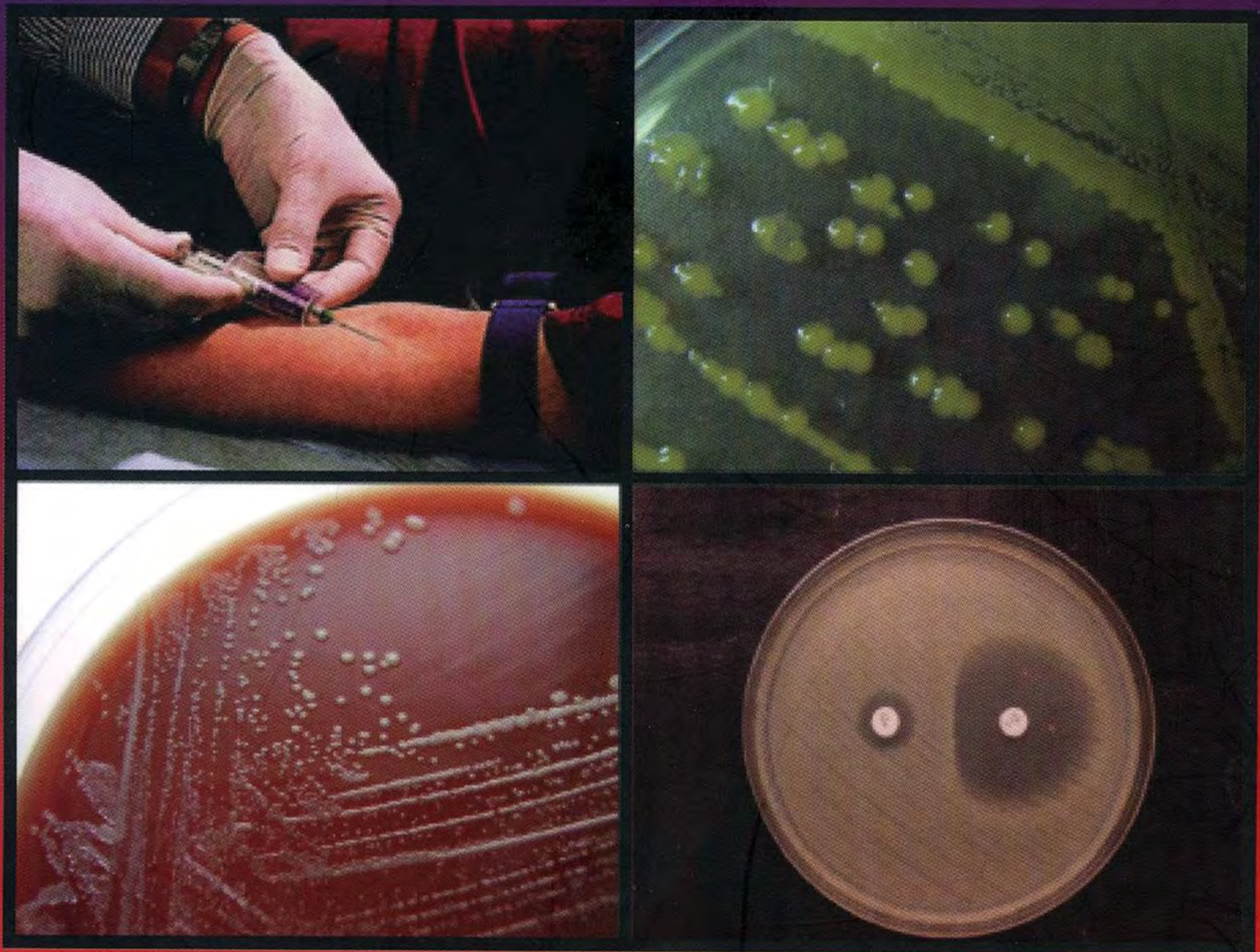


แนวปฏิบัติ

การเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อและ การเพาะเชื้อก่อโรคจากเลือด



สุรางค์ เดชศิริเลิศ

สุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์

กาญจนา คชินทร

จัดทำโดย

ชมรมควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลแห่งประเทศไทย

ศูนย์ความร่วมมือองค์การอนามัยโลกด้านเฝ้าระวังเชื้อยาด้านจุลชีพและฝักอบรม (NARST)

สนับสนุนโดย

องค์การอนามัยโลก

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

และ กรมควบคุมโรค

คำนำ

การมีแบคทีเรียอยู่ในกระแสเลือด (Bacteremia) เป็นภาวะการติดเชื้อที่รุนแรง อาจนำสู่ภาวะ septicemia และ septic shock ซึ่งเป็นภาวะที่อัตราตายสูง การวินิจฉัย bacteremia ต้องใช้การเพาะเชื้อจากเลือด ผลการเพาะเชื้อจากเลือดนอกจากจะช่วยยืนยันการวินิจฉัยโรคแล้วยังเป็นข้อมูลสำหรับการรักษาโดยการเลือกยาต้านจุลชีพ ดังนั้น การเพาะเชื้อจากเลือดจึงเป็นการตรวจที่สำคัญอย่างยิ่ง การเพาะเชื้อขึ้นได้เร็ว วินิจฉัยชนิดเชื้อ และตรวจความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพได้ถูกต้อง จะนำไปสู่การเลือกให้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมและได้ผลการรักษาที่ดี อย่างไรก็ตาม การเพาะเชื้อจากเลือดอาจจะได้ผลลบทั้งๆที่มีเชื้อ เพราะเชื้อขึ้นช้า อันเนื่องจากเชื้อนั้นเพาะไม่ขึ้นโดยวิธีปกติ เชื้อเจริญเติบโตช้าหรือผู้ป่วยได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อน และปัญหาจากการเพาะเชื้อจากเลือดที่สำคัญประการหนึ่งคือ เพาะได้เชื้อทั้งๆที่ไม่มีเชื่อนั้นในเลือดหรือที่เรียกว่าการปนเปื้อนเชื้อ

การปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือดมีสาเหตุจากการปนเปื้อนในทุกขั้นตอนในกระบวนการได้แก่ การเจาะเลือด การเตรียมขวดเพาะเชื้อ การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ การถ่ายเลือดเข้าสู่ขวดเพาะเลี้ยงเชื้อ หรือการ Subculture ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ และในกระบวนการเพาะและแยกชนิดของเชื้อในห้องปฏิบัติการ การตรวจพบเชื้อที่ปนเปื้อนจะนำไปสู่การวินิจฉัยโรคที่ผิด การรักษาที่ไม่เหมาะสม การใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็น และอันตรายที่เกิดแก่ผู้ป่วยตามมา

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมควบคุมโรคและชมรมควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลแห่งประเทศไทย จัดการประชุมเชิงปฏิบัติการเสริมสร้างคุณภาพข้อมูลการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพและการลดการปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือด ขึ้นระหว่างวันที่ 22-26 มิถุนายน 2552 ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยมีวิทยากรและผู้ร่วมประชุมเป็นแพทย์ พยาบาล นักเทคนิคการแพทย์ และนักวิทยาศาสตร์จุลชีววิทยา จำนวน 126 คน ซึ่งได้ทบทวนความรู้ ระดมสมองเพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมที่สุดสำหรับประเทศไทย ผลของการประชุมเชิงปฏิบัติการได้เรียบเรียงไว้ในหนังสือเล่มนี้แล้ว เพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องใช้หนังสือนี้เป็นแนวทางปฏิบัติ อันจะนำไปสู่การลดการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเชื้อจากเลือดในอนาคต ตามความตั้งใจของผู้เข้าร่วมประชุมและหน่วยงานข้างต้น คณะทำงานขอขอบคุณผู้มีส่วนร่วมทุกท่านทุกหน่วยงานไว้ ณ ที่นี้

ศ.นพ.สมหวัง ด่านชัยวิจิตร

เลขาธิการชมรมควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลแห่งประเทศไทย

มีนาคม 2553

แนวปฏิบัติ

การเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

และการเพาะเชื้อก่อโรคจากเลือด

สุรางค์ เดชศิริเลิศ วทม.

นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ เชี่ยวชาญ

ด้านแบคทีเรียทั่วไป

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์ ปรด.

นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการ

คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดล

กาญจนา คชินทร พยบ.

พยาบาลชำนาญการ

คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดล

กิตติกรรมประกาศ

- ผู้เข้าร่วมประชุมเชิงปฏิบัติการ “การเสริมสร้างคุณภาพข้อมูลการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพและการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเชื้อจากเลือด” วันที่ 22-26 มิถุนายน 2552 ณ โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
- ปิติมน พลวิชัย, อรทัย ทองมะลิ, สุพรรณษา โตชัยภูมิ, น้ำฝน อุบลแย้ม, วรณพร จรูญลักษณ์คณา และเจ้าหน้าที่ฝ่ายแบคทีเรียทั่วไป สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- คณะทำงานโครงการลดเชื้อปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือด ชมรมควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลแห่งประเทศไทย

ศาสตราจารย์นายแพทย์ สมหวัง ด้านชัยวิจิตร	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	ที่ปรึกษา
นพ. มานิต ธีระตันติกานนท์ อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	ที่ปรึกษา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ยงค์ รงค์รุ่งเรือง	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	ประธาน กรรมการ
อาจารย์ นพ.สุสันต์ อาสะวนเสน	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	รองประธาน กรรมการ
นายแพทย์ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	กรรมการ
นายแพทย์ปราโมทย์ เอลิตานนท์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ กำธร มาลาธรรม	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะ แพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี	กรรมการ
รองศาสตราจารย์นายแพทย์ ชุษณา สอนกระต่าย	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะ แพทยศาสตร์ โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์	กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ภัทรชัย กิริตสิน	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	กรรมการ
ศาสตราจารย์ พญ. กุลกัญญา โชคไพบูลย์กิจ	ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์อนุชา อภิสารธนรักษ์	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	กรรมการ
พญ. วันทปรียา พงษ์สามารถ	ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	กรรมการ
ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.มาลัย วรจิตร	604/2 ซอยชัยพฤกษ์ เขตวัฒนา กทม. 10110	กรรมการ
นาย บุญช่วย เอี่ยมโมคလာภ	สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์คัคนางค์ นาคสวัสดิ์	คณะพยาบาลศาสตร์ ศิริราชพยาบาล	กรรมการ
ดร. ดนุลดา จามจรี	สำนักงานการพยาบาล กระทรวงสาธารณสุข	กรรมการ
ดร. ผ่องพักตร์ ทิพย์พันธุ์	ฝ่ายการพยาบาล โรงพยาบาลศิริราช	กรรมการ
นาง วราภรณ์ พุ่มสุวรรณ	งานโรคติดเชื้อ โรงพยาบาลศิริราช	กรรมการ
นางสุรางค์ เดชศิริเลิศ	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	กรรมการและ เลขานุการ
นาง กาญจนา คชินทร	งานโรคติดเชื้อ โรงพยาบาลศิริราช	กรรมการและ ผู้ช่วยเลขานุการ
ดร. สุวรรณา ตระกูลสมบุญ	ภาควิชาอายุรศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล	กรรมการและ ผู้ช่วยเลขานุการ

สารบัญ

เรื่อง

หน้า

คำนำ

กิตติกรรมประกาศ

แนวปฏิบัติในการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

1

วิธีลดการปนเปื้อนในการเจาะเลือดเพื่อส่งเพาะเชื้อ

5

การปนเปื้อน ในการเพาะเชื้อจากเลือด

11

กระบวนการทางห้องปฏิบัติการสำหรับการเพาะเชื้อจากเลือด

15

การแปลผลและการควบคุมคุณภาพการเพาะเชื้อจากเลือด

27

ความก้าวหน้าในการเพาะเชื้อจากเลือด

37

ยาฆ่าเชื้อสำหรับผิวหนัง

45

ข้อแนะนำในการผลิตน้ำยา 2% Chlorhexidine Gluconate

54

แนวปฏิบัติในการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

ผศ.นพ.ยงค์ รงค์รุ่งเรือง*

รศ.นพ.ชัชวาล สอนกระต่าย**

ผศ.นพ.กำธร มาลาธรรม***

ผศ.นพ.อนุชา อภิสารธนารักษ์****

อ.นพ. สุสันต์ อาสนะเสน*

อ.นพ.กำพล สุวรรณพิมลกุล**

ศ. พญ. กุลกัญญา โชคไพบูลย์กิจ*****

*สาขาวิชาโรคติดเชื้อและอายุรศาสตร์เขตร้อน ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

**หน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

***หน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลรามารินทร์

****หน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

*****ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

1. ข้อบ่งชี้ในการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

- 1.1. ผู้ป่วยมีอาการและอาการแสดงที่บ่งถึงการมีภาวะติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราในกระแสเลือด (มี systemic inflammatory response syndrome (SIRS) อย่างน้อย 1 ข้อ ดังนี้ อัตราเต้นของหัวใจ >90 ครั้ง/นาที อุณหภูมิร่างกาย < 36°C หรือ > 38°C อัตราหายใจ > 20 ครั้ง/นาที เม็ดเลือดขาวในเลือด < 4,000 หรือ > 12,000 เซลล์/ลบ. มม.)
- 1.2. ผู้ป่วยมีอาการและอาการแสดงที่บ่งถึงการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจ
- 1.3. ทารกแรกเกิดและเด็กอายุน้อยกว่า 2 ปี ที่มีอาการบ่งถึงภาวะที่อาจมีการติดเชื้อในกระแสเลือด เช่น ซึม งอแง ไม่ดูดนม แม้ว่าจะไม่มีไข้ หรือ เม็ดเลือดขาวปกติ

2. เวลาที่เหมาะสมในการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

ควรเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อผู้ป่วยก่อนที่จะได้รับยาปฏิชีวนะ ถ้าผู้ป่วยได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนควรเจาะเลือดเพื่อทำการเพาะเชื้อให้ได้โดยเร็วที่สุดหลังจากที่ได้ยาปฏิชีวนะ หรือเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อที่ 15 นาทีก่อนให้ยาปฏิชีวนะครั้งต่อไป

3. จำนวนขวดของการเจาะเลือดเพาะเชื้อ

3.1. กรณีไม่เร่งด่วน เจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ 2 ขวดภายใน 24 ชั่วโมง (ในแง่ความไวในการเพาะเชื้อในกระแสเลือดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการเจาะเลือด 2 ครั้งห่างกัน 15 หรือ 30 นาที หรือการเจาะเลือด 2 ครั้งพร้อมกันแต่ตำแหน่งต่างกัน)

3.2. กรณีเร่งด่วนต้องรีบให้ยาปฏิชีวนะ ให้เจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ 2 ขวดพร้อมกัน โดยเจาะที่ตำแหน่งต่างกัน

3.3. กรณีสงสัยภาวะติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจและภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดแบบต่อเนื่อง (Persistent bacteremia) เจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ อย่างน้อย 2 ขวดห่างกัน 12 ชั่วโมง

3.4. ผู้ป่วยเด็กที่มีได้สงสัยภาวะติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจ อาจเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อเพียงครั้งเดียวได้ เพราะเจาะเลือดในเด็กยาก แต่หากสงสัยภาวะติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจควรเจาะเลือดเพาะเชื้ออย่างน้อย 2 ครั้ง (โดยไม่ใช้การแบ่งเลือดส่ง 2 ขวด จากการเจาะครั้งเดียว) ห่างกันไม่เกิน 24 ชั่วโมง

อนึ่ง ถ้าต้องการเจาะเลือดเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ร่วมด้วย ต้องใส่เลือดลงในขวดเพาะเชื้อก่อนเสมอ

4. ปริมาณเลือดที่เหมาะสม

ปริมาณเลือดในแต่ละครั้งหรือแต่ละขวด ให้ใช้ปริมาณตามที่กำหนดในแต่ละชนิดของขวดที่ใช้

4.1 ควรเจาะเลือดผู้ป่วยเพื่อทำการเพาะเชื้ออย่างน้อย 2 ขวดแต่ไม่ควรเกิน 4 ขวดในช่วง 24 ชั่วโมงแรกที่มีอาการแสดงของการติดเชื้อในกระแสเลือด

4.2 ผู้ป่วยเด็กจะมีปริมาณเชื้อในเลือดมากกว่าผู้ใหญ่ ควรใช้เลือดปริมาณที่เหมาะสมกับชนิดของขวดเพาะเชื้อที่ใช้ โดยทั่วไปขวดเพาะเชื้อของเด็กจะใช้เลือดประมาณ 1-5 มล. ไม่ควรใส่เลือดมากกว่าที่กำหนด ทารกแรกเกิดใช้เลือดประมาณ 1-2 มล. เด็กโตขึ้นใช้เลือด 3-5 ซีซี เด็กโตเข้าวัยรุ่นใช้เลือดและขวดเพาะเชื้อเหมือนผู้ใหญ่

5. ตำแหน่งที่เหมาะสมในการเจาะเลือดเพื่อทำการเพาะเชื้อ

- 5.1. หลอดเลือดดำส่วนปลาย (peripheral vein) ควรหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดที่หลอดเลือดที่ขาหนีบ (inguinal vessels) หรือการดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดที่ผู้ป่วยใส่สายคาไว้ เช่น สาย central venous lines หรือ สาย arterial lines
- 5.2. กรณีที่ส่งสัยการติดเชื้อจากการใส่สายสวนหลอดเลือดดำ และห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาใช้เครื่องเพาะเชื้อแบบอัตโนมัติ (automated culture system) ดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือดใส่ขวดหนึ่งและเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำส่วนปลายใส่อีกขวดหนึ่งพร้อม ๆ กัน (ถ้าขวดที่มาจากสายสวนหลอดเลือดเพาะเชื้อขึ้นแบคทีเรียหรือเชื้อรา ก่อนขวดที่มาจากหลอดเลือดดำส่วนปลายมากกว่าหรือเท่ากับ 2 ชั่วโมง บ่งถึงการติดเชื้อมาจากสายสวนหลอดเลือด)
- 5.3. กรณีผู้ป่วยเด็กที่เจาะเลือดยาก และมีสายสวนหลอดเลือด เช่น central line คาอยู่ อนุโลมให้ดูดเลือดจากสายสวนเพื่อเพาะเชื้อได้ โดยไม่ต้องเจาะตรงจากหลอดเลือดดำส่วนปลาย เพราะส่วนใหญ่แล้วการรักษาไม่เปลี่ยนแปลงโดยการเจาะเลือดโดยตรงจากหลอดเลือดดำส่วนปลาย แต่หากผลเพาะเชื้อจากสายสวนหลอดเลือดขึ้นเชื้อที่ต้องการการยืนยันว่าเป็นผลบวกปลอมหรือไม่ เช่น coagulase-negative staphylococcus ให้เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำส่วนปลายเพื่อเพาะเชื้อซ้ำอีกครั้ง ก่อนเริ่มให้ยาปฏิชีวนะเพื่อรักษา

6. บุคลากรที่มีความเหมาะสมในการเจาะเลือด

แพทย์ พยาบาลประจำการ นักเทคนิคการแพทย์ หรือผู้มีความชำนาญและสามารถปฏิบัติตามหลักปลอดเชื้อได้อย่างถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

1. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev 2006; 19(4):788-802.
2. Parekh V, Chenoweth C, Kaufman S, Saint S. Review of clinical trials of skin antiseptic agents used to reduce blood culture contamination. Infect Control Hosp Epidemiol 2007; 28:892-95.
3. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guidelines. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009.
4. Suwanpimolkul G, Pongkumpai M, Suankratay C. A randomized trial of 2% chlorhexidine tincture compared with 10% aqueous povidone iodine for venipuncture site disinfection: Effects on blood culture contamination rates. J Infect 2008; 56:354-9.

