratory Testing for TB" is centered in the middle of the image in a bold, dark blue font.

Laboratory Testing for TB

TB Laboratory Diagnostic Methods

Method	Dx	DST	Dx & DST
Traditional method	- AFB - Culture & Identification	- Solid media - Liquid media	
Molecular method	- Real-time PCR		- Xpert - Real-time PCR - Line probe assay (LPA)

Dx : Diagnosis, DST : Drug susceptibility testing

TB & NTM Laboratory Diagnostic Methods

Method	Detection		Remark
	TB	NTM	
AFB	✓	✓	ไม่สามารถแยกแยะระหว่าง TB และ NTM ได้
Culture & Identification	✓	✓	
Real-time PCR	✓	✓	
Xpert	✓		วัตถุประสงค์หลักใช้ตรวจหาเชื้อวัณโรค
LPA	✓		วัตถุประสงค์หลักใช้ทดสอบความไวต่อยา

TB First-line Drug Susceptibility Testing

Method	First-line drug susceptibility testing					Remark
	Streptomycin	Isoniazid	Rifampicin	Ethambutol	Pyrazinamide	
Solid media	✓	✓	✓	✓		Gold standard
Liquid media	✓	✓	✓	✓	✓	Gold standard
Real-time PCR		✓	✓			Screening
Xpert			✓			Screening
LPA		✓	✓			Gold standard

TB Second-line Drug Susceptibility Testing

Method	Second-line drug susceptibility testing						
	Ofloxacin	Levofloxacin	Kanamycin	Capreomycin	Cycloserine	Ethionamide	PAS
Solid media	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
LPA	Fluoroquinolones		Aminoglycosides / Cyclic peptides				

PAS : Para-aminosalicylic acid

Acid-fast bacilli (AFB)

Number of acid-fast bacilli observed in smears, concentrations of culturable bacilli in sputum specimens, and probability of positive results^a

No. of bacilli observed	Estimated concentration of bacilli per ml of specimen	Probability of a positive result
0 in 100 or more fields ^b	<1000	<10%
1–2 in 300 fields	5000–10 000	50%
1–9 in 100 fields	about 30 000	80%
1–9 in 10 fields	about 50 000	90%
1–9 per field	about 100 000	96.2%
10 or more per field	about 500 000	99.95%

^a Source: reference 1.

^b Approximately 0.01 ml of homogenized sputum was placed on the slide and spread over an area of about 200 mm². The area of a microscope field under oil immersion and at a magnification of 1000× is 0.02 mm². Thus, a smear would contain about 10 000 such fields (see “How many bacilli are present in a sputum specimen found positive by smear microscopy?”, page 11).

Culture



Solid media culture



Liquid media culture

Being able to detect as few as 10 bacteria/ml of material

Drug Susceptibility Testing (DST)

■ Phenotypic DST

- Solid media DST
- Liquid media DST

■ Genotypic DST (Molecular DST)

- Xpert
- Real-time PCR
- LPA

Drug Susceptibility Testing (DST)



Solid media DST



Liquid media DST

Xpert

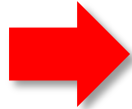


GeneXpert machine

Xpert



Xpert MTB/RIF



Limit of detection ≥ 131 cfu/ml

Xpert

Reporting

MTB	Rifampicin resistance	Remark
MTB not detected	-	
MTB detected	Rif resistance not detected	
MTB detected	Rif resistance detected	Repeat or Confirm test
MTB detected	Rif resistance indeterminate	Repeat
Invalid or Error		Repeat

LPA

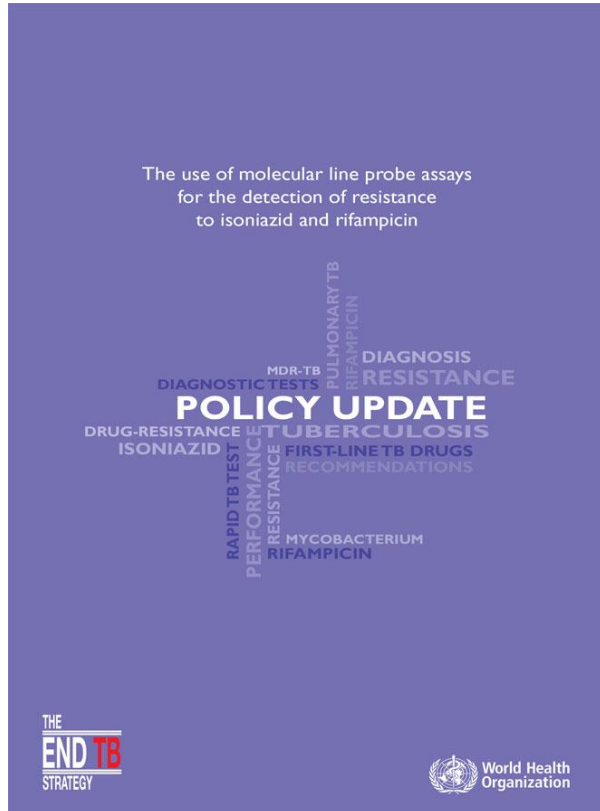


LPA

First-line DST (GenoType MTBDRplus)

Remarks

- a. These recommendations apply to the use of LPAs for testing sputum smear-positive specimens (direct testing) and cultured isolates of MTBC (indirect testing) from both pulmonary and extrapulmonary sites.
- b. LPAs are not recommended for the direct testing of sputum smear-negative specimens.



LPA

Reporting (First-line DST)

MTB	Isoniazid	Rifampicin	Remark
MTB not detected	-	-	
MTB detected	Susceptible	Susceptible	
MTB detected	Resistant	Susceptible	
MTB detected	Susceptible	Resistant	Second-line DST
MTB detected	Resistant	Resistant	Second-line DST
MTB detected	Invalid		Repeat

Discordant Results of TB Laboratory Testing

AFB vs Culture

Type of patients	N (AFB positive sputum samples)	Culture results, n (%)	
		Growth (Positive)	No growth (Negative)
New case	65	63 (96.9)	2 (3.1)
On-treatment	97	41 (42.3)	56 (57.7)
2-3 months	89	39 (43.8)	50 (56.2)
5 months	8	2 (25.0)	6 (75.0)

ข้อมูลการเปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างเสมหะที่ AFB เป็นบวกกับผลการเพาะเชื้อ ของห้องปฏิบัติการวัณโรค สคร.3 นครสวรรค์

Discordant Results of TB Laboratory Testing

Xpert vs Liquid media (MGIT 960) DST



Report on false-positive rifampicin resistance from GeneXpert MTB/RIF in Vietnam

Nguyen Thi Bich Phuong, Nguyen Van Hung, Nguyen Viet Nhung
Bacteriology Department, National Lung Hospital - 463 Hoang Hoa Tham, Hanoi, Vietnam

Fax: +84 4 37 61 56 62, E-mail: phuongntb@vnu.edu.vn

Table 1: Performance of the Xpert MTB/RIF in 134 specimens, using DST as a reference method

March-October 2012		Drug susceptibility testing (DST)		
		Rifampicin resistance	Rifampicin susceptibility	Sum
Xpert MTB/RIF	Rifampicin resistance	48	6	54
	Rifampicin susceptibility	1	79	80
	Sum	49	85	134

Discordant Results of TB Laboratory Testing

LPA vs Liquid media DST (MGIT 960)

Performance characteristics of MDDR by Drug			
Drug	Locus or loci examined	Sensitivity (%)	Specificity (%)
RMP	<i>rpoB</i>	97.1	97.4
INH	<i>inhA + katG</i>	86.0	99.1

Reference Laboratory Division of TB Elimination, CDC. Laboratory User Guide for U.S. Public Health Laboratories: Molecular Detection of Drug Resistance (MDDR) in *Mycobacterium tuberculosis* Complex by DNA Sequencing. 2012.

Using liquid media DST (MGIT 960) as reference method		
LPA (gene)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
RMP (<i>rpoB</i>)	95.2	98.4
INH (<i>inhA + katG</i>)	85.3	99.1
MDR	80.0	100.0

ค่า Sensitivity และ Specificity ของการทดสอบความไวต่อยาวัณโรควิธี LPA โดยใช้ Liquid media DST เป็นวิธีอ้างอิง ข้อมูลของห้องปฏิบัติการ วัณโรค สคร.3 นครสวรรค์ จำนวนตัวอย่าง 143 ตัวอย่าง ระหว่างเดือน ต.ค. 2557 – มี.ค. 2561

Drug-Resistant Tuberculosis

1. **Mono resistant TB** หมายถึง วัณโรคดื้อยาตัวใดตัวหนึ่งเพียงขนานเดียว ในกลุ่ม first line drug
2. **Polydrug-resistant TB** หมายถึง วัณโรคดื้อยาในกลุ่ม first line drug มากกว่าหนึ่งขนานที่ไม่ใช่ H (isoniazid) และ R (rifampicin) พร้อมกัน
3. **Multidrug-resistant TB (MDR-TB)** หมายถึง วัณโรคดื้อยาหลายขนาน ที่ดื้อยา H และ R พร้อมกัน และอาจจะดื้อต่อยาขนานอื่นๆ ร่วมด้วยหรือไม่ก็ได้
4. **Pre-extensively drug-resistant TB (Pre-XDR-TB)** หมายถึง วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง คือ MDR-TB ที่ดื้อยารักษาวัณโรคในกลุ่ม fluoroquinolones หรือ second-line injectables (Km, Am, Cm) อย่างใดอย่างหนึ่ง (ไม่รวม streptomycin; S เพราะเป็นยา first line drug)
5. **Extensively drug-resistant TB (XDR-TB)** หมายถึง วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก คือ MDR-TB ที่ดื้อยาในกลุ่ม fluoroquinolones และ second-line injectable พร้อมกัน
6. **Rifampicin-resistant TB (RR-TB)** หมายถึง วัณโรคดื้อยา rifampicin ซึ่งตรวจพบโดยวิธี phenotypic หรือ genotypic และอาจดื้อยาวัณโรคอื่นร่วมด้วย ซึ่งอาจเป็น mono drug resistant TB, polydrug resistant TB, MDR-TB, pre-XDR-TB หรือ XDR-TB ก็ได้

สิทธิการส่งตรวจที่ไม่ต้องเสียค่าบริการ

■ สิทธิ สปสช.

- สิทธิ UC และเข้าเกณฑ์ที่ สปสช. กำหนด
- ส่งตรวจผ่านโปรแกรม **TBCM**
- เลือกตรวจวิธี **Culture** และ **DST**
หรือ **Molecular (LPA หรือ Xpert)** ใดอย่างหนึ่ง

■ สิทธิ สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค

- ส่งตรวจผ่านโปรแกรม **TBCM**

Xpert : ผู้ป่วยที่ **Chest X-ray (CXR)** ผิดปกติเข้าได้กับวัณโรค โดยผล **AFB** เป็นลบ หรือบวก (หรืออาจไม่มีผล **AFB** ก็ได้)

LPA : กลุ่ม **Re, On, Pre** และกลุ่มที่ตรวจ **Xpert** แล้วพบดื้อยา **Rifampicin**