วิธีการปนเปื้อนในการเจาะเลือดเพื่อส่งเพาะเชื้อ

อ.นพ.กำพล สุวรรณพิมลกุล*

ผศ.คัตนงค์ นาคสวัสดิ์**

*หน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ภาควิชาการพยาบาลอายุรศาสตร์ คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สาเหตุของการปนเปื้อนเชื้อจากการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ¹

การปนเปื้อนเกิดขึ้นจาก

- เชื้อบนผิวหนัง
- เชื้อปนเปื้อนที่เข็มและกระบอกฉีดยา
- การปนเปื้อนขณะถ่ายเลือดจากกระบอกฉีดยาสู่ขวดเพาะเชื้อ
- ปนเปื้อนขณะทำ subculture



เนื่องจากสาเหตุของการปนเปื้อนส่วนมาก เป็นเชื้อที่พบตามผิวหนังของผู้ป่วยเอง หรืออาจปนเปื้อนมากับวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเจาะเลือด เช่น เข็มฉีดยา สำลี จุกยางที่ขวดเพาะเชื้อ เชื้อที่พบบ่อยจากข้อมูลในสหรัฐอเมริกา² 497,134 ตัวอย่างเลือด ได้แก่ Coagulase-negative staphylococci (ร้อยละ 74.8), *Corynebacterium* spp. (ร้อยละ 13.1), Viridans streptococci (ร้อยละ 7.7), *Bacillus* spp. และ *Propionibacterium* spp. (อย่างละ ร้อยละ 2.2) ส่วนข้อมูลจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์³ เชื้อที่พบมากที่สุดยังคงเป็น Coagulase-negative staphylococci (ร้อยละ 80.6), *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp., และ *Bacillus* spp. คิดเป็นร้อยละ 7.4, 6.5

และ 5.6 ตามลำดับ ดังนั้น การเจาะเลือดที่เหมาะสมและถูกขั้นตอนควรจะต้องปฏิบัติตามแนวทางอย่างเคร่งครัดเพื่อลดอัตราการปนเปื้อนของเชื้อต่างๆ ที่เกิดมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากเทคโนโลยีการเพาะเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงแม้มีเชื้อปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย ก็สามารถเพาะเชื้อขึ้นได้

ขั้นตอนในการเจาะเลือด

- เตรียมอุปกรณ์การเจาะเลือดให้พร้อมก่อนทำการเจาะเลือดผู้ป่วย ขวดเพาะเชื้อบางประเภทที่ต้องเก็บในตู้เย็นแนะนำให้นำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนที่จะใส่เลือดเพื่อเพาะเชื้อ
- หาตำแหน่งหลอดเลือดที่เหมาะสมในการเจาะเลือดเพื่อการเพาะเชื้อ ควรเจาะบริเวณหลอดเลือดดำส่วนปลาย (peripheral vein) ควรหลีกเลี่ยงการเจาะเลือดที่หลอดเลือดที่ขาหนีบ (inguinal vessels)
- ก่อนเจาะเลือดให้ทำความสะอาดมือด้วยการล้างมือด้วย antiseptic หรือใช้ alcohol hand rub และสวมถุงมือแบบสะอาด (clean glove)
- การทำความสะอาดผิวหนังเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการลดการปนเปื้อน แนะนำให้ใช้ 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol เนื่องจากประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดีเทียบเท่า Povidone-iodine แต่ความไวในการรอให้แห้ง และ ระยะเวลาที่มีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อสูงสุด⁴ (maximum antiseptic effect) ของ 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol นั้นเร็วกว่า กล่าวคือ ถ้าใช้ 2% Chlorhexidine gluconate ที่มี 70% แอลกอฮอล์ จะใช้เวลาในการรอให้แห้งและออกฤทธิ์ได้สูงสุด เพียง 30 วินาที แต่ถ้าใช้ povidone-iodine จะต้องรอทิ้งไว้ให้แห้งจนกว่าจะออกฤทธิ์ได้สูงสุดถึง 2 นาที ซึ่งในทางปฏิบัติบุคลากรที่เจาะเลือดผู้ป่วยมักจะไม่วรอจนถึง 2 นาทีแล้วค่อยเจาะเลือดผู้ป่วย นอกจากเหตุผลในแง่ของการแห้งเร็ว และ ระยะเวลาที่ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อสูงสุดเร็วกว่าแล้ว การคงเหลือของประสิทธิภาพของยาหลังทา (residual activity)⁵ ของ Chlorhexidine gluconate นั้นดีกว่า แอลกอฮอล์ หรือ povidone-iodine ประโยชน์ส่วนนี้จะเห็นได้ชัดในกรณีผู้ป่วยที่เจาะเลือดยาก ทำให้ประสิทธิภาพของน้ำยาหมดฤทธิ์ก่อนที่จะได้เลือดผู้ป่วยทำให้มีโอกาสปนเปื้อนได้มากกว่า จะเห็นตัวอย่างได้จากการศึกษา³ ที่

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol เทียบกับ povidone-iodine ในแง่ของการลดอัตราการปนเปื้อนเชื้อจากการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ จำนวนตัวอย่างเลือดทั้งหมด 2,146 ขวด จะพบว่าอัตราการปนเปื้อนในกลุ่มที่ใช้ 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol จะต่ำกว่า กลุ่มที่ใช้ povidone-iodine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (3.2 % เทียบกับ 6.9% ตามลำดับ $p\text{-value} < 0.001$) และเมื่อคำนวณเป็นค่าใช้จ่ายแล้วจะสามารถประหยัดค่าใช้จ่ายลงได้ถึง เกือบ 30,000 บาทต่อผู้ป่วย 100 คนที่ทำการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

- การเช็ดผิวหนังให้เช็ดวนจากด้านในออกด้านนอกเป็นวงกว้าง อย่างน้อย 5 เซนติเมตร ถูแรงพอควรเป็นเวลาประมาณ 30 วินาที และรอจนแห้งและไม่น้อยกว่า 30 วินาที สำหรับในเด็กแรกเกิดแนะนำให้ใช้ 70% alcohol เนื่องจากข้อมูลของการใช้ Chlorhexidine gluconate ในแง่ความปลอดภัยในเด็ก ช่วง 2 เดือนแรกยังมีค่อนข้างน้อย
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสบริเวณผิวหนังที่จะเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อหลังจากที่ทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อแล้ว
- เตรียมจุกยางขวดเพาะเชื้อโดยทำความสะอาดบริเวณจุกยางด้วย 70% alcohol หรือ 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ไม่แนะนำ⁶ ให้เช็ดจุกยางด้วยสารที่มี iodine เป็นส่วนประกอบเนื่องจากอาจมีการเปลี่ยนแปลงสภาพของจุกยางได้หลังจากเข้าเครื่อง automated ทำให้มีโอกาสปนเปื้อนของเชื้อได้

หลังจากได้เลือด ให้ใส่ลงในขวดเพาะเชื้อ โดยไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนเข็ม เนื่องจากมีการศึกษาตัวอย่างเลือดผู้ป่วย 497,134 ขวด ในอเมริกา² พบว่า โอกาสของการปนเปื้อนจากการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ ในกลุ่มที่เปลี่ยนเข็มและไม่เปลี่ยนเข็ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (2.2% และ 2.7% ตามลำดับ $p\text{-value} = 0.06$) และการเปลี่ยนเข็มก็เป็นหนึ่งในสาเหตุของการถูกเข็มตำจากการเจาะเลือด⁷ (พบเป็นสาเหตุร้อยละ 5)

การเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อ

การเพาะเชื้อจากเลือด จะทำในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะมีการติดเชื้อแบคทีเรีย หรือเชื้อราในกระแสเลือด ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเจาะเลือดคือ ระยะเวลาที่มีการแบ่งตัวของเชื้อในกระแสเลือดเป็นจำนวนมาก หรือระยะที่ไข้กำลังจะเริ่มขึ้น แต่ในทางปฏิบัติมักจะไม่สามารถทำได้ ควรเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อก่อนให้ยาต้านจุลชีพ โดยเจาะเลือด 2 ครั้งห่างกัน 15 หรือ 30 นาที หรือพร้อมกัน โดยเจาะในตำแหน่งที่ไม่ซ้ำกัน ไม่ควรดูดเลือดจากสายสวนหลอดเลือด

ตำแหน่งที่เหมาะสมในการเจาะเลือด

เส้นเลือดดำบริเวณแขน และผิวหนังบริเวณนั้นไม่มีแผลเป็น ไม่มีรอยโรค

บริเวณที่ควรหลีกเลี่ยง

เส้นเลือดบริเวณขาหนีบ

ปริมาณเลือดที่ใช้ในการเพาะเชื้อ

ตามข้อกำหนดของชนิดของขวดเพาะเชื้อ

ขั้นตอนในการเจาะเลือด

- ตรวจดูคำสั่งการรักษา
- เตรียมขวดเพาะเชื้อ
- เตรียมผู้ป่วย

การเตรียมขวดเพาะเชื้อ

1. เลือกขวดเพาะเชื้อที่เหมาะสม
2. เขียนข้อมูลผู้ป่วยในใบส่งตรวจให้เรียบร้อย
ชื่อ.....นามสกุล.....
เพศ.....อายุ.....
วันที่.....เวลา.....(ที่เจาะเลือด)
หอผู้ป่วย.....

การเจาะเลือด

การเตรียมบริเวณที่จะเจาะเลือด

- เลือกตำแหน่งเส้นเลือดดำที่เหมาะสม
- ทำความสะอาดบริเวณเส้นเลือดที่จะเจาะด้วยน้ำกับสบู่ (ในกรณีที่บริเวณดังกล่าวสกปรก)
- ผู้เจาะเลือดทำความสะอาดมือแบบ hygienic handwashing
- สวมถุงมือสะอาด
- ใช้สายรัดหนีบบริเวณที่จะเจาะประมาณ 2-4 นิ้ว
- เช็ดบริเวณที่จะเจาะเลือดเป็นวงกลมจากภายในสู่ภายนอกด้วย 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol
- ทิ้งให้แห้ง (ประมาณ 30 วินาที)
- เจาะเลือด

การใส่เลือดลงในขวดเพาะเชื้อ

- เช็ดจุกขวดเพาะเชื้อด้วย 70% alcohol หรือ 2% Chlorhexidine gluconate in 70% alcohol ทิ้งให้แห้ง (30 วินาที)
- ใส่เลือดลงในขวดเพาะเชื้อแล้วหมุนขวดเบาๆ เป็นวงกลม เพื่อให้เลือดผสมเข้ากับน้ำยาเลี้ยงเชื้อ

การส่งขวดเลือดเพาะเชื้อ

ควรส่งห้องเพาะเชื้อทันทีหลังจากเจาะเลือดเสร็จ หรือไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมงหลังเจาะเลือด โดยเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องระหว่างรอส่ง

เอกสารอ้างอิง

1. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(4):788-802.
2. Schiffman RB, Strand CL, Meier FA, Howanitz PJ. Blood culture contamination: a College of American Pathologists Q-Probes study involving 640 institutions and 497134 specimens from adult patients. *Arch Pathol Lab Med.* 1998; 122(3):216-21
3. Suwanpimolkul G, Pongkumpai M, Suankratay C. A randomized trial of 2% chlorhexidine tincture compared with 10% aqueous povidone iodine for venipuncture site disinfection: Effects on blood culture contamination rates. *J Infect* 2008; 56:354-9.
4. Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *Clin Microbiol* 2003; 41:2275-8.
5. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *AJIC* 1999; 27(2):97-132.
6. Guideline for antibiotic use. University of Pennsylvania Medical Center
7. Tan L., Hawk J.C., and Sterling M.L. Report of the council on scientific affairs: preventing needle stick injuries in health care settings. *Arch Intern Med* 2001; 161:929-36.

การปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือด

ผ.ศ. น.พ. กำธร มาลาธรรม

หน่วยโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

ความชุกของการปนเปื้อน

ความชุกของการปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือด ต้องคิดจากจำนวนเชื้อที่คาดว่าจะเป็นการปนเปื้อน ต่อจำนวนการเพาะเชื้อจากเลือดทั้งหมด จากการศึกษาในต่างประเทศ พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อในอัตราร้อยละ 0.6 ขึ้นไป บางแห่งอาจจะปนเปื้อนมากเกินกว่าร้อยละ 6⁽¹⁾ อย่างไรก็ตาม อัตราการปนเปื้อนเชื้อที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ คือประมาณร้อยละ 2 ถึงร้อยละ 3 ในประเทศไทย ยังไม่ทราบอัตราการปนเปื้อนว่าเป็นเท่าใด แต่คาดว่าจะไม่น้อย เนื่องจากในการดูแลผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล บ่อยครั้งที่พบเชื้อจากเลือดที่ส่งไปโดยที่ข้อมูลทางคลินิก ไม่มีสิ่งใดชี้บ่งว่าผู้ป่วยน่าจะมีการติดเชื้อเหล่านั้นโดยเฉพาะ coagulase-negative staphylococci

ผลกระทบของการปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเชื้อจากเลือด

เมื่อแพทย์ส่งเพาะเชื้อจากเลือด ย่อมมีความคาดหวัง ว่าอาจจะสามารถพบเชื้อก่อโรคจากเลือดได้ ดังนั้น เมื่อพบว่ามีเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราในเลือดที่ส่งไปยังห้องปฏิบัติการ แพทย์จึงมักมีแนวโน้มที่จะให้ยาต้านจุลชีพไปก่อนในระหว่างที่รอการวินิจฉัยเชื่อว่าเป็นชนิดใด เมื่อทราบแล้วและเห็นว่าไม่ใช่เชื้อก่อโรคจริง จึงจะหยุดยาต้านจุลชีพ จะเห็นได้ว่า เมื่อพบเชื้อจากเลือด จะมีค่าใช้จ่ายเกิดขึ้น คือค่าใช้จ่ายทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยเชื่อนั้น ตลอดจนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพซึ่งจะต้องทำไปพร้อมกับการวินิจฉัยชนิดของเชื้อ และค่าใช้จ่ายสำหรับผู้ป่วย คือค่ายาต้านจุลชีพ ผู้ป่วยบางรายอาจจะได้รับการจำหน่ายจากโรงพยาบาลช้ากว่ากำหนดเนื่องจากการรอผลการพิสูจน์ชนิดเชื้อ ผู้ป่วยบางรายที่ไม่ได้เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลในวันที่ทำการเพาะเชื้อ อาจจะถูกเรียกตัวเข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาล ซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น

การศึกษาของ David W. Bates ในปีค.ศ. 1989 พบว่า การปนเปื้อนเชื้อในการเพาะเชื้อจากเลือด ทำให้ผู้ป่วยต้องอยู่โรงพยาบาลนานขึ้นเป็น 12 วันเศษ คือเพิ่มจาก 8 วันเป็น 12 วันเศษ และต้องเสียค่าใช้จ่ายทางห้องปฏิบัติการเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 20 เสียค่าใช้จ่ายด้านการรักษาเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 30⁽²⁾

Mark L. Waltzman และ Marvin Harper สํารวจพบว่ามี การปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือดร้อยละ 0.9 โดยเชื้อส่วนใหญ่คือ coagulase-negative staphylococci. ผู้ป่วยบางส่วน ได้รับการรักษาแบบผู้ป่วยนอก ซึ่งต้องเสียค่าใช้จ่ายประมาณ 10,821 ดอลลาร์สหรัฐ และผู้ป่วยอีกส่วนหนึ่งเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล มีค่าใช้จ่าย 16,200 ดอลลาร์สหรัฐ ค่าใช้จ่ายทางห้องปฏิบัติการที่เพิ่มขึ้น นอกจากค่าใช้จ่ายในการพิสูจน์ชนิดของเชื้อและการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพแล้ว ยังมีค่าใช้จ่ายในการเพาะเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่สอง การตรวจนับเม็ดเลือด การตรวจปัสสาวะ และการถ่ายภาพรังสีทรวงอกเพื่อหาอวัยวะต้นตอของเชื้อที่พบจากเลือด ⁽³⁾ โดยเชื้อที่พบว่าเป็นเชื้อปนเปื้อน จากมากที่สุดตามลำดับคือ Non-aureus *Staphylococcus* species, viridans streptococci, *Micrococcus* species, *Bacillus* species, *Enterococcus* species เป็นต้น เนื่องจากการปนเปื้อนเชื้อในการศึกษานี้ค่อนข้างต่ำ คือร้อยละ 0.9 เท่านั้น ค่าใช้จ่ายเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อการเพาะเชื้อ 1 ครั้งจึงมีค่าประมาณ 3.40 ดอลลาร์สหรัฐเท่านั้น ซึ่งถือว่าไม่มากเมื่อเทียบกับประโยชน์ที่จะได้จากการตรวจพบผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในเลือดจริง จะเห็นได้ว่า ผลกระทบจากการปนเปื้อนของเชื้อในการเพาะเชื้อจากเลือดอาจจะไม่มากนัก หากมีอัตราการปนเปื้อนต่ำ แต่ถ้าอัตราการปนเปื้อนสูงขึ้น ค่าใช้จ่ายส่วนเกินที่สามารถประหยัดได้ก็จะเพิ่มมากขึ้น

ตัวเลขอัตราการปนเปื้อน และค่าใช้จ่ายส่วนเกินที่กล่าวมาข้างต้น เป็นตัวเลขที่ได้จากการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับในประเทศไทย ยังไม่มีการศึกษาอย่างเป็นระบบในประเด็นเหล่านี้ ผู้สนใจอาจจะลองทำการศึกษาดูเพื่อให้ทราบข้อมูลของประเทศไทย

การจัดการปัญหาการปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือด

เป็นการยากที่การเพาะเชื้อจากเลือดจะไม่มี การปนเปื้อนเลย ดังนั้น บุคลากรผู้ให้บริการทางการแพทย์จึงควรทราบข้อจำกัดของการทดสอบทางห้องปฏิบัติการนี้ โดยลำดับแรก คือการส่งเพาะเชื้อจากเลือดเมื่อคาดว่าจะมีโอกาสที่จะพบเชื้อค่อนข้างมาก ทั้งนี้ต้องพิจารณาปัจจัยแวดล้อมของผู้ป่วยประกอบด้วย เช่น ผู้สูงอายุ เด็กเล็ก ผู้ที่มีโรคประจำตัวบางอย่างเช่นภาวะการทำงานของต่อมไทรอยด์ โรคไตวายเรื้อรัง โรคตับแข็งที่เป็นมาก ผู้ป่วยเหล่านี้ อาจมีการติดเชื้อใน