เกณฑ์ สปสช. ปีงบประมาณ 2561

กลุ่มผู้ป่วย	วิธีการตรวจวินิจฉัย	
	Culture & DST	Molecular
1. Re-treatment	AFB +	AFB +
2. On-treatment	AFB +	AFB +
3. Pre-treatment		
3.1 ผู้สัมผัสใกล้ชิด (Close contact) กับผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB)	AFB +/-	AFB +
3.2 ผู้ป่วยวัณโรคในเรือนจำ	AFB +/-	ไม่เข้าเกณฑ์
3.3 ผู้ป่วยวัณโรคที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย (TB-HIV)	AFB +/-	ไม่เข้าเกณฑ์
4. ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาติดตามการรักษา	Culture ไม่เกิน 16 ครั้ง	ไม่เข้าเกณฑ์

เกณฑ์ของสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค

Xpert

1. กลุ่มเสี่ยงที่ให้คัดกรองวัณโรคและส่งเสมหะตรวจด้วย Xpert MTB/RIF ได้แก่

- ผู้ต้องขังในเรือนจำ (Prisoner) ที่มี CXR ผิดปกติ และ/หรือมีผลเสมหะเป็นลบ
- ประชากรข้ามชาติ (Migrant) ที่มี CXR ผิดปกติ และ/หรือมีผลเสมหะเป็นลบ
- ผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ (Un-control DM) โดยมีผล HbA1c ≥ 7 หรือ FBS ≥ 140 เป็นเวลา 3 เดือนติดต่อกัน และ CXR ผิดปกติ
- ผู้สัมผัสร่วมบ้านหรือใกล้ชิดผู้ป่วยวัณโรคเสมหะพบเชื้อ (HHC M+) ที่ CXR ผิดปกติ
- ผู้สัมผัสร่วมบ้านหรือใกล้ชิดผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (HHC MDR - TB) ที่ CXR ผิดปกติ
- ผู้ติดเชื้อเอช ไอ วี (HIV) ที่ CXR ผิดปกติ

เกณฑ์ของสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค

Xpert (ต่อ)

2. กลุ่มอื่นๆที่วินิจฉัยวัณโรคได้ยาก สามารถส่งตรวจด้วย Xpert MTB/RIF ได้แก่

- ผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยวัณโรคนอกปอด (CSF, Lymph node & Tissues)
- ผู้ป่วยโรคเรื้อรัง, ผู้สูงอายุ (มี/ไม่มีอาการสงสัยวัณโรค) แต่ CXR ผิดปกติ
- กลุ่มที่ CXR ผิดปกติเข้าได้กับวัณโรค แพทย์สงสัยวัณโรค แต่ตรวจเสมหะ AFB เป็นลบ
- กลุ่มที่ CXR ผิดปกติเข้าได้กับวัณโรค แต่ไม่มีผลตรวจ smear AFB เช่น HCW

หมายเหตุ

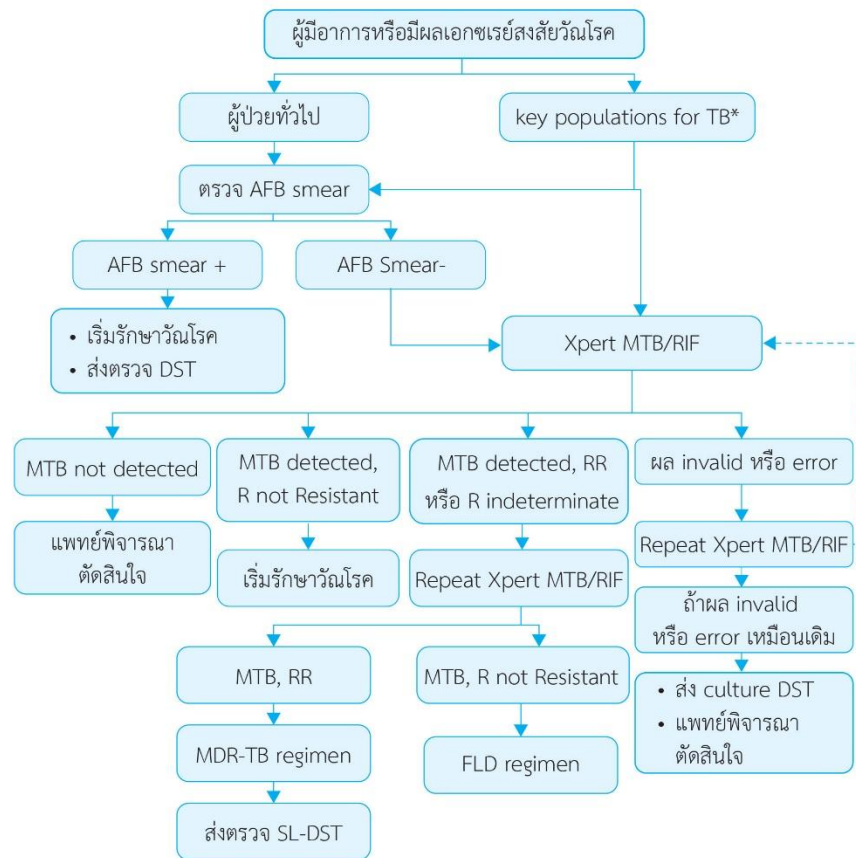
- 1) ผู้ป่วยที่สงสัยวัณโรคดังกล่าวข้างต้น สามารถเก็บเสมหะส่งตรวจ Xpert MTB/RIF ได้ที่โรงพยาบาล หรือสำนักงานป้องกันควบคุมโรคเขต ที่ได้รับการสนับสนุนจากโครงการกองทุนโลก ด้านวัณโรค โดยโครงการฯจะสนับสนุนน้ำยาตามข้อมูลที่ศิษย์ผ่านโปรแกรม TBCM online
- 2) กรณีโรงพยาบาลที่ตั้งเครื่อง สามารถตรวจคัดกรองดื้อยา Rifampicin ในกลุ่มเสี่ยงเคยมีประวัติการรักษามาก่อน (Re-treatment และ On-treatment) ได้ และหากพบเชื้อดื้อยา Rifampicin ให้เก็บเสมหะส่งยืนยันการดื้อยาด้วย LPA ที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคเขตในพื้นที่

เกณฑ์ของสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค

LPA : Isoniazid & Rifampicin (เฉพาะ AFB บวก)

1. Re-treatment ผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษามาก่อน (Previously treated patients) ได้แก่
 - ผู้ป่วยที่ล้มเหลวต่อการรักษาด้วยสูตรรักษาซ้ำ (After failure of retreatment regimen with first-line drugs)
 - ผู้ป่วยที่ล้มเหลวต่อการรักษาด้วยสูตรรักษาผู้ป่วยรายใหม่ (After failure of first treatment with first-line drugs)
 - ผู้ป่วยกลับเป็นซ้ำ (Relapse) ผู้ป่วยเคยรักษาหายแล้วในอดีต และกลับมาเป็น วัณโรคซ้ำ
 - ผู้ป่วยกลับมารักษาซ้ำหลังขาดยา (After loss to follow-up)
2. On-treatment
 - ผู้ป่วยที่กำลังรักษาด้วยสูตรยาแนวที่ 1 ผลเสมหะเมื่อเดือนที่ 2 ยังพบเชื้ออยู่
3. Pre-treatment
 - ผู้ป่วยที่มีประวัติสัมผัสกับผู้ป่วย MDR-TB
 - ผู้ป่วยที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีความชุกของ MDR-TB สูง ได้แก่ เรือนจำ ค่ายอพยพ กลุ่มประชากรข้ามชาติที่อยู่กันแออัด
 - ผู้ป่วยที่มีโรค ที่มีความเสี่ยงต่อการเป็น MDR-TB ได้แก่ ผู้ป่วยวัณโรคที่ติดเชื้อ HIV
4. กลุ่มเสี่ยงที่ผลการตรวจ Xpert MTB/RIF พบว่าดื้อยา Rifampicin

แนวทางการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรค

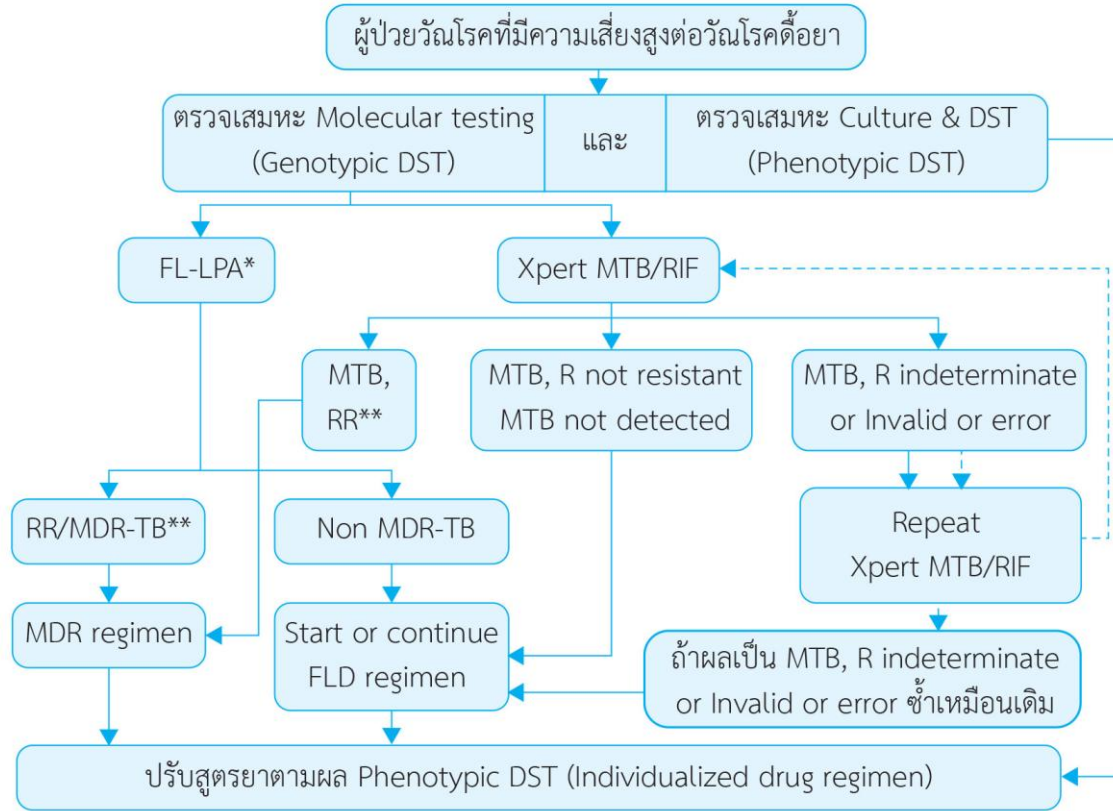


หมายเหตุ * กรณี key populations แนะนำให้ส่งตรวจทั้ง AFB smear และ Xpert MTB/RIF

กลุ่มประชากรหลักที่มีความเสี่ยงต่อวัณโรค (Key populations for TB)