เลือดโดยอาการอักเสบเฉพาะที่ในระบบอวัยวะต่าง ๆ อาจไม่ปรากฏชัดเจน หรืออาจไม่มีใช้ก็ได้ เมื่อทำการส่งเพาะเชื้อตามข้อบ่งชี้ที่เหมาะสม ย่อมทำให้ผลที่ได้มีความคุ้มค่ามากขึ้น

ประการต่อมา คือการแปลผล แพทย์ควรทราบว่าเชื้อชนิดใดมีแนวโน้มจะเป็นเชื้อก่อโรค เชื้อชนิดใดมีแนวโน้มจะเป็นเชื้อปนเปื้อน จากสถิติ พบว่าเชื้อที่น่าจะเป็นการปนเปื้อนมากที่สุด คือ

Propionibacterium. acnes (ร้อยละ 85-100) *Corynebacterium* spp. (ร้อยละ 68-96) *Bacillus* spp. (ร้อยละ 68-92) coagulase-negative staphylococci (ร้อยละ 62-82) *Clostridium perfringens* (ร้อยละ 77) และ viridans streptococci (ร้อยละ 32-50)⁽¹⁾ **จำนวนหรือสัดส่วนของชนิดเพาะเชื้อที่พบเชื้อ** เทียบกับจำนวนชนิดเพาะเชื้อที่ส่งจากผู้ป่วยรายนั้น ก็เป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ ถ้าพบเชื้อมากกว่า 1 ชนิด หรือมีสัดส่วนของสิ่งส่งตรวจที่พบเชื้อต่อสิ่งส่งตรวจที่ไม่พบเชื้อค่อนข้างสูง (เช่น 2 ใน 3 ชนิด) ก็มีโอกาสมากที่เชื้อนั้นจะเป็นเชื้อก่อโรคจริง เป็นต้น

การเพาะเชื้อจากเลือดด้วยกระบวนการที่ดี ย่อมส่งผลให้อัตราการปนเปื้อนน้อยลง ซึ่งประกอบด้วย

1. การทำความสะอาดผิวหนังของผู้ป่วยด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสม
2. ผู้เจาะเลือดต้องทำความสะอาดมือของตนเองด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ หรือล้างมือด้วยน้ำและสบู่แล้วเช็ดให้แห้งก่อนการเจาะเลือดเสมอ
3. การเพาะเชื้อจากเลือดในกรณีที่ผู้ป่วยคาสายสวนหลอดเลือดดำส่วนกลาง ควรเจาะเลือดจากเส้นเลือดอื่นเสมอ การดูดเลือดจากสายสวนมีโอกาสปนเปื้อนมาก ถ้าจะส่งเลือดจากสายสวนเพาะเชื้อ ควรส่งเลือดที่ดูดจากหลอดเลือดดำส่วนปลายควบคู่กันเสมอและใช้เทคนิค “differential time to positive blood culture” ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือด
4. การทำลายเชื้อที่จุกขวดอาหารเพาะเชื้อก่อนฉีดเลือดจาก syringe เข้าไปในขวด
5. ขั้นตอนการตรวจในห้องปฏิบัติการที่เป็นไปตามมาตรฐานการป้องกันการปนเปื้อน

ทุก ๆ ขั้นตอน มีความสำคัญต่อการลดอัตราการปนเปื้อนในการเพาะเชื้อจากเลือด บุคลากรควรปฏิบัติตามแนวทางที่เหมาะสมอย่างเคร่งครัด เพื่อให้ได้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการที่มีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด อันจะส่งผลให้การตรวจทางห้องปฏิบัติการนั้น เกิดประโยชน์สูงสุดในด้านการรักษาผู้ป่วย และมีความสิ้นเปลืองน้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev 2006; 19(4):788-802.
2. Bates DW, Goldman L, and Lee TH. Contaminant blood cultures and resource utilization: The true consequences of false-positive results. JAMA. 1991; 265:365-6
3. Waltzman ML and Harper M. Financial and clinical impact of false-positive blood culture results. Clin Infect Dis 2001;33:296-9

กระบวนการทางห้องปฏิบัติการสำหรับการเพาะเชื้อจากเลือด

ศ.เกียรติคุณ ดร. มัลลย์ วรจิตร

เลือดของผู้ป่วยอาจมีเชื้อก่อโรคเช่น แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา หรือปรสิต ซึ่งสามารถติดมาสู่ผู้ที่ทำการทดสอบได้ จึงควรดำเนินการเพาะเชื้อจากเลือดในห้องปฏิบัติการด้วยความระมัดระวังป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายจากการติดเชื้อจากเลือด โดยมีข้อปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยดังนี้

1. การส่งขวดเพาะเชื้อจากเลือด ควรใส่ในภาชนะที่ป้องกันไม่ให้ขวดเลือดตกแตก กระแทก ชกกันและกัน หรือหล่น ไม่ถือขวดเลือดจากจุดหนึ่งในห้องปฏิบัติการไปยังอีกจุดหนึ่งโดยไม่มีภาชนะใส่
2. การปฏิบัติงานกับเลือดหรือ สารคัดหลั่งอื่นๆ ต้องใช้ standard precaution เสมอ โดยต้องสวมถุงมือเสมอและทำงานโดยให้ขวดอยู่หลังฉากกันหรือสวมแว่นตากันกระเด็นในขั้นตอนที่อาจก่อให้เกิดละอองฝอย
3. การเจาะเลือดจากขวดที่มีเชื้อขึ้น เวลาที่เห็นว่ามีแก๊สในขวดเมื่อแทงเข็มลงไปอาจดันอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อพุ่งออกมา จึงควรทำขวดเหล่านี้ในตู้ที่มีฉากกันหรือทำใน biosafety cabinet
4. ถ้าสงสัยว่าผู้ป่วยอาจติดเชื้อราหรือเชื้อที่ติดต่อย่าง เช่น *Coccidioides* ห้ามเปิดขวดเด็ดขาด
5. ระวังการเกิดอุบัติเหตุ ควรใช้เข็มที่ปลายไม่คมเพื่อลดอุบัติเหตุจากการถูกเข็มตำ
6. เมื่อรับขวดเลือดแล้วตรวจดูว่าไม่มีรอยร้าวหรือร้าว และถ้ามีต้องปฏิเสธตัวอย่างนั้น
7. การทิ้งขวดเพาะเชื้อจากเลือดไม่ว่าจะมีเชื้อขึ้นหรือไม่ต้องทำลายเชื้อก่อนทิ้ง และต้องทิ้งในภาชนะที่ทนต่อการทิ่มแทง ไม่ทิ้งในถังพลาสติกและต้องไม่ทิ้งเต็มจนเกินไป

วิธีการเพาะเชื้อจากเลือด อาจแบ่งได้เป็น

1. In-house prepared medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจใช้อาหารเหลวชนิดใดชนิดหนึ่ง อาจเติม sodium polyanetholsulfonate (SPS) 0.025%-0.05% เพื่อ

กันไม่ให้เลือดแข็งตัว (anti-coagulant) ยับยั้งการทำงานของ complement ยับยั้งการเกิด phagocytosis และช่วยลดการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพในกลุ่ม aminoglycosides แต่ SPS อาจยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Gardnerella vaginalis* และ *Streptobacillus moniliformis* การเติม 1.2% gelatin จะช่วยลดการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ปริมาณอาหารที่ใช้โดยทั่วไปใช้ 45 มล. ขวดสำหรับผู้ใหญ่ให้เติมเลือด 5-10 มล. ในกรณีที่ผู้ป่วยเด็กใช้อาหารเหลว 9 มล. ให้เติมเลือด 1-2 มล. ระยะเวลาในการบอบขวด 7 วัน ทำการ subculture หลังบอบขวดข้ามคืน (overnight) และขวดที่เชื้อไม่ขึ้นที่บอบครบ 7 วัน ตรวจขวด haemoculture ทุกวันด้วยตาเปล่าว่ามีลักษณะที่มีเชื้อขึ้นหรือไม่ เช่น ขุ่น มี hemolysis มีฟองแก๊สและหรือก้อน clot เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล มีเม็ดสี นวลๆ ซึ่งเป็นโคโลนีของเชื้อหรือมีก้อนคล้ายสำลีซึ่งเป็นโคโลนีของเชื้อรา ถ้าพบลักษณะดังกล่าว ให้ subculture ทันทีบน chocolate agar อบที่มี CO₂ 5-10% อุณหภูมิ 35°C.-37°C. เป็นเวลา 2-3 วัน และบน blood agar และ MacConkey agar อบที่อุณหภูมิ 35°C.-37°C. เป็นเวลา 2-3 วัน พร้อมทั้งป้ายลงสไลด์และย้อมแกรม เมื่อพบเชื้อจากการย้อมแกรมให้รายงานให้แพทย์ทราบทันที แล้วจึงเขียนรายงานตามไป

2. Commercial available manual blood culture system มีอยู่ 3 ระบบที่มีจำหน่ายในสหรัฐอเมริกาในปัจจุบันคือ Septic-Check ของบริษัท Becton Dickinson Biosciences, Signal ของบริษัท Oxoid Inc., Ogdensburg, N. Y. และ Isolator ของบริษัท Wampole Laboratories, Cranbury, N.J.

2.1 Septic-Check System วัตถุประสงค์ของการพัฒนาเพื่อช่วยลดแรงงานในการ subculture โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งเคลือบบน paddle ที่อยู่ใน cylinder ที่ทำจากพลาสติกใส ทำให้มีลักษณะคล้ายกับ biphasic system ของ Casteneda bottle ภายหลังการบอบขวดที่เติมเลือดแล้ว ทำการเอียงขวดให้เลือดท่วม paddle แล้วตั้งขวดต่อไป หากมีเชื้อขึ้นจะเห็นโคโลนีขึ้นบนอาหารแข็งที่เคลือบบน paddle และสามารถนำ paddle ออกจาก cylinder ได้ซึ่งจะทำให้เห็นเชื้อที่ขึ้นได้ชัดเจนขึ้น หากไม่พบว่ามีเชื้อขึ้นให้ทำการเอียงขวดใหม่และอบต่อไปซึ่งเท่ากับเป็นการทำ subculture ทำการตรวจดูวันละ 2 ครั้ง Septic-Check มีอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิดให้เลือกใช้ได้ คือ casein soybean digest broth with or without 10% sucrose, brain heart infusion broth, Columbia

broth, thioglycollate broth และ Schaedler broth สำหรับอาหารที่อยู่บน paddle มี 3 ชนิด คือ chocolate agar, MacConkey agar และ malt. จากการศึกษาเปรียบเทียบกับวิธีอื่นได้ผลไม่ต่างกัน

2.2 Oxoid signal เป็นการเพาะเชื้อจากเลือดโดยใช้เพียงขวดเดียว (one-bottle manual blood culture system) พัฒนารุ่นเพื่อช่วยประหยัดแรงงาน เมื่อเติม เลือดลงไปในขวดโดยวิธีปกติแล้ว สวม plastic signal device ซึ่งมีฝาครอบลงไปถึงบริเวณคอขวดลงบนจุกขวด ภายใน device มีเข็มที่ยาวลงไปในส่วนที่เป็นอาหารเหลวในขวด ถ้ามีเชื้อขึ้นในขวด จะมีแก๊สขึ้นมาอยู่บริเวณเหนืออาหารเหลวทำให้มีความดันเพิ่มขึ้น จึงไปดันอาหารเหลวในขวดให้ล้นออกทางเข็ม และขึ้นมาอยู่ที่กระบอกของ plastic signal device ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยให้ตรวจดูทุกวัน อาหารที่ใช้มีเพียงชนิดเดียว จากการศึกษาเปรียบเทียบกับวิธีอื่นได้ผลดีกว่า

2.3 Isolator System เป็นการเพาะเชื้อจากเลือดเพียงวิธีเดียวที่ไม่ใช้อาหารเหลว แต่อาศัยหลักการของ lysis-centrifugation โดยใส่เลือดลงไปใน Isolator tube ที่มีสารละลายของ saponin, EDTA และ fluorocarbon, saponin เป็นสารที่ทำให้เม็ดเลือดแตก EDTA ทำให้เลือดไม่แข็งตัวและ fluorocarbon เป็นสารกันกระแทกในระหว่างที่ทำการปั่นเลือด เมื่อบั่นเม็ดเลือดแตกแล้ว เปิดจุกยางและดูดส่วนใสข้างบนทิ้งไป จากนั้นเขย่าตะกอนที่จมกันอยู่ให้ผสมกับน้ำที่ยังเหลืออยู่แล้วนำไปเพาะเชื้อบนอาหารแข็งที่เชื้อสามารถขึ้นได้ วิธีนี้ถ้าไม่ทำภายใน 8 ชั่วโมงจะแยกเชื้อ *Haemophilus* species, *Streptococcus pneumoniae* ได้ลดลง วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้แยกเชื้อ *Bartonella* species ได้ดีมาก แต่เป็นวิธีที่ใช้แรงงานมากเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เครื่องอัตโนมัติ

3. Continuously monitored automated blood culture systems (CMBCSs) เครื่องเพาะเชื้อจากเลือดเครื่องแรกคือ BACTEC 460 (Becton Dickinson Biosciences) ซึ่งใช้อาหารเพาะเชื้อที่มีคาร์โบไฮเดรตที่จับกับ ^{14}C ซึ่งเคลือบด้วยสารกัมมันตภาพรังสี เมื่อมีการเจริญของแบคทีเรีย คาร์โบไฮเดรตถูกใช้ และ ^{14}C ปลปล่อย CO_2 ออกมาอยู่ในขวดข้างบนอาหารเหลว เมื่อนำขวดไปเข้าเครื่องอ่านซึ่งมีเข็มแทงทะลุจุกยางลงไปในขวดบริเวณเหนืออาหารเหลว ถ้าจำนวน CO_2 มากกว่าที่กำหนด เครื่องจะส่งสัญญาณให้รู้ เจ้าหน้าที่จะทำการ subculture และย้อม แกรมทันที ปัจจุบันวิธีนี้ไม่ใช่แล้ว

เนื่องจากปัญหาการกำจัดสารกัมมันตภาพรังสี ระบบการเพาะเชื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติได้มีการพัฒนาต่อมาเรื่อยๆ ปัจจุบันสามารถเพาะเชื้อ Mycobacterium ได้ด้วย เครื่องเพาะเชื้ออัตโนมัติมี 3 แบบคือ

3.1 BacT/ALERT (BioMerieux, Inc.) ออกสู่ตลาดในปี ค. ศ. 1990 มีการปรับปรุงในปี 1999 เป็น BacT/ALERT 3D (Design, Detection, Delivery) ซึ่งมี footprint ขนาดเล็กกว่าเดิม และใช้ จอคอมพิวเตอร์แบบ touch screen ซึ่งใช้ได้ง่ายกว่า แต่ละตู้บรรจุได้ 240 ขวด อาศัยหลักการของ colorimetric CO_2 sensor ที่แยกจากส่วนผสมของเลือดและอาหารเหลวโดย semipermeable membrane ซึ่งควบคุมปริมาณของ CO_2 ในขวด ที่ฐานของช่องสำหรับใส่ขวดในตู้อบมี diodes ที่เป็นตัวปล่อยแสง (light-emitting) และมีตัวตรวจรับแสง (light sensing) เมื่อจุลชีพมีการแบ่งตัวจะปล่อย CO_2 ออกมา ตัวตรวจรับที่ขวดจะเปลี่ยนสี ทำให้จำนวนแสงที่สะท้อน ซึ่งเป็นค่าที่วัดโดยเครื่องและส่งต่อไปยังคอมพิวเตอร์ซึ่งมีหลายตัวชี้วัดที่จะใช้ตรวจว่ามีเชื้อขึ้น เช่น

1. ค่าของ แสงที่สะท้อนมากกว่าค่าที่กำหนดให้เป็นผลลบของการเพาะเชื้อ
2. เครื่องตรวจพบการเพิ่มขึ้นของระดับ CO_2
3. มีการเปลี่ยนแปลงของอัตราการสร้าง CO_2

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กับเครื่องนี้มีหลายชนิดคือ

1. Standard aerobic (SA) และแอนแอโรบิกส์ (SN) ประกอบด้วย tryptic soy broth 40 มล. และแนะนำให้ใส่เลือด 10 มล.
2. แอโรบิก (FA) และแอนแอโรบิก (FN) ประกอบด้วย brain heart infusion solid 30 และ 40 มล ตามลำดับ เติมน activated charcoal และ Fuller's earth (Ecosorb) เพื่อจับหรือทำลายสารต้านจุลชีพในเลือด
3. ขวดสำหรับเพาะเชื้อจากเลือดผู้ป่วยเด็กซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อเพียง 20 มล. อาหารเพาะเชื้อที่ใช้คือ peptone-enriched tryptic soy broth, brain heart infusion broth ที่เติมน activated charcoal ขวดนี้สามารถใช้เพาะเชื้อจากเลือดผู้ป่วยสูงอายุที่เจาะเลือดได้ยากโดยใช้ตัวอย่างเลือด 1-4 มล.
4. การศึกษาเปรียบเทียบผลที่ได้กับ CMBCSs อื่น พบว่าได้ผลไม่ต่างกันในเรื่องของเชื้อที่เพาะได้และระยะเวลาที่ตรวจพบเชื้อ

3.2 BACTEC (Becton Dickinson Biosciences) มี 3 ขนาดคือ 9000 system, 9240 system จุได้ 240 ขวด 9120 system จุได้ 120 ขวด 9050 system จุได้ 50 ขวดซึ่งเหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก หลักการทำงานคล้ายกับ BacT/ALERT system คือมี CO₂ sensor ที่กินขวดอาหารเพาะเชื้อ แต่ต่างกันที่เครื่อง BACTEC ใช้กลไกของ fluorescence sensing เพื่อตรวจสอบการเจริญของเชื้อ เมื่อจำนวน CO₂ เพิ่มขึ้น เครื่องจะตรวจพบจากจำนวน fluorescence ที่เพิ่มขึ้น อาหารที่ใช้มีหลายชนิดคือ

1. Standard aerobic และ anaerobic media ซึ่งมี soybean casein digest broth อยู่ 40 มล.
2. Aerobic และ anaerobic Plus media ซึ่งมี soybean casein digest broth อยู่ 25 มล. บวกกับ antibiotic-binding resin ที่อยู่บน glass beads
3. Anaerobic lytic medium ซึ่งมี soybean casein digest broth อยู่ 40 มล. บวก lysing agent
4. Resin medium สำหรับผู้ป่วยเด็ก
5. Myco/F-Lytic เพื่อใช้เพาะเชื้อราและ mycobacterium
6. การศึกษาเปรียบเทียบผลที่ได้กับ CMBCSs อื่น พบว่าเชื้อที่เพาะได้และระยะเวลาที่ตรวจพบเชื้อไม่ต่างกัน