ผู้ที่มีโรคหรือภาวะเสี่ยงต่อวัณโรค	ประชากรเสี่ยงต่อวัณโรค
• ผู้ติดเชื้อเอชไอวี (HIV) • ผู้ป่วยเบาหวาน (DM) • ผู้ป่วยได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เช่น malignancy, organ transplant, SLE เป็นต้น • ผู้ป่วย COPD และสูบบุหรี่ • ผู้ป่วย Silicosis • ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง • ผู้ป่วยผ่าตัดกระเพาะ ตัดต่อลำไส้ • ผู้ที่มีภาวะทุพโภชนาการ • ผู้ติดยาเสพติดและมีความผิดปกติจากติดสุรา (alcohol-use disorder) • ผู้ป่วยที่เคยเป็นวัณโรค	• ผู้สัมผัสวัณโรค (TB contacts) (โดยเฉพาะอย่างยิ่งเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปี) หรือสัมผัสวัณโรคดื้อยา • ผู้สูงอายุ (โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้สูงอายุที่เจ็บป่วยเรื้อรัง ติดเตียง ติดบ้าน) • ผู้ต้องขัง (prisoners) และบุคลากรในเรือนจำ • บุคลากรสาธารณสุข (HCW) • แรงงานเคลื่อนย้ายจากประเทศที่มีความชุกวัณโรคสูง และผู้ติดตาม • ผู้อาศัยในที่คับแคบแออัด เช่น ชุมชนแออัด ค่ายทหาร ค่ายอพยพ • ผู้อาศัยในสถานพินิจ หรือสถานสงเคราะห์ • คนเร่ร่อนไร้ที่อยู่

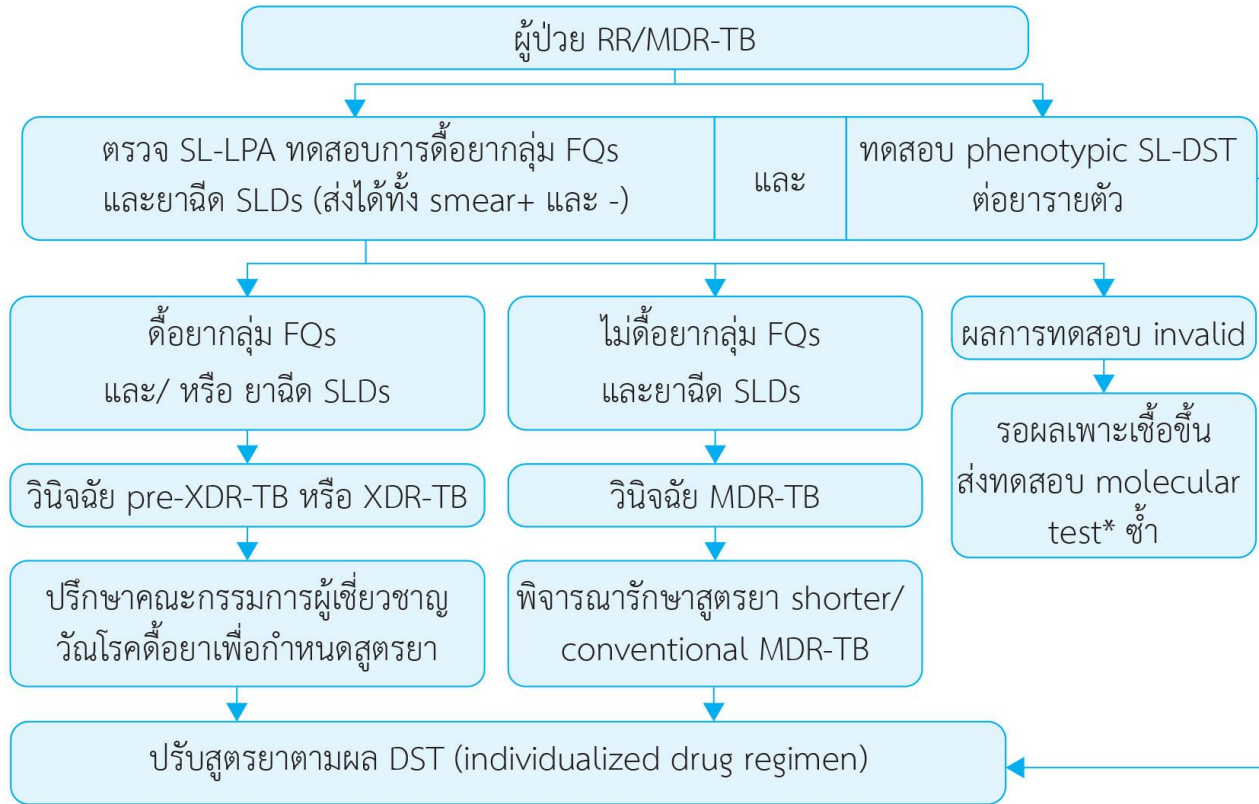
แนวทางการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาในผู้ป่วยวัณโรคที่มีความเสี่ยงสูง



หมายเหตุ *ตรวจตัวอย่างเสมหะที่มีผล AFB smear บวก

** ส่งตรวจ second-line DST

แนวทางการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบความไวต่อยาแนวที่ 2 (Second-line drug DST)



หมายเหตุ * molecular test ที่ตรวจซ้ำ อาจใช้วิธี SL-LPA, real-time PCR หรือ DNA sequencing

รายการตรวจหึ่งปฏิบัติการวัณโรค สคร. 3 นครสวรรค์

Traditional method

ลำดับที่	รายการตรวจ	ตัวอย่างส่งตรวจ	ระยะเวลารายงานผล
1	เพาะเชื้อด้วย Solid media	ตัวอย่างทุกประเภท ยกเว้น เลือด	9 สัปดาห์
2	เพาะเชื้อด้วย Liquid media	ตัวอย่างทุกประเภท ยกเว้น เลือด และ ปัสสาวะ	7 สัปดาห์
3	ทดสอบความไวต่อยา Streptomycin, Isoniazid, Rifampicin และ Ethambutol	ตัวอย่างเชื้อวัณโรคที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	4 สัปดาห์ หลัง รายงานผลเพาะเชื้อ
4	ทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide	ตัวอย่างเชื้อวัณโรคที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	4 สัปดาห์ หลัง รายงานผลเพาะเชื้อ