ESP blood culture system (VersaTREK) ผลิตโดยบริษัท Trek Diagnostic System, Inc. แตกต่างจากระบบของ BacT/ALERT และ BACTEC หลายประการคือ ระบบนี้จะสวมขวดด้วย adapter ที่พอดีก่อนที่จะเอาขวดใส่เข้าเครื่องและวัดความดันภายในขวดที่เปลี่ยนแปลงไปตรง headspace ซึ่งเป็นแก๊สออกซิเจน ไฮโดรเจน ไนโตรเจนและ คาร์บอนไดออกไซด์ที่สร้างหรือใช้โดยจุลินทรีย์ ขวด aerobic จะถูกตรวจทุกๆ 12 นาที และขวด anaerobe จะถูกตรวจทุกๆ 24 นาที ความดันที่เปลี่ยนไปในเวลาต่างๆกันจะถูกนำไป plot เป็น growth curve การเขย่าขวดเลือดของเครื่องจะเป็นแบบ orbitally ที่ 160 rpm แต่ใน 2 ระบบที่กล่าวมาแล้วจะเป็นการเขย่าแบบ gentle rocking อาหารเลี้ยงเชื้อของ ESP system จะเป็น soy bean casein peptone broth สำหรับ aerobe และ proteose peptone broth สำหรับเพาะเชื้อ anaerobes ระบบของ ESP

ได้ผลไม่ต่างจากBacT/ALERT และ BACTEC เมื่อใช้ standard media แต่แยกเชื้อ *Staphylococcus* และแบคทีเรียแกรมลบได้น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ BacT/ALERT เมื่อใช้ brain heart infusion broth ที่เติม charcoal

การทำ subculture เบื้องต้น เมื่อมีสัญญาณบ่งบอกว่าอาจมีเชื้อขึ้นไม่ว่าจะมองเห็นด้วยตาเปล่าหรือเป็นสัญญาณจากเครื่องเพาะเชื้ออัตโนมัติต้องทำ initial subculture ทันทีโดยไม่ต้องคำนึงถึงผลที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะที่ชี้บ่งแสดงว่าอาจมีเชื้อขึ้นคือ ชุ่น มีแก๊ส เปลี่ยนสีจากแดงเป็นสีน้ำตาล มองเห็นเม็ดสีน้ำตาลๆอยู่ในชั้นที่มีเลือด (ซึ่งเป็นลักษณะโคโลนีของเชื้อที่ลอยอยู่) มีก้อนคล้ายล่ำลี (โคโลนีของเชื้อรา) หรือมีแถบขุ่นๆคล้ายดาวหาง อาหารที่ใช้ในการทำ subculture อย่างน้อยควรมี trypticase soy blood agar ซึ่งเชื้อส่วนใหญ่ขึ้นได้ และ chocolate agar สำหรับแยกเชื้อที่ต้องการสารอาหารพิเศษ โดยหยดเลือดลงบนผิววัน 2-3 หยด แล้ว streak เพื่อให้ได้โคโลนีที่แยกกัน นำไปอบที่ 35-37°C ในภาวะที่มี คาร์บอนไดออกไซด์ 3-5% อย่างน้อย 48 ชั่วโมง และตรวจดูทุกวันว่ามีเชื้อขึ้นหรือไม่ ถ้าเชื้อขึ้นเฉพาะในขวดแอนแอโรบส์หรือขึ้นทั้งสองขวดแต่มีลักษณะคล้ายแอนแอโรบส์ ต้องเพาะเชื้อบน blood agar ที่มีวิตามิน K และ hemin และอบเชื้อในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ในการทำ subculture อาจเพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้ออื่น เช่น MacConkey agar ถ้าพบแบคทีเรียแกรมลบจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพิ่ม colistin-nalidixic acid agar ถ้าพบเชื้อหลายชนิด หรือเพิ่ม mycologic agar ถ้าเห็น yeast หรือ molds เชื้อ yeast บางชนิด เช่น *Malassezia* species อาจเห็นเป็น budding yeasts ขนาดเล็กในการเพาะเชื้อต้องใช้อาหารสำหรับเพาะเชื้อราที่เคลือบด้วยน้ำมันมะกอกปราศจากเชื้อต่างๆ ถ้าเห็นเป็น spiral form ติดสีแกรมลบ ให้เพิ่ม Brucella agar และเพาะในภาวะ microaerophilic ถ้าเห็นเป็น ghost bacteria หรือแบคทีเรียแกรมบวกผอมๆควรทำการย้อมสี Acid fast bacilli

ในกรณีที่ไม่ได้ใช้ระบบอัตโนมัติควรทำ initial subculture หลังจากอบไว้ค้างคืนแม้จะไม่มีลักษณะที่บ่งชี้ว่ามีเชื้อขึ้นก็ตาม แต่ถ้าใช้ระบบอัตโนมัติไม่จำเป็นต้องทำ subculture เมื่ออบขวดไว้ 5 หรือ 7 วัน ถ้าไม่มีสัญญาณว่าพบเชื้อจากเครื่อง

ระยะเวลาที่บอบชวด haemoculture

ถ้าใช้เครื่องอัตโนมัติต้องบอบชวดเพาะเชื้อจากเลือดอย่างน้อย 5 วัน แต่ถ้าไม่ได้ใช้ระบบเพาะเชื้ออัตโนมัติต้องบอบชวดอย่างน้อย 7 วัน จากการศึกษาที่ Mayo Clinic พบว่าการเพาะเชื้อจากเลือดโดยใช้ระบบอัตโนมัติในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสโลหิต สามารถแยกเชื้อได้ 99.5% และในผู้ป่วย endocarditis สามารถแยกเชื้อได้ 100% ภายใน 5 วัน ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไม่มีความจำเป็นที่ต้องบอบชวดเพาะเชื้อจากเลือดต่อหลัง 5 วัน ในกรณีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อก่อโรคในกลุ่ม HACEK, *Brucella*, *Capnocytophaga* และ *Campylobacter*

การตรวจชวด haemoculture

ในกรณีที่ไม่มีเครื่องอัตโนมัติ ควรตรวจดูชวดว่ามีเชื้อขึ้นหรือไม่เมื่อบอบชวดไว้นาน 6 ถึง 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจทุกวันจนครบ 7 วัน เชื้อจะเจริญได้เร็วขึ้นหากมีการเขย่าขวด จำเป็นต้องทำ blind subcultures ซึ่งควรทำครั้งแรกหลังบอบชวดไว้ 12 ถึง 18 ชั่วโมง การย้อมแกรมหรือ acridine orange fluorescent จะช่วยให้พบเชื้อได้เร็วขึ้น การทำ terminal subculture มีประโยชน์น้อย การเพาะเชื้อแอนแอโรบส์จากเลือดโดยไม่ได้ใช้เครื่องอัตโนมัติไม่ควรเขย่าขวดเลือด และดูว่ามีเชื้อขึ้นหรือไม่เช่นเดียวกับเชื้อแอโรบส์ ไม่จำเป็นต้องทำ blind subculture กรณีที่ใช้เครื่องอัตโนมัติ ให้บอบชวดเลือดไว้นานครบ 5 วันโดยนับระยะเวลาที่บอบชวดเลือดในตู้ ไม่ใช่เวลาตั้งแต่รับขวดเลือดจนรายงานผล

การย้อมแกรม

เป็นวิธีการสำคัญที่ใช้บ่งชี้ว่ามีเชื้อขึ้นในขวดเลือด ข้อมูลจากการย้อมแกรมและข้อมูลผู้ป่วยจะช่วยให้การเลือกใช้สารต้านจุลชีพในผู้ป่วย ข้อมูลที่ใช้ในการรายงานผลการย้อม แกรมไม่ควรทำให้ผู้รับผลสับสนเช่นการรายงานว่า “Gram-positive cocci” ผู้รับผลอาจคิดถึงเชื้อ staphylococci, streptococci หรือ enterococci ก็ได้ แต่ถ้ารายงานว่า “Gram-positive cocci in chains” จะช่วยให้ผู้รับผลได้ภาพที่แฉะลง หากเพิ่มคำอธิบายว่า chains ที่พบเป็นแบบ short chains หรือ long chains ก็จะช่วยทำให้ได้ภาพที่ชัดเจนยิ่งขึ้นเพราะถ้าเป็น in pairs and short chains น่าจะคิดถึงเชื้อ *S. pneumoniae*, enterococci หรือ *Streptococcus* group B แต่ถ้าเป็น long chains น่าจะคิดถึง

beta-hemolytic Streptococci อื่น เป็นต้น ควรหลีกเลี่ยงการรายงานว่าเป็น "diphtheroid" เพราะอาจทำให้แพทย์เข้าใจผิดเพราะคิดว่าเป็นเชื้อปนเปื้อนทั้งที่เชื้อมีลักษณะแบบนี้ได้ เช่น *Rhodococcus*, *Mycobacterium* species จึงควรรายงานเป็น "coryneform gram-positive bacilli" หรือ "pleomorphic gram-positive bacilli not resembling *Bacillus* or *Clostridium*" การรายงานว่าเป็น "tiny gram-negative coccobacilli" ให้ข้อมูลได้ดีกว่าการรายงานเป็น "gram-negative bacilli" หรือการรายงานว่าเป็น "gram-positive, boxcar shaped rods, no visible spores, and abundant gas in the blood culture bottle" จะช่วยให้แพทย์คิดถึงการติดเชื้อ *Clostridium perfringens* ในกระแสโลหิต แต่ถ้ารายงานว่าเป็น "gram-positive rods" แพทย์อาจไม่ได้คิดถึงการติดเชื้อ *Clostridium perfringens* ก็ได้

ควรทำการย้อมสี acridine orange ตัวอย่างเลือดจากขวดที่เครื่องให้สัญญาณบอกแต่ผลการย้อมแกรมไม่พบเชื้อ ดูด้วยกล้อง fluorescent ที่ใช้ fluorescein isothiocyanate filter อย่างไรก็ตามวิธีนี้ไม่สามารถแยกแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แต่จะมีประโยชน์สำหรับเชื้อที่ย้อมติดสี counter stain ได้ไม่ดี เช่น *Mycoplasma*, *Campylobacter* และ *Brucella* spp. หรือเพื่อการ subculture บ่อยๆในขวดที่เป็น ผลบวกปลอมที่แท้จริง

การรายงานผลแกรม

เมื่อย้อมพบเชื้อจากขวดเพาะเชื้อจากเลือดต้องทำการรายงานผลให้แพทย์ทราบทันทีโดยอาจใช้โทรศัพท์ก็ได้แล้วจึงรายงานตามด้วยลายลักษณ์อักษรโดยไม่ต้องรอดูว่าผลการ subculture มีเชื้อขึ้นหรือไม่ การรายงานผลเบื้องต้นที่รวดเร็วและให้ข้อมูลที่ชัดเจนจะช่วยให้แพทย์เลือกวิธีการรักษาผู้ป่วยได้เหมาะสมเร็วขึ้น ซึ่งสามารถช่วยชีวิตผู้ป่วยได้ทันเวลาที่หรือลดความรุนแรงของโรคได้ สำหรับผลที่สมบูรณ์แล้วค่อยส่งตามไป ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าผลการเพาะเชื้อจากเลือดมีความสำคัญมาก จึงควรให้ความสำคัญที่จะต้องทำการทดสอบและรายงานผลก่อนเสมอ เช่น เมื่อได้รับขวดเลือด ให้เบอร์สิ่งตรวจแล้วต้องนำเข้าตู้บ่มทันทีเพราะการบ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสมและการเขย่าขวดจะช่วยให้เชื้อแบ่งตัวได้ไวขึ้น การทำ subculture ควรทำทันทีเมื่อเครื่องส่งสัญญาณว่ามีขวดเลือดบวก และเมื่อเลือดที่สเมียร์ไว้แห้งก็ต้องรีบทำการย้อม แกรม อ่านผล และรายงานให้แพทย์ทราบทันที เพราะการรู้ว่ามีเชื้อขึ้นและรู้ลักษณะของเชื้อจะช่วยให้แพทย์เลือกใช้สารต้านจุลชีพ

ได้เหมาะสมมากขึ้น อย่ารีรอที่จะรายงานผลการย้อมแกรมจากขวดเลือดเพราะไม่แน่ใจว่าเชื้อที่เห็นควรรายงานอย่างไร หรือกลัวว่ารายงานไปแล้วอาจเพาะเชื้อไม่ขึ้น หากไม่แน่ใจอาจคุยกับแพทย์เจ้าของไข้โดยตรงและให้เขามาดูสไลด์ด้วยตนเอง สไลด์ที่พบเชื้อควรเก็บไว้ระยะหนึ่งเพื่อกลับมาดูใหม่ได้หากมีข้อสงสัย ผลการเพาะเชื้อจากเลือดจัดเป็นค่าวิกฤตที่ต้องรายงานเร่งด่วนและต้องมีวิธีกวควบคุมที่ให้แพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยได้รับผลที่รายงานโดยเร็ว ผู้ที่รับผลทางโทรศัพท์ต้องจดผลลงในกระดาษ และอ่านทวนผลที่ได้รับเพื่อยืนยันความถูกต้องและผู้โทรแจ้งผลต้องขอทราบชื่อผู้รับการแจ้งผลและบันทึกไว้

การรายงานผลเบื้องต้น

ตัวอย่างการรายงานผลเบื้องต้นได้แก่

1. ไม่ได้รับตัวอย่างเลือดที่ส่งตรวจ (blood culture order, specimen not received)
2. กำลังดำเนินการทดสอบ ยังไม่มีผลคืบหน้า (testing in progress, no results to date)
3. ไม่มีเชื้อขึ้นที่ 24 ชั่วโมง (no growth at 24 hours)
4. ไม่มีเชื้อขึ้นที่ 48 ชั่วโมง (no growth at 48 hours)
5. มีเชื้อขึ้น (positive blood culture)
6. การรายงานผลแกรม (Gram stain of blood culture)

การรายงานผลที่เสร็จสมบูรณ์

รายงานผลทันทีเมื่อผลเสร็จเพราะผลการเพาะเชื้อจากเลือดมีความสำคัญต่อผู้ป่วยอย่างมากและควรดูผลการเพาะเชื้อจากสิ่งตรวจอื่น เช่น ปัสสาวะ เสมหะ ในผู้ป่วยรายเดียวกันว่ามีความสอดคล้องหรือขัดแย้งกัน ต้องรายงานจำนวน set (ทุกๆขวดที่ได้จากการเจาะเลือดครั้งเดียวกันเรียกว่า 1 set) ที่มีเชื้อขึ้น และจำนวน set ที่ส่งทั้งหมด การพบเชื้อ coagulase-negative *Staphylococcus* เพียง 1 ตัวอย่างอาจไม่มีความสำคัญ แต่ถ้าพบมากกว่า 1 ตัวอย่างควรทำการวินิจฉัยเชื้อเพิ่มเติมว่าเป็นชนิดเดียวกันหรือไม่ การรายงานผลต้องเขียนให้ชัดเจนและแปลผลได้ง่าย การรายงานผลที่เสร็จสมบูรณ์ควรมีข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้

1. ยกเลิกการส่งตรวจ (Test canceled)
2. ไม่มีเชื้อขึ้น (No growth) ให้ระบุระยะเวลาที่เพาะเชื้อด้วย

3. มีเชื้อขึ้น (positive blood culture) และมีผลต่อการดูแลผู้ป่วย ต้องรายงานผลแบบค่าวิกฤต (critical value) ตามนโยบายของแต่ละโรงพยาบาล การรายงานผลสมบูรณ์ที่เป็นลายลักษณ์อักษรต้องประกอบด้วยผลต่อไปนี้
 - ผลจากการย้อมแกรม
 - ผลการวินิจฉัยเชื้อ
 - ผลความไวต่อสารต้านจุลชีพ
4. ข้อมูลอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อการแปลผล เช่น ปริมาตรของเลือดที่เจาะน้อยกว่ากำหนด นำส่งตัวอย่างล่าช้า เป็นต้น

การเก็บรักษาเชื้อที่แยกได้จากเลือด

เชื้อที่แยกได้จากเลือดทุกตัวต้องเก็บไว้อย่างน้อย 6 เดือน โดยเก็บในตู้แช่แข็ง เพราะอาจต้องทำการทดสอบเพิ่มเติม ผู้ป่วยรายเดียวกันถ้าแยกเชื้อชนิดเดียวกันได้ซ้ำอาจเก็บเพียง 10 วัน- 2 สัปดาห์ก็ได้ อาหารที่ใช้ในการเก็บเชื้อคือ 10% skim milk หรือ trypticase soy broth ที่มี 10% glycerol โดยใส่อาหารประมาณ 1 มล.ใน vial ที่ใช้แช่แข็งที่ปราศจากเชื้อ ใช้สำลีพันปลายไม้ปราศจากเชื้อป้ายเชื้อที่เพาะขึ้นใหม่ๆ แล้วจุ่มลงในอาหาร ปิดให้สำลีแห้งแล้วทิ้ง ปิดฝา vial แล้วนำไปเก็บในตู้แช่แข็ง (-20°C หรือ -70°C)

เอกสารอ้างอิง

1. Pfaller MA, Sibley TK, Westfall LM, Hoppe-Bauer JE, Keating MA, Murray PR. Clinical laboratory comparison of a slide blood culture system with a conventional broth system. *J Clin Microbiol* 1982; 16:525-30.
2. Weinstein MP, Mirrett S, Reimer LG, Reller LB. Effect of altered headspace atmosphere on yield and speed of detection of the Oxoid Signal blood culture system versus the BACTEC radiometric system. *J Clin Microbiol* 1990; 28:795-7.
3. Henry NK, Mclimans A, Wright AJ, Thompson RL, Wilson WR, Washington JA II. Microbiological and clinical evaluation of the Isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *J Clin Microbiol* 1983; 17:864-9.
4. Brenner SA, Rooney JA, Manzewitsch P, Regnery RL. Isolation of Bartonella (Rochalimaea) henselae: effects of methods of blood collection and handling. *J Clin Microbiol* 1997; 35:544-7.
5. Weinstein MP, Reller LB. Commercial blood culture systems and methods. In : A Truant, editor. *Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology*: American Society for Microbiology. Washington. D.C.; 2001. p. 12-21.
6. Doern GV, Brueggemann AB, Dunne WM, Jenkins SG, Halstead DC, McLaughlin JC. Four-day incubation period for blood culture bottles processed with the Difco ESP blood culture system. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1290-2.
7. Garner JS. Guideline for isolation precautions in hospital. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1996; 17:53-80
8. Hardy DJ, Hulbert BB, Migneault PC. Time to detection of positive BacT/Alert blood cultures and lack of need for routine subculture of 5 to 5- day negative cultures. *J Clin Microbiol* 1992; 30:2743-5.
9. Masterson KC, McGowan JE, Jr. Detection of positive blood cultures by the BACTEC NR660: the clinical importance of five versus seven days of testing. *Am J Clin Pathol* 1988; 90:91-4.

10. Dunne WM, Jr., Nolte ES, Wilson ML. Cumitech 1B, Blood Cultures III. In: Hindle JA, Coordinating editor. Washington, D. C.: ASM Press; 1997.
11. Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, *et al.* Optimal testing parameters for blood cultures. Clin Infect Dis 2004; 38:1724-30.
12. Tierney BM, Henry NK, Washington JA I. Early detection of positive blood cultures by the acridine orange staining technique. J Clin Microbiol 1983; 18:830-3.
13. Gill VJ. Lack of clinical relevance in routine terminal subculturing of blood cultures. J Clin Microbiol 1981; 14:116-8.
14. Chusid MJ, Perzigian RW, Dunne WM, Gecht EA. Brucellosis: an unusual cause of a child's fever of unknown origin. Wis Med J 2003; 88:11-13.
15. Wortmann DW, Dunne WM. Campylobacter upsaliensis sepsis in a boy with acquired hypogammaglobulinemia. Diagn Microbiol Infect Dis 1990; 13:367-69.
16. Adler H, Baumlin N, Frei R. Evaluation of acudine orange staining as a replacement of subcultures for BacT/ALERT-positive, Gram stain-negative blood cultures. J Clin Microbiol 2003; 41:5238-39.
17. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. J Clin Microbiol 2003; 41:495-97.
18. Reimer LG, Carroll KC. Procedures for the storage of microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington, D.C.: ASM Press; 2003. p. 67-73.
19. Introduction to Microbiology. Part II: Guideline for the Collection Transport Processing Analysis and Reporting of Cultures from Specific Specimen Sources. In : Winn W, Jr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G, editors.. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott Williams, Wilkins. 2006. p. 97-105.

การแปลผลและการควบคุมคุณภาพการเพาะเชื้อจากเลือด

ดร. สุวรรณา ตระกูลสมบูรณ์

สาขาวิชาโรคติดเชื้อและอายุรศาสตร์เขตร้อน ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ข้อมูลการเพาะเชื้อตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยของโรงพยาบาลในประเทศไทย ที่สำรวจอย่างต่อเนื่องโดยศูนย์ความร่วมมือขององค์การอนามัยโลกด้านการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าอัตราการพบเชื้อ coagulase-negative staphylococci (CNS) มากเป็นอันดับหนึ่งและพบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับตลอดระยะเวลา 10 ปีของการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา คือประมาณร้อยละ 20-25 ของเชื้อที่เพาะได้จากเลือด เชื้อดังกล่าวมักเป็นเชื้อที่อาศัยบนผิวหนัง ซึ่งอาจปนเปื้อนในขณะที่เจาะเลือดหรือในกระบวนการห้องปฏิบัติการสำหรับการเพาะเชื้อจากเลือด ส่งผลให้มีการใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็น เป็นอันตรายต่อผู้ป่วยก่อให้เกิดเชื้อดื้อยา และสูญเสียค่าใช้จ่าย ดังนั้นการ การลดอัตราปนเปื้อนจากการเจาะเลือดจะช่วยให้การรักษาผู้ป่วยถูกต้องมากขึ้น ลดการดื้อยา ช่วยลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ และได้ข้อมูลทางด้านระบาดวิทยา และสาเหตุที่แท้จริงของเชื้อก่อโรคในกระแสเลือด อันจะเป็นประโยชน์ในการรักษาและควบคุมโรค จึงมีความจำเป็นที่ผู้ปฏิบัติงาน ควรทราบแนวปฏิบัติการแปลผลการเพาะเชื้อจากเลือด เพื่อแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในเลือดจริงออกจากเชื้อที่ปนเปื้อนหรือเชื้อที่ไม่ใช่สาเหตุของการติดเชื้อ

การตรวจพบ CNS นี้ ส่วนใหญ่เกิดจากการปนเปื้อนแต่อาจจะเป็นเชื้อก่อโรคได้ในกรณีที่มีการคายสว่นหลอดเลือด ผู้ป่วยที่มีลิ้นหัวใจเทียม เป็นต้น การพบเชื้อ CNS โดยที่แพทย์ไม่สามารถวินิจฉัยได้ว่าเป็นเชื้อก่อโรคหรือเชื้อปนเปื้อนจะนำไปสู่การรักษาที่มากเกินไป ในกรณีที่เปื้อนเชื้อปนเปื้อน และการละเลยการรักษาถ้าเชื่อนั้นเป็นเชื้อก่อโรคจริง แพทย์อาจคิดว่าเป็นเชื้อปนเปื้อน ทั้ง 2 กรณีข้างต้นทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วยและสูญเสียค่าใช้จ่ายมหาศาลการเพาะเชื้อจากเลือดเป็นการตรวจที่มีความสำคัญยิ่งต่อชีวิตผู้ป่วย การปนเปื้อนเชื้อจากกระบวนการเจาะเลือด การใส่เลือดเข้าขวดเพาะเชื้อและในกระบวนการตรวจทางจุลชีววิทยา การปนเปื้อนเชื้อจาก

การเพาะเชื้อจากเลือด สามารถทำให้ลดลงได้ โดยการปฏิบัติงานอย่างถูกต้องทุกกระบวนการโดยมีการควบคุมคุณภาพในทุกขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงานของแพทย์ พยาบาล และนักจุลชีววิทยา

การแปลผลการเพาะเชื้อจากเลือด

เนื่องจากพบมีอุบัติการณ์ของการติดเชื้อในกระแสเลือด ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ปรกติไม่ได้เป็นเชื้อก่อโรค หรือก่อโรคไม่รุนแรง เช่นเชื้อประจำถิ่น (normal flora bacteria) ที่พบในคนปรกติ การแปลผลการเพาะเชื้อจากเลือดเพื่อแยกความสำคัญของการพบเชื้อดังกล่าวออกจากการปนเปื้อนทำได้ยากมาก เนื่องจากในอีกด้านหนึ่ง การพบการปนเปื้อนของเชื้อในกระแสเลือด อาจทำให้มีการใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็น มีการตรวจวิเคราะห์มากขึ้นหรือมีการปรึกษาแพทย์เฉพาะทาง และเพิ่มระยะเวลาการอยู่ โรงพยาบาลมากขึ้น ค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวข้องเนื่องจากการพบ ผลบวกปลอมของการเพาะเชื้อจากเลือด มีมากถึง 40% สำหรับการรับยาต้านจุลชีพและการทดสอบเพื่อแยกชนิดของเชื้อในห้องปฏิบัติการ การที่ไม่สามารถแยก contamination ออกจาก true infection จึงมีผลกระทบมาก ดังนั้นตัวชี้บ่งที่สามารถช่วยแยก probable pathogen ออกจาก contamination มีความสำคัญสำหรับการแปลผลการเพาะเชื้อจากเลือด

ตัวชี้บ่งที่ใช้ในการแปลผลของการเพาะเชื้อในเลือด

ตัวชี้บ่งที่ใช้ในการแปลผลเพื่อพิจารณาแยกการเพาะเชื้อที่พบเชื้อก่อโรคในกระแสเลือด ออกจากการพบเชื้อปนเปื้อนในเลือด ตัวชี้วัดเหล่านี้ใช้แสดงให้เห็นแพทย์และห้องปฏิบัติการทราบว่าตัวอย่างตรวจน่าจะมีเชื้อปนเปื้อนระหว่างเก็บตัวอย่างหรือในขั้นตอนการวิเคราะห์ เช่น

- ความถี่ของการพบมีเชื้อขึ้นในขวดจากจำนวนขวดที่ทำการเพาะเชื้อ (positive bottles among collections) เช่นเจาะเลือดสามขวดและมีเชื้อขึ้นทั้งสามขวด หรือเจาะเลือดสองขวดเพาะเชื้อได้ทั้งสองขวด โอกาสที่ผู้ป่วยมีการติดเชื้อในกระแสเลือดจริงจะสูงมาก ในทางกลับกันความน่าเชื่อจะน้อยมากกรณีพบมีเชื้อขึ้นเพียงขวดเดียวจากการเจาะเลือด สามขวดเป็นต้น

- ผลการย้อมแกรมจากขวดเลือดเพาะเชื้อ พบเชื้อ Gram-positive cocci in cluster แสดงว่าเป็นเชื้อ staphylococci ซึ่งอาจจะเป็น เชื้อก่อโรคคือ *Staphylococcus aureus* หรือ อาจเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนังเป็น coagulase- negative staphylococcus ซึ่งไม่ก่อโรค ถ้าย้อมได้ Gram positive rod ตัวโต ชี้บ่งว่าเป็น *Bacillus spp.* ซึ่งเป็นเชื้อปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม แสดงว่ามีการปนเปื้อนที่ตำแหน่งเจาะเลือดและทำความสะอาดผิวหนังไม่ดี การป้องกันการติดเชื้อด้วยการย้อมแกรมอย่างเดียวไม่เพียงพอ เนื่องจากเชื้อบางส่วนที่กล่าวมานี้อาจเป็นเชื้อก่อโรคได้ด้วย
- จำนวนและชนิดของ เม็ดเลือดขาวในเลือด ขณะที่มีการติดเชื้อในกระแสผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องมักจะมีเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติและ ถ้ามี left shift ($>10\%$ bands) โดย จำนวน เม็ดเลือดขาวไม่เพิ่มขึ้นมักมีความสัมพันธ์กับ positive blood culture
- จำนวน species ที่แยกได้จากเลือดแต่ละขวด เชื้อที่เพาะได้หลายตัว (Multiple organisms isolates) มักสัมพันธ์กับการปนเปื้อนเนื่องจากทำความสะอาดผิวหนังไม่ดี การติดเชื้อในเลือดมักพบเชื้อเพียงชนิดเดียว
- อาการแสดงของผู้ป่วย เช่นมีไข้สูง หรือไข้ต่ำๆ ผู้ป่วยที่ไม่มีไข้แต่มี positive blood culture มักเกิดคำถามว่าผลการเพาะเชื้อเชื้อได้หรือไหม
- ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจนตรวจพบเชื้อ ถ้าเจาะเลือดได้เพียงพอเวลาที่แบคทีเรียแบ่งตัวจนตรวจพบเชื้อได้ มักไม่เกิน 48 ชม.กรณีที่มีเชื้อปริมาณมาก จะตรวจพบ positive culture ได้เร็ว ในทางกลับกันเชื้อที่โตช้าชี้บ่งว่ามีเชื้อปริมาณน้อยมากที่เข้าไปในขวดซึ่งมักมีความจำเพาะคือไม่มีเชื้อในเลือด แต่มีการปนเปื้อนในขวดเลือดจากเชื้อที่มีแหล่งจากภายนอก

เชื้อที่น่าจะเป็นเชื้อปนเปื้อน (Probable contamination)

1. การเพาะได้เชื้อต่อไปนี้จากเลือดเพียงขวดเดียวในขณะที่ทำการเพาะเชื้อมากกว่าหรือเท่ากับสองขวด ได้แก่

- *Bacillus species*
 - *Corynebacterium species*
 - *Propionibacterium acnes*
 - coagulase-negative staphylococci
2. การพบเชื้อหลายชนิดในเลือดเพียงขวดเดียวจากการเจาะเลือดอย่างน้อยสองขวด
 3. เชื้อที่แยกได้จากเลือดของคนไข้ที่ไม่มีอาการติดเชื้อ หรือหลักฐานทางแพทย์ไม่สอดคล้องกับผลการเพาะเชื้อ
 4. เชื้อก่อโรคที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในตำแหน่ง primary site เป็นคนละชนิดกับที่แยกได้จากเลือด

เชื้อที่น่าจะเป็นเชื้อก่อโรค (Probable pathogen)

1. เชื้อที่แยกได้เป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้จากเลือดที่เจาะซ้ำใหม่ ในเวลาที่ต่างกัน หรือเจาะจากตำแหน่งที่ต่างกัน
2. แยกเชื้อที่จำเพาะบางตัวได้จากเลือดของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ endocarditis เช่น *Enterococcus species* หรือ เชื้อ แกรมลบชนิดแท่ง
3. เชื้อที่จำเพาะเช่น เชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus pneumoniae*, เชื้อแกรมลบชนิดแอนแอโรบิก และ *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus group B* เป็นต้น
4. เชื้อประจำถิ่น (normal microbial flora) ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยที่สงสัยมีการติดเชื้อในกระแสเลือดและมี prosthetic devices หรือมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือได้รับสารกดภูมิ ต้านทาน

5. เชื้อที่พบได้ไม่บ่อยแต่แยกได้จากผู้ป่วยที่มีประวัติพิเศษเช่นเดินทางไปต่างประเทศ หรือเชื้อที่ใช้เป็นอาวุธชีวภาพเช่น *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Brucella spp.*, *Yersinia pestis*, *Burkholderia pseudomallei*.
6. เชื้อบางชนิดที่ไม่สามารถเจริญบนอาหารสังเคราะห์ วินิจฉัยได้โดย serological test หรือ molecular method เช่น *Coxiella*, *Chlamydia spp.*, *Rickettsia spp.*

แบคทีเรียที่แยกได้จากเลือดและโอกาสการของการปนเปื้อน (False positive)

หรือโอกาสของการก่อโรค (True positive)

Organism	% False positive	% True positive
<i>Bacillus spp.</i>	>90	< 10
Coagulase-negative staphylococci	>90	< 10
<i>Propionibacterium spp.</i>	>90	< 10
<i>Corynebacterium spp.</i>	80	20
<i>Viridans streptococci</i>	50	50
<i>Clostridium spp.</i>	40	60
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	75
<i>Enterococcus spp.</i>	15	85

การควบคุมคุณภาพการเพาะเชื้อจากเลือดในห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการควรทำการควบคุมคุณภาพในทุกขั้นตอนของการเพาะเชื้อจากเลือดโดยมีขั้นตอนการควบคุมคุณภาพดังนี้

1. การประกันคุณภาพการวิเคราะห์

ทำการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control) และบันทึกผล และการเข้าร่วมโครงการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการที่จัดขึ้นโดยองค์กรภายนอกในระดับประเทศ หรือระดับสากล (External quality assessment; EQA) ห้องปฏิบัติการทำการประกันคุณภาพการเพาะเชื้อจากเลือดได้ดังนี้

- การควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลชีพได้ครอบคลุมจุลชีพที่เป็นสาเหตุการติดเชื้อในเลือด
- ควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารที่ใช้เพาะเชื้อ
- ควบคุมคุณภาพการย้อมสีให้ครอบคลุมทั้งเชื้อที่เป็น positive control และ negative control ทำการวิเคราะห์และบันทึกผลแบบเดียวกันกับการย้อมเลือดของผู้ป่วย
- ควบคุมคุณภาพการเพาะเชื้อจากเลือดในขวด ทำทั้ง positive control โดยใส่เชื้อมาตรฐานที่เจือจางด้วยเลือดของคนปกติ ให้มีปริมาณเชื้อแตกต่างกันลงในขวดเพาะเชื้อ และ ทำ negative control ที่ใส่น้ำเกลือแทนเชื้อ ทำการวิเคราะห์และบันทึกผลการเพาะเชื้อแบบเดียวกันกับเลือดของผู้ป่วย
- ทำการควบคุมคุณภาพทดสอบความไวของเชื้อมาตรฐานต่อยาต้านจุลชีพ ทำการวิเคราะห์และบันทึกผลแบบเดียวกับเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย
- กำหนดเกณฑ์การตัดสินการควบคุมคุณภาพกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์และทำบันทึกปฏิบัติการแก้ไข

- มีการจัดเก็บรักษาคุณภาพของเชื้อมาตรฐานที่ได้มาจากแหล่งที่เชื่อถือได้และเป็นสากลที่อ้างอิงได้ เพื่อนำผลมาใช้ควบคุมคุณภาพของการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ คุณภาพอาหารที่ใช้เพาะเชื้อจากเลือดและอาหารที่ใช้ ทำ subculture หรือการวินิจฉัยเชื้อ
- มีระบบการวิเคราะห์ที่สอบกลับได้ (traceable) ถึงค่ามาตรฐานสากล (SI unit) มีการบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์ สารมาตรฐาน และเชื้อมาตรฐาน (calibrator/control material) ที่ใช้
- วัสดุอ้างอิงและเชื้อมาตรฐาน (standard/calibrator) มีคุณลักษณะเหมาะสม มีใบรับรองคุณลักษณะหรือข้อมูลอ้างอิงจากผู้ผลิต (MT 5.2.4)
- กรณีทำ test เดียวกันแต่ใช้หลายเครื่องต้องมีการปรับเทียบผล มีบันทึก
- ห้องปฏิบัติการต้องเข้าร่วมโครงการ EQA กับองค์กรที่มีคุณภาพ เพื่อเป็นดัชนีชี้วัดความถูกต้องของผลการทดสอบที่ทำ โดยปฏิบัติต่อตัวอย่างที่ได้รับเช่นเดียวกับตัวอย่างทดสอบจากผู้ป่วย กรณีมีผลที่ไม่ตรงกับผล EQA ต้องทำการวิเคราะห์หาสาเหตุและดำเนินการแก้ไข
- มีการสอบเทียบเครื่องมือที่มีผลกระทบต่อคุณภาพ และมีการบำรุงรักษาเชิงป้องกันและตรวจสอบความพร้อมใช้งานของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติสำหรับการเพาะเชื้อจากเลือด ทั้งส่วนที่เป็น incubator และระบบ detection ตู้น้ำเย็นเก็บแผ่นยาทดสอบและสารที่ใช้ทดสอบ

2. ขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์

- มีคู่มือจัดเก็บตัวอย่างและแนวปฏิบัติในการเจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อให้หน่วยงานที่มาส่งตัวอย่างวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ทันทีเมื่อได้รับตัวอย่าง ห้องปฏิบัติการต้องกำหนดวิธีการเก็บรักษาตัวอย่างและช่วงเวลาที่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้โดยผลการทดสอบไม่เปลี่ยนแปลงและไม่ทำการทดสอบสิ่งตรวจที่มีคุณภาพไม่ดีพอ
- มีการควบคุมวิธีการนำส่งตัวอย่างภายในเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม

- มีการกำหนดเกณฑ์รับและปฏิเสธตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดสภาพตัวอย่างที่ไม่เป็นตามเกณฑ์ และต้องบอกสภาพตัวอย่างที่ไม่เหมาะสมในการรายงานผลด้วยทุกครั้ง เพื่อแพทย์จะได้ใช้ประโยชน์ในการแปลผล
- มีการชี้บ่งตัวอย่างและใบส่งตรวจ มีบันทึกการรับตัวอย่างในสมุดหรือระบบคอมพิวเตอร์

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

- ใช้วิธีวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐาน หรือวิธีที่อ้างอิงได้ กรณีใช้วิธีวิเคราะห์ที่กำหนดขึ้นเอง หรือดัดแปลงวิธีวิเคราะห์เช่นลดส่วนน้ำยา หรืออื่น ๆ ต้องมีข้อมูลการ validate
- แจ้งวิธีวิเคราะห์ให้ผู้ให้บริการทราบรวมทั้งชนิดและปริมาณของตัวอย่างที่ต้องการ ถ้าเปลี่ยนแปลงวิธีการต้องแจ้งเป็นลายลักษณ์และมีบันทึกการแจ้ง
- มีคู่มือวิธีปฏิบัติหรือระเบียบปฏิบัติการวิเคราะห์ ณ จุดที่ปฏิบัติงาน เป็นเอกสารควบคุมในระบบการควบคุมเอกสาร วิธีในคู่มือตรงตามที่ใช้งานจริงเป็นปัจจุบัน