รายการตรวจห้องปฏิบัติการวัณโรค สคร. 3 นครสวรรค์

Molecular method

ลำดับที่	รายการตรวจ	ตัวอย่างส่งตรวจ	ระยะเวลารายงานผล
1	Xpert	Sputum, Bronchoalveolar lavage, CSF, Pleural fluid, Lymph node aspirate, Gastric lavage และ Tissue	3 วัน
2	Real-time PCR : ตรวจหาเชื้อ TB และ NTM	Sputum, Bronchoalveolar lavage, Tissue และตัวอย่างเชื้อ Mycobacteria ที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	2 สัปดาห์
3	Real-time PCR : ทดสอบความไว ต่อยา Isoniazid และ Rifampicin	Sputum, Bronchoalveolar lavage, Tissue และตัวอย่างเชื้อวัณโรคที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	2 สัปดาห์

รายการตรวจห้องปฏิบัติการวัณโรค สคร. 3 นครสวรรค์

Molecular method (ต่อ)

ลำดับที่	รายการตรวจ	ตัวอย่างส่งตรวจ	ระยะเวลารายงานผล
4	LPA : ทดสอบความไวต่อยา Isoniazid และ Rifampicin (ตรวจหา MDR-TB)	Sputum ที่ AFB บวก และตัวอย่างเชื้อวัณโรคที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	2 สัปดาห์
5	LPA : ทดสอบความไวต่อยากลุ่ม Fluoroquinolones และกลุ่ม Aminoglycosides / Cyclic peptides (ตรวจหา Pre-XDR และ XDR-TB)	Sputum และตัวอย่างเชื้อวัณโรคที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	2 สัปดาห์ หลังพบ MDR-TB หรือพบการดื้อยา Rifampicin
6	LPA : ตรวจแยกชนิดเชื้อ NTM	ตัวอย่างเชื้อ Mycobacteria ที่เพาะเชื้อขึ้นในอาหารแข็งหรืออาหารเหลว	2 สัปดาห์ หลังรายงานผลเพาะเชื้อ NTM

สรุปรายการตรวจตามสิทธิ

Method	สปสช.	สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค	ไม่คิดค่าบริการเฉพาะ ตัวอย่างเข้าเกณฑ์ สปสช.	ไม่คิดค่าบริการ RR & MDR	คิดค่าบริการ
Solid media culture	✓				✓
Liquid media culture	✓				✓
DST : S, I, R และ E	✓				✓
DST : Pyrazinamide			✓		✓
Real-time PCR : TB & NTM					✓
Real-time PCR : I & R					✓
Xpert	✓	✓			✓
LPA : First-line drug (I & R)	✓	✓			✓
LPA : Second-line drug				✓	
LPA : NTM identification			✓		✓

ปัญหาการส่งตรวจที่พบ

1. ไม่ส่งตรวจทางโปรแกรม TBCM
2. ลงข้อมูลโปรแกรม TBCM ไม่ครบถ้วน โดยเฉพาะผล AFB
3. กรอกข้อมูลในใบส่งตรวจไม่ครบ
4. กรอกข้อมูลผล AFB ไม่ตรงกับตัวอย่างที่ส่งตรวจ
5. ส่งตรวจไม่ตรงตามเกณฑ์
6. ภาชนะใส่ตัวอย่างไม่เหมาะสม
7. ปริมาณตัวอย่างไม่เหมาะสม
8. เก็บตัวอย่างไว้นานเกินกว่า 3 วัน



การเก็บสิ่งส่งตรวจ

การเก็บตัวอย่างเสมหะ (Sputum) ส่งตรวจวัณโรค

ประเภทเสมหะ

1. Early morning sputum (Collection sputum) : เก็บตอนตื่นนอนตอนเช้า
เป็นวิธีเก็บที่มีโอกาสสูงที่จะได้เสมหะที่มีคุณภาพดี
2. Spot sputum : เก็บแบบไม่กำหนดช่วงเวลา มีโอกาสได้เสมหะคุณภาพไม่ดี

ขั้นตอนการเก็บเสมหะ

1. บ้วนปากด้วยน้ำสะอาด หรือถ้าทำได้ควรเป็นน้ำต้มสุก เพื่อขจัดเศษอาหารและลดเชื้อปนเปื้อนอื่นๆ
2. หายใจเข้าลึกๆ 2-3 ครั้ง
3. ไอแรงๆ ออกแรงให้เสมหะออกจากลำคอ โดยเสมหะจะมีลักษณะเป็นเมือกเหนียว
ข้น สีเหลืองหรือเขียว ไม่ใช่ น้ำลายใสเป็นฟอง
4. ยกภาชนะซีดริมีฟปากล่าง ค่อยๆ ปล่อยเสมหะให้ไหลลงภาชนะปิดฝาให้แน่น ใส่ถุง
ปิดปากถุงให้แน่น เพื่อนำมาส่งตรวจ
5. ล้างมือด้วยสบู่ให้สะอาด

การเก็บสิ่งส่งตรวจ

ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสม

ลำดับที่	ประเภทตัวอย่าง	ปริมาณ
1	เสมหะ (Sputum)	2 - 5 ml
2	น้ำไขสันหลัง (CSF)	> 100 μ l
3	น้ำจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย (Body fluid)	> 0.5 ml
4	ปัสสาวะ (Urine)	> 3 ml
5	ชิ้นเนื้อ (Tissue)	4 x 4 mm ²