4. ขั้นตอนหลังการวิเคราะห์

- การรายงานผลขั้นสุดท้ายประกอบด้วยผลต่อไปนี้ ผลจากการย้อมแกรม ผลการวินิจฉัยเชื้อ และผลความไวต่อสารต้านจุลชีพ
- มีการตรวจสอบผลการเพาะเชื้อโดยผู้ที่ได้รับมอบหมาย
- การย้อมแกรม เป็นวิธีการสำคัญที่ใช้บ่งชี้ว่ามีเชื้อขึ้นในขวดเลือด เมื่อย้อมพบเชื้อจากขวดเพาะเชื้อจากเลือดต้องทำการรายงานผลให้แพทย์ทราบทันที ผลการเพาะเชื้อจากเลือดจัดเป็นค่าวิกฤตที่ต้องรายงานเร่งด่วน ต้องให้แพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยได้รับผลที่รายงานโดยเร็ว ผู้ที่รับผลทางโทรศัพท์ต้องบันทึกผลเพื่อไว้ยืนยันความถูกต้องและผู้โทรแจ้งผลต้องบันทึกชื่อผู้รับการแจ้งผล
- เมื่อเพาะเชื้อขึ้น (positive blood culture) ต้องรายงานผลทันทีที่ได้ผลเป็นค่าวิกฤต (critical value) การรายงานผลต้องรายงานทั้ง ผลจากการย้อมแกรม ผลการวินิจฉัยเชื้อ และผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ ข้อมูลนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการแปลผล เช่น

ยาต้านจุลชีพที่ผู้ป่วยได้ก่อนเจาะเลือดเพาะเชื้อ ปริมาตรของเลือดที่ใช้เพาะเชื่อน้อยกว่ามาตรฐานที่กำหนด การส่งตัวอย่างล่าช้า เป็นต้น

- มีการทำลายตัวอย่างหลังการวิเคราะห์อย่างถูกต้อง

การบริหารจัดการระบบคุณภาพของงานห้องปฏิบัติการให้งานขับเคลื่อนตามลำดับของการทำงานสามขั้นตอนใหญ่ดังนี้

1. ขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์:-

1.1 การส่งตรวจ

1.2 การเก็บส่งตรวจและนำส่งห้องปฏิบัติการ

1.3 การรับและปฏิเสธส่งตรวจโดยตรวจสอบคุณภาพของส่งตรวจ

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์:-

2.1 การวิเคราะห์

2.2 การทบทวนและติดตามผลการวิเคราะห์

3. ขั้นตอนหลังการวิเคราะห์:-

3.1 การรายงานผลและการรับรองผลการวิเคราะห์

3.2 การเก็บรักษาและทำลายส่งตรวจหลังการวิเคราะห์

รายงานผลการเพาะเชื้อจากเลือดที่ได้จากห้องปฏิบัติการที่ดีควรมีการควบคุมคุณภาพของการปฏิบัติงานทั้งสามขั้นตอนของการวิเคราะห์ คือก่อนการวิเคราะห์ ระหว่างการวิเคราะห์ และหลังการวิเคราะห์ การควบคุมคุณภาพที่ทำอย่างจริงจังและต่อเนื่องเป็นปัจจัยหลักที่ใช้ในการประกันคุณภาพของการเพาะเชื้อจากเลือดได้ ทำให้แพทย์มีความเชื่อมั่นผลการวิเคราะห์ อันจะเป็นประโยชน์ในการรักษาและควบคุมโรค การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์เป็นวิธีการทางห้องปฏิบัติการที่น่าจะมีประสิทธิภาพการสูงในการลดการปนเปื้อนเชื้อจากการเพาะเชื้อในเลือด เนื่องจากสามารถใช้แยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในเลือดจริงออกจากเชื้อที่ปนเปื้อนหรือเชื้อที่ไม่ใช่สาเหตุของการติดเชื้อได้ จึงควรใช้แนวปฏิบัติการแปลผลและการควบคุมคุณภาพในการพัฒนาคุณภาพการเพาะเชื้อจากเลือด

เอกสารอ้างอิง

1. Hall KK and Lyman JA. Updated Review of Blood Culture Contamination Clin Microbiol Reviews 2006;19:788-802
2. CLSI. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institutes; 2007.
3. Cockerill FR III, Wilson JW, Vetter EA, et al. Optimal testing parameters for blood culture. Clin Infect Dis. 2004; 38:1724-1730.
4. Bates DW, Goldman L, and Lee TH. Contaminant Blood Cultures and Resource Utilization: The True Consequences of False-Positive Results. JAMA.1991; 265: 365-369.
5. Basu S, Pal A, Desai PK. Quality control of culture media in a microbiology laboratory. Indian J Med Microbiol 2005; 23:159-63.
6. Dunne WM, Nolt FS, Wilson ML, Hindler JA. 1997. Cumitech 1B, Blood cultures III. American Society for microbiology, Washington, DC.
7. สมาคมเทคนิคการแพทย์. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2551 สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ พ.ศ. 2551.
8. Barenfanger J, Improving the clinical utility of microbiology data: An update. Clinical Microbiology Newsleter 2003; 25:1-8.
9. Beekmann SE, Diekema DJ, Doern GV. Determining the clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. Infect Control Hosp Epidemiol 2005; 26:559-566.
10. Richter SS, Beekmann SE, Croco JL, Diekema DJ, Koontz FP, Pfaller MA, Doern GV. Minimizing the workup of blood culture contaminants: Implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. J Clin Microbiol 2002; 40:2437-2444.

ความก้าวหน้าในการเพาะเชื้อจากเลือด

ผศ.ดร.นพ.ภัทรชัย กิริตสิน

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

การติดเชื้อในกระแสเลือด (Bloodstream infection) และการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

การติดเชื้อในกระแสเลือด ส่วนใหญ่หมายถึงภาวะที่มีแบคทีเรียอยู่ในเลือด (bacteremia) ส่วนน้อยอาจเกิดจากเชื้อรา (fungemia) ซึ่งหากภาวะการมีจุลชีพอยู่ในเลือดดังกล่าวก่อให้เกิดอาการตามระบบ เช่น ไข้ และมีเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้น จะเรียกภาวะนั้นว่า septicemia เมื่อสงสัยการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อเข้าสู่เลือดโดยตรง หรือมีการกระจายของเชื้อเข้าสู่เลือดจากการติดเชื้อเฉพาะที่ในตำแหน่งอื่นๆ มาก่อน วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมคือ การเพาะเชื้อจากเลือด โดยไม่นิยมทำการตรวจโดยตรงเช่นการย้อมสีแกรม เนื่องจากมีโอกาสพบเชื้อได้น้อย

หลักทั่วไปสำหรับการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อเพาะเชื้อมีดังนี้

1. **จำนวนตัวอย่าง** ควรเก็บอย่างน้อย 2-3 ตัวอย่างตรวจ ภายใน 24 ชั่วโมง ผู้ที่มีภาวะติดเชื้อในเลือดมักให้ผลบวกได้ประมาณ 80% ในตัวอย่างตรวจแรก, 90% ในตัวอย่างตรวจที่สอง และ 99% ในตัวอย่างตรวจที่สาม การเก็บเพียงตัวอย่างตรวจเดียวอาจทำให้เกิดผลลบปลอมเนื่องจากมีปริมาณเลือดที่ส่งตรวจน้อยเกินไป หรือแปลผลแยกจากภาวะผลลบปลอมจากการปนเปื้อนของเชื้อได้ยาก โดยการปนเปื้อนเชื้อจะพบได้น้อยลงเมื่อเก็บตัวอย่างจำนวนมากขึ้น ยกเว้นในกรณีที่การเก็บตัวอย่างทำได้ยากเช่นในเด็กเล็ก อาจเก็บเพียงตัวอย่างเดียว การเก็บตัวอย่างตรวจอาจทำซ้ำในวันต่อมาเพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อ
2. **ตำแหน่งที่เก็บ** การเก็บตัวอย่างเลือด ต้องทำโดยวิธีปราศจากเชื้อเสมอ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนัง หรือเชื้อจากสิ่งแวดล้อม โดยควรเก็บเลือดจากตำแหน่งต่างกัน และแยกเจาะคนละครั้งสำหรับแต่ละตัวอย่างตรวจ เช่นเจาะเลือดจากแขนคนละข้าง (ไม่ควรเจาะเลือดเพียงครั้งเดียวสำหรับใส่ 2-3 ขวด) ทั้งนี้เพื่อช่วยในการพิจารณากรณีสงสัยเชื้อปนเปื้อน การตรวจพบเชื้อชนิดเดียวกันจากตัวอย่างตรวจที่เก็บ

จากคนละตำแหน่งมักบ่งชี้ถึงการติดเชื้อที่แท้จริง ในขณะที่การตรวจพบเชื้อที่ปกติเป็นเชื้อประจำถิ่นจากตัวอย่างเพียงชนิดเดียว หรือพบเชื้อต่างชนิดกันจากคนละตัวอย่างตรวจ มักบ่งชี้ว่าเป็นเชื้อปนเปื้อน

3. **เวลาที่เก็บ** การเก็บตัวอย่าง ควรเก็บก่อนเริ่มให้ยาต้านจุลชีพเสมอ แบบที่เรียบางชนิดมีความไวต่อยาต้านจุลชีพและตายได้อย่างรวดเร็วภายหลังสัมผัสกับยา หากผู้ป่วยได้รับยาต้านจุลชีพก่อนการเก็บตัวอย่างตรวจ แพทย์ควรแจ้งให้ห้องปฏิบัติการทราบเสมอ การเก็บเลือดควรทำในทันทีที่ผู้ป่วยเริ่มมีไข้ และเก็บ 2-3 ตัวอย่างในเวลาใกล้เคียงกัน เนื่องจากช่วงเวลาไข้เริ่มขึ้น เป็นเวลาที่แบคทีเรียเริ่มมีการสลายตัว ดังนั้น ควรเก็บตัวอย่างเลือดให้เสร็จสิ้นในเวลาดังกล่าว หากรอถึงเวลาที่ไข้ขึ้นสูงสุด ปริมาณแบคทีเรียในเลือดจะน้อยลงมาก และอาจเกิดผลลบปลอมได้ อีกทั้งการเก็บเลือด 2-3 ตัวอย่างในเวลาใกล้เคียงกัน ยังเป็นการสะดวกแก่ผู้ปฏิบัติงาน และการเว้นระยะเวลาการเจาะเลือดระหว่างตัวอย่างไม่ช่วยให้โอกาสในการตรวจพบเชื้อเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยที่มีเชื้อในเลือดตลอดเวลา (continuous bacteremia) เช่น ผู้ป่วยโรคติดเชื้อหัวใจอักเสบติดเชื้อ (infective endocarditis) และผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเนื่องจากสายสวน (catheter-related infection) สามารถเก็บตัวอย่างตรวจเมื่อใดก็ได้ ทั้งนี้ เฉพาะกรณีที่ต้องการบันทึกว่าผู้ป่วยมีภาวะที่มีเชื้อในเลือดตลอดเวลา อาจทำการเก็บเลือดแต่ละตัวอย่าง ห่างกัน 30-60 นาทีได้

4. **ปริมาณของตัวอย่างเลือด** ปริมาณเลือดแปรผันตรงต่อความไวในการตรวจพบเชื้อ การเก็บเลือดในปริมาณมากขึ้นทำให้มีโอกาสดำเนินการตรวจพบเชื้อเพิ่มขึ้น ในผู้ใหญ่ควรเก็บอย่างน้อย 8-10 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างตรวจ ในเด็กเล็กและทารกอาจเก็บเพียง 1-5 มิลลิลิตร (พิจารณาตามน้ำหนัก) ทั้งนี้ ในผู้ใหญ่ ปริมาณรวมของเลือดที่ส่งเพาะเชื้อใน 24 ชั่วโมงไม่ควรน้อยกว่า 20-30 มิลลิลิตร ดังนั้น การเก็บ 2-3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 8-10 มิลลิลิตร จึงจะทำให้ได้ปริมาณรวมที่เหมาะสม

การเพาะเชื้อจากเลือดด้วยระบบอัตโนมัติ (Automated blood culture)

การเพาะเชื้อจากเลือดในแบบที่ห้องปฏิบัติการทำการตรวจการเจริญของเชื้อภายในขวดอาหารเหลว (broth) ด้วยตัวเอง หรือ conventional method นั้น มีความไวไม่มากนัก เพราะขึ้นอยู่กับ

ความชำนาญของเจ้าหน้าที่ และสำหรับห้องปฏิบัติการที่มีภาระงานมาก จะไม่สามารถตรวจสอบขวดได้บ่อย จึงมีผลทำให้การรายงานผลล่าช้าได้ ในปัจจุบัน มีระบบอัตโนมัติที่สามารถตรวจการเจริญของเชื้อตลอดเวลาอย่างต่อเนื่องโดยอาศัยเครื่องเพาะเชื้อ ที่เรียกว่า continuously monitored automated blood culture system (CMBCS) ทำให้การเพาะเชื้อมีประสิทธิภาพสูงขึ้นมาก

ข้อแตกต่างที่สำคัญเกี่ยวกับกระบวนการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากเลือดด้วยระบบอัตโนมัติ (CMBCS) เปรียบเทียบกับ conventional method ดังแสดงในตารางที่ 1

การเพาะเชื้อด้วยระบบอัตโนมัติ แต่เดิมอาศัยการตรวจหาสารกัมมันตรังสี ^{14}C ซึ่งใส่ไว้ในอาหารเหลว และถูกแบคทีเรียนำไปใช้แล้วปล่อยออกมาในรูปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เครื่องตรวจสอบปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีสารกัมมันตรังสีที่เพิ่มมากขึ้น (บ่งชี้ถึงมีเชื้อเจริญมากขึ้น) โดยการใช้เข็มเจาะเข้าไปในขวดและนำตัวอย่างก๊าซมาวิเคราะห์ แต่การใช้สารกัมมันตรังสีมีความเสี่ยงด้านความปลอดภัย อีกทั้งการใช้เข็มเจาะเข้าไปในขวดยังเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อภายนอกเข้าสู่ขวด จึงมีการพัฒนาระบบมาอย่างต่อเนื่องเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว ในปัจจุบัน ระบบเพาะเชื้ออัตโนมัติ อาศัยการตรวจสอบระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น หรือระดับก๊าซออกซิเจนที่ลดลง ซึ่งเป็นเครื่องแสดงถึงการเจริญของเชื้อภายในขวด ผ่านทางระบบตรวจสอบ หรือ sensor เช่น ระบบ BacT/ALERT[®] มีแผ่น membrane ที่กั้นขวดซึ่งจะเปลี่ยนสีเมื่อระดับ pH ลดลงอันเนื่องมาจากมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้น การเปลี่ยนสีดังกล่าว ทำให้มีการสะท้อนของแสงที่เครื่องยิงมาที่กั้นขวดเปลี่ยนแปลงไป เครื่องจึงตรวจพบได้ หรือระบบ Bactec[®] ซึ่งอาศัยการตรวจปริมาณสารเรืองแสง (fluorescence) ที่จะเพิ่มมากขึ้นภายในขวดเมื่อปริมาณออกซิเจนในขวดลดลง เป็นต้น

การตรวจสอบการเจริญของเชื้อในขวดเพาะเชื้อระบบอัตโนมัติ อาศัยหลัก 3 ประการสำคัญที่จะทำให้เครื่องส่งสัญญาณแจ้งว่าตรวจพบการเจริญของเชื้อ คือ

1. เชื้อมีการเจริญมากเกินระดับที่เครื่องตั้งไว้ (growth threshold) โดยเครื่องจะแจ้งเตือนเมื่อ sensor มีการส่งสัญญาณถึงในระดับที่เครื่องตั้งค่าไว้
2. เชื้อมีอัตราการเจริญเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว (growth slope) หากมีการเพิ่มขึ้นของสัญญาณจาก sensor อย่างรวดเร็ว (เชื้อมีอัตราเจริญเร็วมาก) ถึงแม้ว่าจะยังไม่ถึงระดับที่เครื่องตั้งค่าไว้ (threshold) เครื่องก็จะทำการแจ้งเตือน

3. เชื้อมีอัตราการเจริญอย่างต่อเนื่อง (continuous growth) เชื้อบางชนิดอาจมีอัตราการเจริญที่ไม่เร็วมาก แต่เครื่องบางระบบสามารถตรวจสอบการเจริญของเชื้อที่มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องได้

จะเห็นได้ว่า การตรวจสอบการเจริญของเชื้อภายในขวดด้วยเครื่องอัตโนมัติ นั้น อาศัยหลักการเจริญเพิ่มขึ้นของเชื้อเป็นสำคัญ ดังนั้น ในกรณีที่มีการเก็บขวดที่ใส่เลือดแล้วไว้นานเกินไป ทำให้เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นก่อนที่จะถูกนำเข้าเครื่อง โดยเฉพาะการเก็บขวดไว้ในตู้อบ (35 องศาเซลเซียส) จะยิ่งทำให้เชื้อเจริญมากขึ้น มีผลทำให้การเจริญของเชื้อเข้าสู่ระยะนิ่ง (stationary phase) ของ growth curve เนื่องจากมีเชื้อปริมาณมากและอาหารเริ่มลดลง เชื้อจึงหยุดแบ่งตัวและบางส่วนเริ่มตายไป หากนำขวดที่เชื้อมีการเจริญอย่างมากจนเข้าสู่ระยะนิ่งแล้ว เข้าสู่เครื่องเพาะเชื้ออัตโนมัติ จะทำให้เครื่องไม่สามารถตรวจพบการเจริญของเชื้อได้ และจะให้ผลลบปลอมเกิดขึ้น ดังนั้น เมื่อใส่ตัวอย่างเลือดแล้ว ควรรีบนำขวดเพาะเชื้อส่งห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่ควรนำขวดไปใส่ตู้อบก่อนนำไปเข้าเครื่องเพาะเชื้อ หากยังไม่สามารถส่งขวดได้ทันที ควรเก็บขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

โดยทั่วไป เชื้อสามารถเจริญและตรวจพบได้โดยเครื่องภายใน 1-2 วัน ในบางกรณีหากเชื้อเจริญช้า หรือมีเชื้อปริมาณน้อย อาจใช้เวลานานขึ้น แต่การเพาะเชื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติ ไม่มีความจำเป็นต้องอบขวดไว้นานเกิน 5 วัน และไม่จำเป็นต้องทำ subculture จากขวดเมื่อสิ้นสุดการอบขวดเพาะเชื้อ (terminal subculture) สำหรับเชื้อในกลุ่มเจริญช้า หรือ fastidious bacteria เช่น เชื้อกลุ่ม HACEK และ *Brucella* spp. แต่เดิมเคยมีการแนะนำให้ยี้ระยะเวลาอบขวดเป็น 2-4 สัปดาห์ แต่จากการศึกษาเพิ่มเติม พบว่าเชืวดังกล่าวสามารถเจริญในขวดเพาะเชื้ออัตโนมัติได้ภายใน 5 วัน จึงไม่มีความจำเป็นอีกต่อไปที่จะยี้ระยะเวลาการเพาะเชื้อสำหรับแบคทีเรียทุกกลุ่ม

ในกรณีของการเพาะเชื้อมัคโคแบคทีเรียและรา ควรเลือกชนิดอาหารเพาะเชื้อที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากคำแนะนำของผู้ผลิตระบบเพาะเชื้ออัตโนมัตินั้นๆ โดยการเพาะเชื้อมัคโคแบคทีเรีย ควรอบขวดไว้อย่างน้อย 42 วัน และการเพาะเชื้อรา ควรอบขวดไว้อย่างน้อย 14 วัน ก่อนที่จะตอบผลว่าไม่มีเชื้อเจริญ

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากเลือดแบบ conventional method และ automated method (CMBCS)

หัวข้อ	Conventional method	Automated method (CMBCS)
จำนวนตัวอย่าง	2-3 ขวด/วัน โดยเจาะเวลาใกล้เคียงกัน	2-3 ขวด/วัน โดยเจาะเวลาใกล้เคียงกัน
ปริมาณเลือดต่อขวด	8-10 มล. โดยมีอัตราส่วนระหว่างเลือดและอาหารเพาะเชื้อประมาณ 1:5	5-8 มล. โดยผู้ผลิตได้ปรับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสมแล้ว จึงอาจไม่ต้องคำนึงถึงปริมาณหรืออัตราส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ
ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth)	ส่วนใหญ่เป็น brain heart infusion (BHI) หรือ tryptic soy broth (TSB)	ผู้ผลิตมีการปรับปรุงสูตรอาหารเพาะเชื้อ ให้เหมาะสมกับระบบนั้นๆ
การอบขวดเพาะเชื้อ	ใส่ตู้อบที่ 35 องศาเซลเซียส โดยขวดถูกวางนิ่ง	ใส่เครื่องเพาะเชื้อควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส โดยมีการเขย่าขวดอย่างต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อ
ระยะเวลาการอบขวดเพาะเชื้อ	7 วัน อาจขยายเวลาสำหรับเชื้อเจริญช้า หรือผู้ป่วยกลุ่มลึ้นหัวใจอักเสบ	5 วัน โดยไม่จำเป็นต้องขยายเวลาสำหรับเชื้อเจริญช้า หรือผู้ป่วยกลุ่มลึ้นหัวใจอักเสบ
การอ่านผล	ตรวจสอบความขุ่นของขวดเพาะเชื้อ (turbidity reading) โดยเจ้าหน้าที่ ซึ่งความถี่ในการอ่านผลขึ้นกับนโยบายของห้องปฏิบัติการ	เครื่องอ่านผลโดยตรวจสอบสัญญาณจาก sensor ทุก 10-12 นาที ตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อพบการเจริญของเชื้อแล้ว จะมีระบบแจ้ง (alarm) ผ่านทางจอ monitor
การทำ blind subculture	ควรทำ subculture โดยดูอาหารเลี้ยงเชื้อในขวดมาเพาะบนอาหารวุ้นเมื่อครบ 6 ชั่วโมง และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเชื้อ	ไม่จำเป็นต้องทำ subculture ใดๆ
ข้อดี	-ต้นทุนต่ำ	-มีความไวและประสิทธิภาพสูง -เชื้อเจริญได้ดีกว่าจากระบบเขย่าขวด -ลดโอกาสการปนเปื้อนจาก subculture -ระยะเวลาในการอบขวดสั้น

หัวข้อ	Conventional method	Automated method (CMBCS)
ข้อจำกัด	-มีความไวและประสิทธิภาพไม่ได้ ต้องอาศัย ความชำนาญของเจ้าหน้าที่สูง -เชื้อเจริญได้ไม่ดีจากการที่ขวดถูกวางนิ่ง -มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนระหว่างการทำให้ blind subculture -อาจต้องอบขวดเป็นเวลานาน	-ต้นทุนสูง อุปกรณ์ราคาแพง

ขวดของระบบเพาะเชื้ออัตโนมัติจากผู้ผลิตบางราย มีการเพิ่มเติมสารที่ช่วยดูดซึมสารพิษ รวมถึงยาต้านจุลชีพ เช่นการเติมสารประกอบ charcoal จึงอาจช่วยให้เชื้อสามารถเจริญได้ดีขึ้น โดยเฉพาะในรายที่ได้รับยาต้านจุลชีพก่อนการเจาะเลือด อย่างไรก็ตาม ขวดชนิดดังกล่าวมักมีราคาแพง และอาจทำให้การอ่านสไลด์ที่นำตัวอย่างจากขวดที่ให้ผลบวกมาป้ายย้อมสีแกรมทำได้ยากขึ้น เนื่องจากสารดังกล่าวอาจรบกวนการมองเห็นเชื้อจุลชีพบนสไลด์ได้

การเพาะเชื้อด้วยระบบอัตโนมัติในปัจจุบันถือว่ามีประสิทธิภาพสูง แต่ยังคงเกิดผลลบปลอม และผลบวกปลอมได้บ้าง ผลลบปลอมอาจเกิดได้จากปริมาณเลือดน้อยเกินไป หรือเก็บขวดเพาะเชื้อไว้นานเกินไปก่อนที่จะนำเข้าเครื่องเพาะเชื้อตามที่ได้กล่าวแล้ว นอกจากนี้ ผลลบปลอมยังอาจเกิดได้จากมีปัจจัยที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ เช่นสารกันเลือดแข็ง sodium polyanetholsulfonate (SPS) ซึ่งอาจยับยั้งเชื้อบางชนิดเช่น *Neisseria* spp. ได้ ส่วนผลบวกปลอมอาจเกิดได้จากมีเชื้อปนเปื้อน หรือพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวในเลือดสูง เช่นผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อยู่ในขวดเพาะเชื้อมีการใช้ก๊าซออกซิเจน และสามารถสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้เช่นกัน ทำให้คล้ายกับการเจริญของแบคทีเรียที่อยู่ในขวดเพาะเชื้อได้

การรายงานผล

เมื่อระบบเพาะเชื้ออัตโนมัติแจ้งเตือนการตรวจพบเชื้อในขวดผ่านทางจอ monitor ของเครื่อง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการควรทำการดูตัวอย่างภายในขวดออกมาป้ายสไลด์เพื่อย้อมสีแกรม และทำการ subculture ลงบนอาหารวุ้น (ขึ้นกับชนิดเชื้อที่สงสัย โดยทั่วไปแนะนำให้เพาะลงบน

sheep blood agar, chocolate agar และเพิ่ม Mac Conkey agar ด้วยหากสงสัยเชื้อแกรมลบ) เมื่ออ่านสไลด์และตรวจพบเชื้อแล้ว เช่นเป็นเชื้อแกรมบวกหรือแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างการเรียงตัวอย่างไร ห้องปฏิบัติการควรโทรแจ้งผลเบื้องต้นแก่แพทย์ผู้รักษาในทันที เนื่องจากเลือดจัดว่าเป็นตัวอย่างตรวจที่มีความสำคัญสูง และควรแจ้งภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากเครื่องตรวจพบเชื้อในขวด จากนั้นจึงทำการวินิจฉัยแยกชนิดเชื้อไปตามกระบวนการมาตรฐานต่อไป ทั้งนี้ ไม่มีความจำเป็นที่ห้องปฏิบัติการต้องรายงานผลที่ยังไม่พบเชื้อ (negative หรือ no growth) ก่อนที่จะครบเวลาอบเชื้อ คือ 5 วัน เนื่องจากเมื่อพบเชื้อแล้ว จะมีการแจ้งในทันที ดังนั้น หากยังไม่มีผลการแจ้งควรเป็นข้อตกลงให้แพทย์รับทราบว่ายังตรวจไม่พบเชื้อโดยไม่มี ความจำเป็นที่แพทย์ต้องตามผลหรือห้องปฏิบัติการต้องรายงานผลก่อนครบเวลาอบเชื้อ เพื่อลดการทำงานโดยไม่จำเป็น

สรุป

ปัจจุบัน เทคโนโลยีในการเพาะเชื้อจากเลือดมีความก้าวหน้าอย่างมาก ทำให้กระบวนการเพาะเชื้อมีประสิทธิภาพสูง ในการใช้ระบบเพาะเชื้ออัตโนมัติ ห้องปฏิบัติการควรเลือกระบบที่เหมาะสมกับสถานพยาบาล และปฏิบัติตามแนวทางการเพาะเชื้อจากเลือดโดยเคร่งครัด เพื่อให้ได้ผลการเพาะเชื้อที่มีความน่าเชื่อถือ เนื่องจากการติดเชื้อในกระแสเลือดถือได้ว่าเป็นภาวะเร่งด่วนทางการแพทย์ที่จำเป็นต้องให้การวินิจฉัยและทำการรักษาที่เหมาะสมอย่างทันท่วงที ดังนั้น บุคลากรที่เกี่ยวข้อง ตั้งแต่แพทย์ พยาบาลหรือผู้เจาะเลือด และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ควรมีความรู้ความเข้าใจเป็นอย่างดีในกระบวนการเพาะเชื้อจากเลือด

เอกสารอ้างอิง

1. CLSI. Principles and Procedures for Blood Cultures: Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institutes; 2007.
2. Cockerill FR III, Wilson JW, Vetter EA, *et al.* Optimal testing parameters for blood culture. Clin Infect Dis. 2004; 38:1724-30.
3. Li J, Plord J, Carlson L. Effects of volume and periodicity on blood culture. J Clin Microbiol 1994; 32:2829-31.
4. Miller JM, Holmes HT, Krisher K. General principles of specimen collection and handling. In: PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, *et al.*, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington D.C.: ASM Press; 2003. p. 55-66.
5. Town ML, Reller LB. Diagnostic methods: current best practices and guidelines for isolation of bacteria and fungi in infective endocarditis. Infect Dis Clin N Am. 2002; 16:363-76.
6. Wilson ML, Mirrett S, Reller LB, *et al.* Recovery of clinically important microorganisms from the BacT/Alert blood culture system does not require testing for 7 days. Diagn Microbiol Infect Dis. 1993; 16:31-34.

ยาฆ่าเชื้อสำหรับผิวหนัง

ภ.ญ. บดีสุดา ชัยวงศา
ฝ่ายเภสัชกรรม โรงพยาบาลศิริราช

คำนิยาม

Antiseptics หรือน้ำยาฆ่าเชื้อ: หมายถึง สารเคมีที่ใช้ทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ ใช้กับภายนอกของร่างกายสิ่งมีชีวิตโดยไม่ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อเหล่านั้น

Disinfectant หรือน้ำยาทำลายเชื้อ: หมายถึงสารเคมีที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และใช้กับสิ่งไม่มีชีวิตเช่น เครื่องมือและสถานที่เป็นต้น สารเคมีเหล่านี้จะทำให้เกิดอันตรายต่อ ผิวหนังและเยื่อเมือกของร่างกายโดยตรง

Germicide หรือ micromicide: ความหมายใกล้เคียงกับ disinfectant ถ้าเจาะจงเฉพาะ เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ จะระบุเป็น bactericide, fungicide , virucide, sporicide

Disinfection: กระบวนการทำลายหรือลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลง จนถึงระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อ สุขภาพ แต่ไม่ทำลาย สبور ของเชื้อจุลินทรีย์ (จากอุปกรณ์ เครื่องมือ)

Sterilization: การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด รวมทั้งสปอร์เชื้อ ทำโดยวิธี การทางกายภาพหรือ ใช้สารเคมี

Chemical sterilant: สารทำลายเชื้อ สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดรวมทั้งสปอร์ของเชื้อ แบคทีเรียและเชื้อรา ส่วนใหญ่ใช้กับอุปกรณ์ที่ไม่ทนความร้อน

การทำลายเชื้อด้วยสารเคมี เชื้อแต่ละชนิดมีความไวต่อการถูกทำลายด้วยสารเคมีต่างกัน การเลือกใช้สารเคมีให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดขึ้นกับ ปัจจัยดังนี้

1. จำนวนและชนิดของเชื้อ microorganisms
2. ลักษณะการปนเปื้อน เช่นการปนเปื้อนคราบเลือดหรือโปรตีน
3. สารอื่นที่ปนมา เช่น organic matter หรือ soap
4. คุณสมบัติเฉพาะตัวของน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิด

5. ความเข้มข้นของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เลือกใช้หรือปริมาณที่ใช้
6. ระยะเวลาที่สัมผัสหรือแช่น้ำยาฆ่าเชื้อ
7. อุณหภูมิหรือ pH ที่เหมาะสม

ปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเลือกใช้

- สารตกค้างบนผิววัสดุเช่น โยผ้า หรือสแตนเลส
- ความเป็นพิษต่อผู้ใช้ ทั้งผิวหนัง และ เยื่อบุ
- ความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม
- ราคา

วัตถุประสงค์ของการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ

1. เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อโดยยับยั้งไม่ให้เกิดการถ่ายผ่านของเชื้อมาจากมือของแพทย์พยาบาล เข้าสู่บริเวณที่รับเชื้อได้ง่ายของผู้ป่วย
2. เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อก่อโรคที่อยู่บนผิวหนังของผู้ป่วยเองเข้าสู่เนื้อเยื่อภายในผ่านทางบาดแผลหรือเข็มที่แทงผ่าน

น้ำยาฆ่าเชื้อแบ่งเป็นประเภทต่างๆได้ 2 วิธี ดังนี้

1. แบ่งตามความสามารถในการทำลายเชื้อ
2. แบ่งตามโครงสร้างทางเคมีของน้ำยาฆ่าเชื้อ

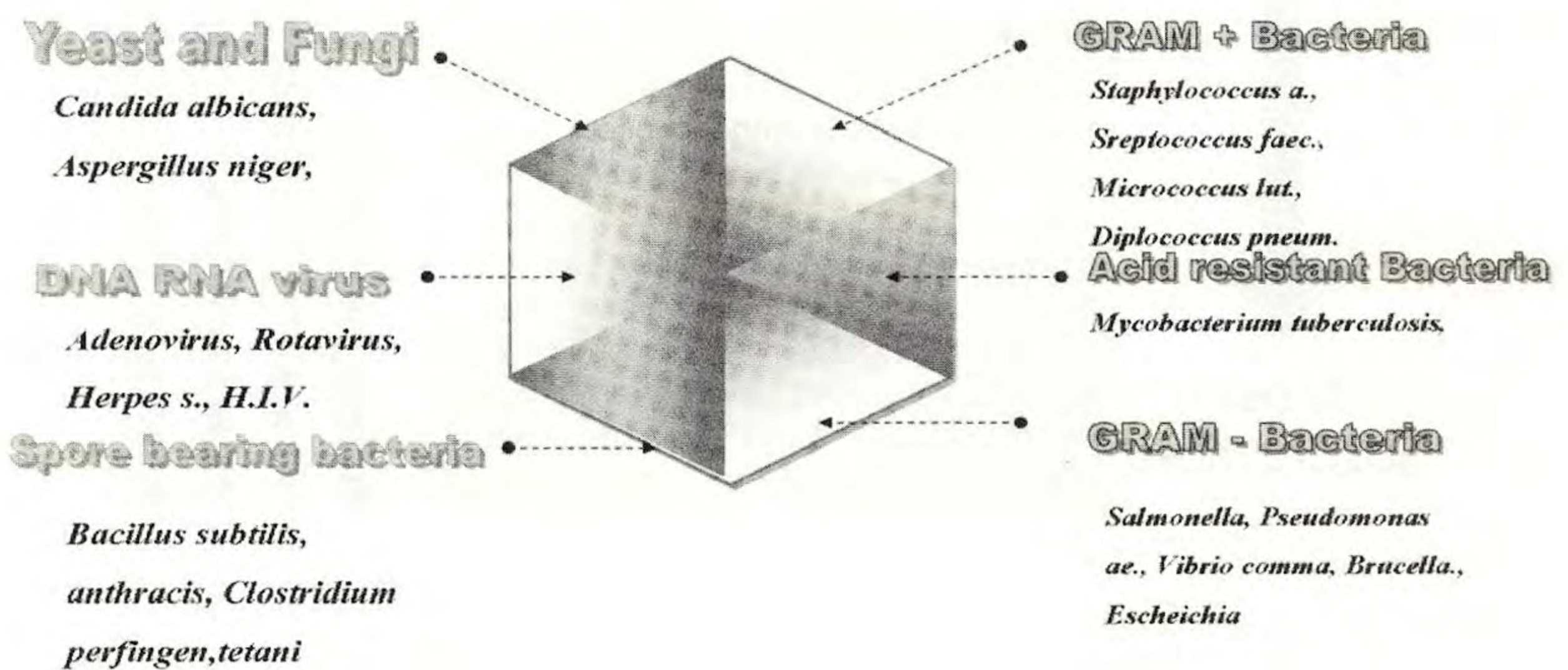
1. แบ่งตามความสามารถในการทำลายเชื้อได้ 3 ระดับ ดังนี้

1.1 น้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง (high-level disinfectant) หมายถึงสารเคมีที่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียและจุลินทรีย์อื่นๆทุกชนิด จึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นสารที่ทำให้ปลอดเชื้อ (sterilant) ในวัสดุหรือเครื่องมือที่ต้องการปลอดเชื้ออย่างยิ่ง (critical items)
ตัวอย่างสารเคมีกลุ่มนี้ ได้แก่ กลูตาราลดีไฮด์ 2.0 - 3.2% ก๊าซเอทิลีนออกไซด์ เป็นต้น