การเก็บสิ่งส่งตรวจ

ภาชนะที่เหมาะสมสำหรับเก็บและนำส่งตัวอย่าง

- ต้องเป็นภาชนะสะอาด ถ้าทำได้ควรเป็นแบบ **Sterile**
- ฝาปิดได้สนิท ป้องกันตัวอย่างรั่วไหล และทนต่อการกระแทก ไม่แตกหักง่าย



- Sputum
- Stool



- Sputum
- Pus
- Urine
- Stool



- CSF
- Body fluid
- Pus

การเก็บสิ่งส่งตรวจ

ภาชนะที่ไม่เหมาะสมสำหรับเก็บและนำส่งตัวอย่าง



ภาชนะเก็บและนำส่งตัวอย่างที่ สคร.3 ให้การสนับสนุน



ส่งตรวจ Xpert



ส่งตรวจเพาะเชื้อ หรือ LPA

การนำส่งตัวอย่าง

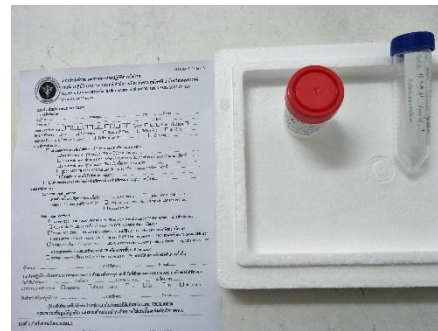
1. ใส่ตัวอย่างลงในภาชนะสะอาด ปิดฝาให้แน่น และพันพาราฟิล์มให้เรียบร้อย
2. ตรวจสอบรายละเอียดบ่งชี้ผู้ป่วยที่ติดข้างภาชนะให้เรียบร้อย สำหรับหลอดใส่เสมหะห้ามติดสติ๊กเกอร์ทับขีดแสดงปริมาตร จากนั้นนำภาชนะมาใส่ถุงพลาสติกปิดให้มีดซิอีกชั้น
3. เขียนรายละเอียดของผู้ป่วยในแบบนำส่งตัวอย่างตรวจทางห้องปฏิบัติการให้ครบถ้วน ทั้งนี้ต้องตรวจสอบความถูกต้องของแบบฟอร์มส่งตรวจกับสิ่งส่งตรวจทุกครั้ง ก่อนนำส่ง
4. นำตัวอย่างใส่ในภาชนะที่มี **Ice pack** รักษาอุณหภูมิระหว่างขนส่ง และนำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็ว
5. หากไม่สามารถนำส่งได้ทันที ให้เก็บไว้ในตู้เย็นช่องธรรมดา ควรส่งภายใน 3 วัน และต้องไม่เก็บไว้เกิน 1 สัปดาห์ สำหรับการส่งเพาะเชื้อ ทั้งนี้เพื่อป้องกันเชื้อวัณโรคที่ค่อยๆ ตายลงตามระยะเวลาที่เก็บ และป้องกันการเกิดการปนเปื้อน (Contaminated) จากเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) ที่เจริญเพิ่มจำนวนมากเกินไป



1. ภาชนะใส่ตัวอย่าง



2. ติดสลากกระป๋องละเอียด
ตัวอย่างที่ภาชนะ



3. ตรวจสอบความถูกต้องของ
ตัวอย่างกับใบส่งตรวจ



4. ปิดฝาให้สนิทแล้วพันพาราฟิล์ม



5. ใส่ภาชนะในซองซิปปิดให้
สนิท



6. ใส่ในภาชนะชั้นที่ 2 ที่มีความ
แข็งแรง



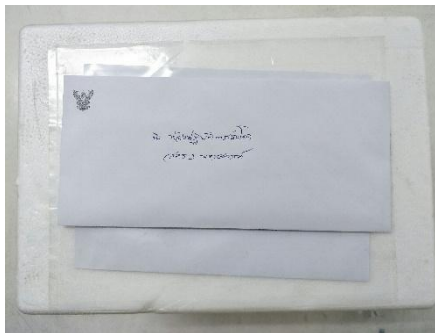
7. ปิดภาชนะชั้นที่ 2 ให้สนิท



8. เตรียมกล่องโฟมบรรจุ Ice pack รักษาอุณหภูมิ



9. ใส่ตัวอย่างลงในกล่องโฟม



10. ปิดฝากล่องให้มิดชิด แนบใบ
ส่งตรวจ นำส่งห้องปฏิบัติการ

1.1 คลินิกวัณโรค

ชื่อผู้ป่วย.....นามสกุล.....อายุ.....ปี เพศ.....

โรงพยาบาล..... HN..... TB No.....

เลขที่บัตรประชาชน □□□□□□□□□□□□□□□□ โรคร่วม □ ไม่มี □ ไม่ทราบ □ B24 □.....

สิทธิการรักษา : ☐ UC ☐ สิทธิราชการ ☐ สิทธิประกันสังคม ☐ สิทธิต่างด้าว ☐ สิทธิอื่นๆ.....

ชนิดของตัวอย่าง : ☐ เสมหะ (sputum) ☐ เชื้อที่เพาะในอาหาร..... ☐ อื่นๆ ระบุ.....

เกณฑ์การส่งตรวจ :

☐ เข้าเกณฑ์การตรวจโดยไม่เสียค่าบริการของ สปสช. หรือกรมควบคุมโรค

☐ Re-treatment ผู้ป่วยที่มีประวัติรักษาวัณโรคมาก่อน ระบุ.....

☐ On-treatment ผู้ป่วยระหว่างการรักษาที่ผลเสมหะยังเป็นบวกหลังการรักษา 3 เดือน ระบุเดือนที่.....

☐ Pre-treatment ผู้ป่วยใหม่กลุ่มเสี่ยงวัณโรคติดยาหลายขนาน ระบุ.....

☐ ผู้ป่วย MDR-TB ตรวจ F/U Culture (ไม่เกิน 16 ครั้งต่อ course การรักษา) ครั้งที่.....

☐ ผู้ป่วยคัดกรองสงสัยวัณโรค ระบุกลุ่มเสี่ยง.....

☐ ไม่เข้าเกณฑ์การตรวจโดยไม่เสียค่าบริการ (ชำระค่าบริการเอง) ระบุประเภทผู้ป่วย.....

รายการส่งตรวจ :

Conventional method

- เพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ชนิดของเชื้อวัณโรค : ☐ Solid media ☐ Liquid media (MGIT 960)
- ทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี MGIT 960 : ☐ Streptomycin, Isoniazid, Rifampicin และ Ethambutol
- ☐ Pyrazinamide

Molecular method

- ☐ ตรวจหาเชื้อ TB และทดสอบความไวต่อยา Rifampicin ด้วยวิธี Xpert MTB/RIF **ตรวจจากตัวอย่างโดยตรง**
- ☐ ตรวจหาเชื้อ TB และ NTM ด้วยวิธี Real-time PCR **ตรวจจากตัวอย่างโดยตรง**
- ☐ ทดสอบความไวต่อยา Isoniazid และ Rifampicin ด้วยวิธี Real-time PCR **ตรวจจากตัวอย่างโดยตรง**
- ☐ ทดสอบความไวต่อยา Isoniazid และ Rifampicin ด้วยวิธี Line-probe assay (LPA) **เฉพาะตัวอย่างเสมหะ AFB บวก**
- ☐ ทดสอบความไวต่อยา Fluoroquinolones และ Aminoglycosides/Cyclic peptides ด้วยวิธี Line-probe assay (LPA)
- ตรวจเฉพาะตัวอย่างเสมหะที่พบ MDR-TB หรือพบการดื้อยา Rifampicin**
- ☐ ตรวจแยกชนิดของเชื้อ NTM ด้วยวิธี Line-probe assay (LPA) **ตรวจได้เฉพาะตัวอย่างที่เพาะเชื้อขึ้น**

ผู้ส่งตรวจ : เบอร์ติดต่อ : E-mail.....

1.2 ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล (หากส่งมากกว่า 1 ตัวอย่างต้องระบุลำดับที่ วันที่เก็บและผลการตรวจ AFB ทุกตัวอย่างให้ชัดเจน)

วันที่เก็บสิ่งส่งตรวจ.....วันที่ตรวจ.....LAB Serial No.....วันที่ส่ง สคร.

ผลการตรวจ AFB smear ☐ Negative ☐ จำนวน.....cells ☐ 1+ ☐ 2+ ☐ 3+ ☐ Not done

ชื่อเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ:..... เบอร์ติดต่อ :..... E-mail.....

ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์ไม่เสียค่าบริการต้องแนบใบส่งตรวจที่พิมพ์จากโปรแกรม TBCM มาด้วย
กรณารอกข้อมูลให้ถูกต้อง และครบถ้วนก่อนนำส่งตัวอย่าง ไม่เช่นนั้นจะคิดค่าบริการตรวจ

การรายงานผล

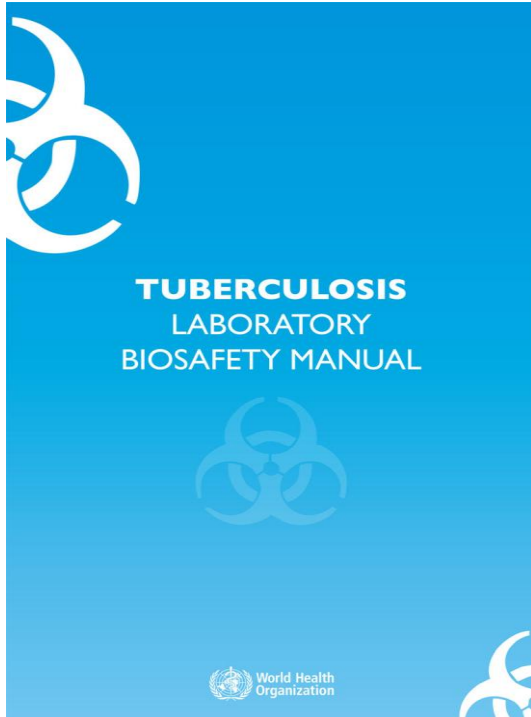
1. ทางโปรแกรม TBCM
2. ทาง E-mail
3. เอกสารทางไปรษณีย์ EMS

Biosafety

TB : Risk group 3

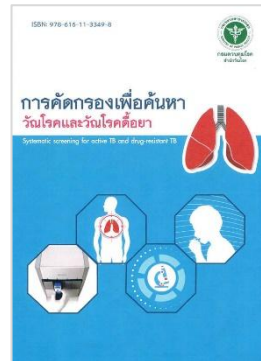
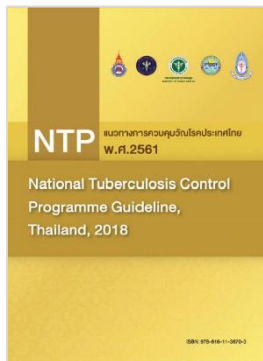


Personal Protective Equipment
(PPE)



Link ดาวน์โหลดคู่มือ Lab สคร.3 : <http://odpc3.ddc.moph.go.th/lab.php>

Link ดาวน์โหลดเอกสารสำนักวัณโรค : <https://www.tbthailand.org/documents.html>





Thank you