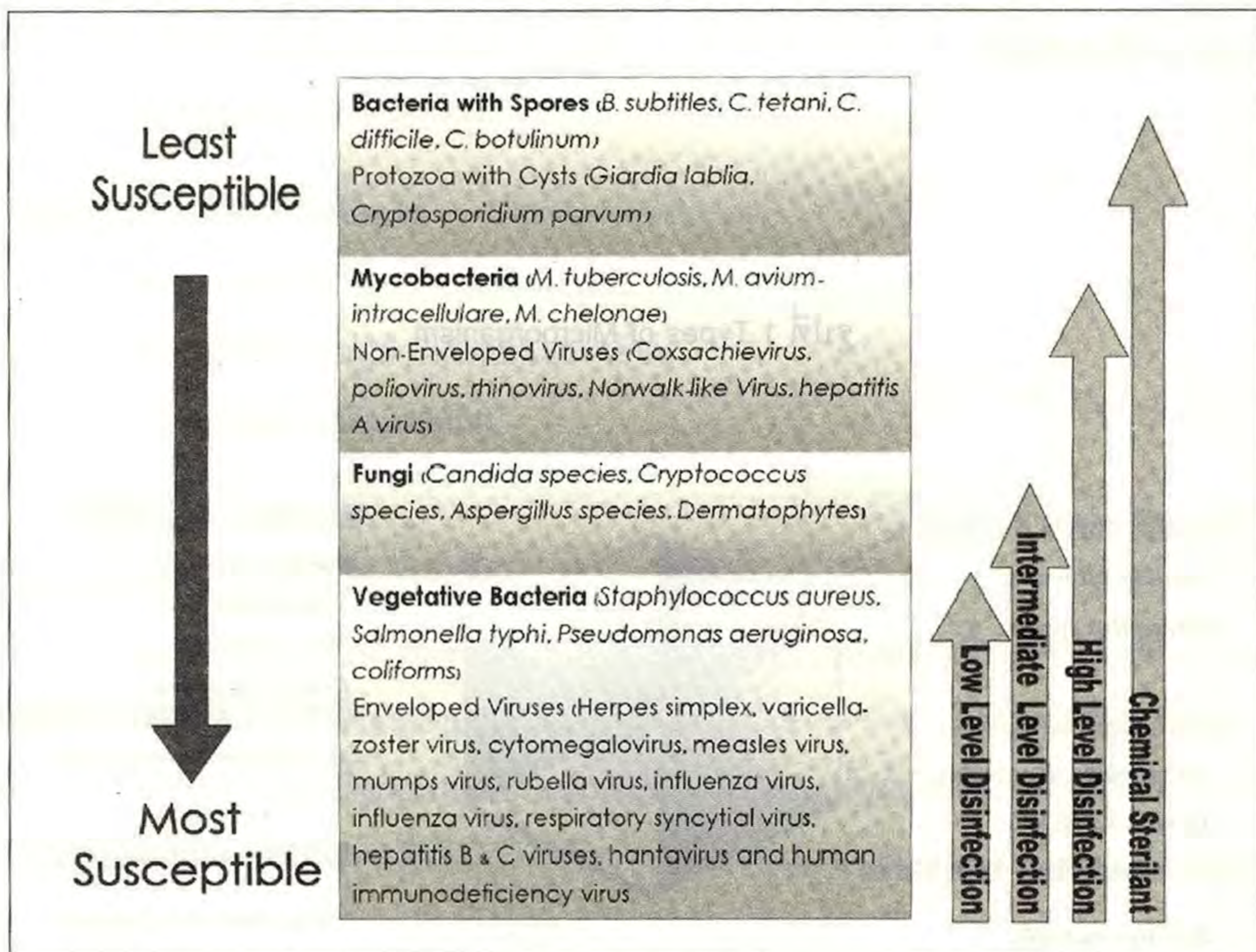
1.2 น้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพปานกลาง (intermediate-level disinfectants) คือ สารเคมีที่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย แต่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญ เช่น เชื้อวัณโรค และไวรัสได้ โดยฤทธิ์ในการทำลายเชื้อไวรัสเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของน้ำยา ใช้สารเคมีเหล่านี้ในกลุ่มเครื่องมือที่ต้องการปลอดเชื้อปานกลาง (semi-critical items)

ตัวอย่างสารเคมี กลุ่มนี้ ได้แก่ แอลกอฮอล์ ฟORMALดีไฮด์ ไอโอดีน สารประกอบคลอรีน (โซเดียมไฮโปคลอไรท์)

รูปที่ 1 Types of Microorganism



รูปที่ 2 Classes of Organisms Ranked in order of Susceptibility to Disinfectants



1.3 น้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำ (low-level disinfectants) คือสารเคมีที่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียและไม่สามารถทำลายเชื้อวัณโรคและเชื้อไวรัสได้ สารเคมีเหล่านี้เมื่อความเข้มข้นสูงเพิ่มสูงขึ้นอาจเปลี่ยนจาก low-level disinfectants เป็น intermediate-level disinfectants ได้เช่น povidone-iodine จาก 75 ppm. ถึง 450 ppm. สารเคมีบางชนิดแม้ความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นเพียงใดก็เป็น low-level disinfectants เช่น benzalkonium chloride สารเคมีกลุ่มนี้เหมาะสำหรับวัสดุหรือเครื่องมือที่ไม่จำเป็นต้องปลอดเชื้อมากนัก(non-critical item)

2. แบ่งตามโครงสร้างทางเคมีของน้ำยาฆ่าเชื้อ

2.1 Phenolic Disinfectants

- ตัวอย่างในกลุ่มนี้ ได้แก่ Cresol, Lysol
- สารประกอบ Phenol มักใช้ใน mouthwashes, scrub soaps หรือ surface disinfectants หรือสารเคมีที่มีใช้ในครัวเรือน

- ฤทธิ์ทำลายเชื้อของ Phenolic สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ดีโดยเฉพาะ gram positive bacteria และ enveloped viruses.
- ใช้ไม่ได้ผลกับ nonenveloped viruses และ spores.
- การใช้ทั่วไปในโรงพยาบาล เพื่อลดเชื้อhospital environment รวมทั้ง laboratory surfaces และใช้ใน noncritical medical items
- ข้อควรระวัง ไม่ควรสัมผัสผิวหนังโดยตรงเนื่องจากก่อให้เกิดการระคายเคืองได้
- พิษต่อทารก

2.2 Chloroxylonol

- ตัวอย่าง Dettol
- เป็นสารเคมีกลุ่ม halogen-substituted phenolic compound
- ใช้เป็น preservative ในผลิตภัณฑ์ cosmetics และเป็นตัวยาสำคัญ ใน antimicrobial soaps.
- ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อได้ดีใน แบคทีเรียแกรมบวก และฤทธิ์ปานกลางในแบคทีเรียแกรมลบ mycobacteria และ viruses

2.3 Quaternary Ammonium Compounds

- เป็นได้แค่ antiseptics ที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง
- Quaternary ammonium (QA) disinfectants ประกอบด้วยกลุ่ม NH_4^+ กับ ammonium chloride (AC) เช่น alkyl aryl, benzyl, didecyl, dimethyl, ethylbenzyl, octyl หรือ ประกอบด้วยกันมากกว่า 1 ชนิด
- ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อทั้ง แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และ enveloped viruses.
- ส่วนใหญ่ใช้ในการลดจำนวนเชื้อในพื้นที่ noncritical surfaces เช่น ผงซักฟอก พื้น หรือ เฟอร์นิเจอร์ เป็นต้น

2.4 Alcohols

- ตัวอย่าง Ethyl alcohol and isopropyl alcohol.
- แอลกอฮอล์ มีผลเป็น bactericidal ดีกว่า bacteriostatic ออกฤทธิ์ต่อทั้ง แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้งมีฤทธิ์เป็น tuberculocidal, fungicidal, และ virucidal และทำลาย enveloped viruses ได้

- แอลกอฮอล์ ไม่มีผลกับ bacterial spores .
- ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการฆ่าเชื้อได้ดี ในช่วง 60-90% solutions in water (volume/volume).
- แอลกอฮอล์เป็น topical antiseptics ที่ถูกเลือกใช้บ่อย
- ใช้เป็น disinfectant สำหรับวัสดุอุปกรณ์การแพทย์
- การใช้ แอลกอฮอล์ ต้องคำนึงถึงเวลาที่สัมผัสพื้นผิวที่ต้องการฆ่าเชื้อ
- ข้อเสีย ทำลายพื้นผิวที่มีการเคลือบด้วย shellac หรืออุปกรณ์ที่มีชิ้นส่วนเลนส์ประกอบ ทำให้ส่วนที่เป็นยางหรือพลาสติกเสียสภาพบวม หรือแข็ง
- แอลกอฮอล์ มีคุณสมบัติติดไฟ (flammable) จึงต้องเก็บในที่เย็น และอากาศถ่ายเทได้สะดวก
- เกิดการแพ้ได้
- แอลกอฮอล์ มีราคาแพงเกินกว่าที่จะนำมาใช้เป็น disinfectant สำหรับพื้นทั่วไป
- สามารถเตรียมเป็น alcohol based hand rub ได้โดยยังมีฤทธิ์การฆ่าเชื้อเท่ากับ solution

2.5 Hypochlorites

- Hypochlorites เป็นสารประกอบในกลุ่มสารประกอบคลอรีนที่นิยมนำมาใช้ มีทั้งอยู่ในรูปของเหลว เช่น sodium hypochlorite และในรูปของแข็งเช่น calcium hypochlorite และ sodium dichloroisocyanurate เป็นต้น
- สารประกอบคลอรีนที่นิยมนำมาใช้ มักอยู่ในรูปของเหลว 4 ถึง 6% ของ sodium hypochlorite ซึ่งมีขายในรูปแบบของ “household bleach”.
- Hypochlorites มักใช้เป็น disinfectant สำหรับฆ่าเชื้อพื้นผิวทั่วไป
- ข้อเสีย ระคายเคืองทางเดินหายใจ

2.6 Iodine and Iodophor

- Iodine ใช้เป็นส่วนประกอบใน surgical scrubs ซึ่งจะปลดปล่อยให้ iodine ออกมาได้
- Simple iodine tinctures (สารละลายใน แอลกอฮอล์) มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อที่ค่อนข้างจำกัด สามารถเป็นได้ทั้ง bactericidal, sporicidal, virucidal และ fungicidal แต่ต้องการเวลาที่สัมผัส (contact time) ที่ยาวพอสมควร
- Iodine tinctures มีผลระคายเคืองเนื้อเยื่อ และเปื้อนเสื้อผ้าง่าย ทำให้เนื้อผ้าเสียได้
- surgical scrubs มีผลระคายเคืองน้อยกว่า
- Povidone-Iodine

2.7 Chlorhexidine

- ตัวอย่าง 0.5% Chlorhexidine , 4% Chlorhexidine
- Chlorhexidine ได้รับความนิยมมาก ในการนำมาใช้ใน antiseptic products ไม่ว่าจะเป็นในรูปแบบของ handwashing หรือ oral products รวมทั้งยังใช้ได้ทั้ง disinfectant และ preservative.
- เนื่องจากคุณสมบัติ broad-spectrum efficacy
- ใช้กับผิวหนังได้ดี low irritation

2.8 Hydrogen Peroxide

- สารประกอบ Peroxides เช่น hydrogen peroxide ใช้เป็น antiseptics สำหรับใช้ทำความสะอาดแผล
- โดยคุณสมบัติของ peroxide ที่ออกฤทธิ์ต้าน anaerobic bacteria ได้ดี
- Hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้นสูงๆจะทำอันตรายเนื้อเยื่อได้ หรือหากมีการใช้เป็นเวลานานๆ

2.9 Formaldehyde

- เป็นน้ำยาที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อสูง high-level disinfectant
- Formalin คือสารละลายของ Formadehyde ใน water-based solution (37% formaldehyde by weight) มีฤทธิ์เป็นทั้ง bactericidal, tuberculocidal, fungicidal, virucidal และ sporicidal.
- เป็นสารก่อมะเร็ง

2.10 Gluteraldehyde

- ตัวอย่าง Cidex®, Posedex®
- เป็นสารในกลุ่ม Aldehydes มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อที่กว้าง เป็นได้ทั้ง bactericidal, virucidal, fungicidal, sporicidal และ parasiticidal.
- Gluteraldehydes เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อสูง ในขณะเดียวกันก็มีพิษสูงเช่นกัน

สิ่งที่ควรพิจารณาในการเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อใช้งานเอง หรือการเจือจางน้ำยาฆ่าเชื้อ

1. วัตถุประสงค์ของการใช้งาน น้ำยาฆ่าเชื้อ

- ไม่ใช่เพื่อทำให้เกิดความปราศจากเชื้อ (Sterility) หรือ เมื่ออุปกรณ์ที่จะฆ่าเชื่อนั้นเป็นอุปกรณ์ที่ต้องปราศจากเชื้อ
- ไม่ใช่เก็บหรือแช่อุปกรณ์ที่ทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว
- ไม่ใช่เพียงเป็นน้ำยาล้างของหรือดับกลิ่น
- ไม่ใช่เพียงเพื่อสร้างความรู้สึกปลอดภัยไว้ก่อน
-

2. ภาชนะบรรจุ

- ภาชนะบรรจุน้ำยาฆ่าเชื้อควรล้างให้สะอาด และอบด้วยไอน้ำร้อน (autoclave) แต่ในกรณีที่ทำได้อาจใช้วิธีต้มแล้วทำให้แห้ง จุกปิดภาชนะสนิท เปิดง่าย ไม่ควรใช้ผ้าก๊อซ ล่ำลี หรือไม้
- ไม่ควรใช้ถังบรรจุขนาดใหญ่ เพราะอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนง่าย

3. การเตรียมน้ำยา

- บริเวณที่เตรียมน้ำยาหรือเจือจางน้ำยาฆ่าเชื้อควรสะอาด และจัดไว้เป็นสัดส่วน
- การเจือจางน้ำยาฆ่าเชื้อควรทำอย่างปลอดเชื้อ (Aseptic technique)
- ปิดฉลากแสดงวันที่ผลิตและวันหมดอายุให้ชัดเจน
- น้ำที่ใช้ในการเจือจางควรเป็นน้ำกลั่น น้ำกรอง หรือน้ำต้มเดือดแล้ว ไม่ควรใช้น้ำประปา
- การตวงหรือชั่งทำด้วยความแม่นยำใช้เครื่องมือที่ได้มาตรฐาน
- คำนึงถึงลำดับการผสม เพราะอาจทำให้เกิดการตกตะกอนของน้ำยาได้
-

4. การตรวจสอบและควบคุมคุณภาพ

- จะต้องมีการจัดทำบันทึก การผสม และการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ
- ควรทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อขณะกำลังใช้งาน (In-use test) เป็นประจำ

เอกสารอ้างอิง

1. สมหวัง ด้านชัยวิจิตร, วราภรณ์ พุ่มสุวรรณ. การล้างการทำลายเชื้อและการทำให้ปราศจากเชื้อ. ใน : สมหวัง ด้านชัยวิจิตร, บรรณาธิการ. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: บริษัท แอล ที เพรส จำกัด; 2544. หน้า. 69-96.
2. Rutala WA, Weber DL. Selection and Use of Disinfectants in Healthcare. In: Mayhall CG, editor. Hospital Epidemiology and Infection Control. 3rd ed. Philadelphia, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo: Lippincott William and Wilkins; 2004. p. 1473–1522.
3. Rhame FS. The Inanimate Environment. In: Bennett IV, Brachmon PS, editors. The Inanimate Environment. 4th ed. Philadelphia, New York: Lippincott Raven Publishers; 1998. p. 299-24.
4. Rutala WA, Weber DJ. Modern Advances in Disinfection, Sterilization and Nosocomial Infection. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo: Lippincott William and Wilkins; 2003. p. 542-574.

ข้อแนะนำในการผลิตน้ำยา 2% Chlorhexidine Gluconate

ภ.ญ อินทิรา วงศ์อัญมณีกุล

กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลเลิดสิน

ข้อมูลทั่วไป Chlorhexidine gluconate (CHG) เป็นสารเคมีในกลุ่มของ Bisbiguanide ที่มีคุณสมบัติเป็น antiseptic และ disinfectant ซึ่งมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะ เชื้อแกรมบวก เป็นส่วนใหญ่ เชื้อราบางตัว ไวรัสบางตัว ไม่ครอบคลุมเชื้อแกรมลบ ซึ่งมักจะพบเชื้อแกรมลบ เช่น *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* ในน้ำยา เจือจาง เช่น 1:100 Chlorhexidine หรือแม้แต่ยาแบบ เข้มข้นคือ 4% Chlorhexidine scrub ที่มีการปนเปื้อนเชื้อแกรมลบ เมื่อเทออกมาใช้ และเมื่อใช้ไม่หมด มีการเทกลับไปในเกลลอนเดิม ตามที่เคยมีรายงานในต่างประเทศและจากการสุ่มตรวจน้ำยาในอดีตที่เปิดใช้แล้ว ในโรงพยาบาลเลิดสินและพบว่าการปนเปื้อน ของเชื้อแกรมลบดังกล่าว ดังนั้นควรควบคุมทุกขั้นตอนการผลิตตั้งแต่

1. สารเคมีเช่น ดัวยา ควรผลิตจากบริษัทที่มีคุณภาพเชื่อถือได้ ในบ้านเรามี 2 รูปแบบคือ ผงยา CHG , สารละลายความเข้มข้น 4% CHG (เกลือในรูปแบบที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนมากจะเป็นเกลือในรูปแบบกลูโคเนต คือ Chlorhexidine gluconate (CHG) ซึ่งละลายน้ำ, แอลกอฮอล์ หรือสารเคมีบางตัวได้ อาจจะมีเกลือรูปแบบอื่นๆ เช่น Chlorhexidine acetate, Chlorhexidine hydrochloride แต่ที่นิยมใช้คือ Chlorhexidine gluconate
2. อุปกรณ์การผสมเช่น แท่งแก้วคน เขี่ยกผสม ต้องแห้งและสะอาด
3. น้ำที่ใช้ผสมควรเป็นน้ำกลั่นบริสุทธิ์ที่ผลิตใหม่ๆ หรือน้ำกลั่นที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อแกรมลบ หรือน้ำ RI (Reverse osmosis) ที่มีการควบคุมอย่างดี ห้ามใช้น้ำประปา, น้ำกรอง, น้ำบาดาล เพราะอาจจะมีการปนเปื้อนของเชื้อและนำไปสู่การติดเชื้อได้

4. ควรผลิตในแผนกเภสัชกรรมหน่วยผลิตยาปราศจากเชื้อ ไม่ควรผลิตในหอผู้ป่วยเพราะอาจจะมี การปนเปื้อนของเชื้อได้
5. หลังบรรจุน้ำยาในขวดควรปิดฝาให้แน่นเหมือนการผลิตน้ำเกลือ
6. นำไปนึ่งทำลายเชื้อด้วย autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 30 นาที (ยกเว้น 2% CHG ใน 70 % แอลกอฮอล์ไม่ต้อง autoclave) สามารถเก็บได้นาน เป็นปีหลังนึ่งทำลายเชื้อ แต่เมื่อเปิดใช้งานมีอายุไม่เกิน 1 สัปดาห์ แต่ที่เหมาะสมในการ เตรียมผิวหนังสำหรับเจาะเลือดเพื่อการเพาะเชื้อ ควรใช้ 2% CHG ใน 70 % Isopropyl alcohol เพราะจะมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีกว่า จาก รายงานการวิจัยในต่างประเทศ
7. ภาชนะบรรจุต้องเป็นขวดแก้วที่ล้างให้สะอาด และอบให้แห้งก่อนนำมาบรรจุน้ำยา 2% CHG ไม่ควรใช้ขวด พลาสติกเพราะจะมีปฏิกิริยากับน้ำยาได้
8. จุกยางปิดขวดควรล้างให้สะอาดทำการอบแห้ง ก่อนนำมาปิดขวด เพราะอาจจะมี การปนเปื้อน เชื้อได้
9. กำหนดอายุน้ำยาที่ผลิตได้ 2% CHG solutions หลังนึ่งทำลายเชื้อเก็บได้นาน 1 ปี หลังเปิดใช้ เก็บไว้ได้เพียง 7 วัน ส่วน 2% CHG in 70% Isopropyl alcohol เก็บได้นาน 1 ปี หลังเปิด ใช้ ห้ามใช้กับเนื้อเยื่ออ่อนๆ เช่นตา โพรงจมูก หู ผิวหนังที่มีแผลแยก ฯลฯ

1 เดือน

ขั้นตอนการผสม 2 % CHG solution 100 มล.

กรณีใช้ 4% CHG solution ที่มีขายในท้องตลาด

1. ตวง 4% CHG solution 50 มล. เติมน้ำกลั่นที่สะอาดจนครบ 100 มล.
2. บรรจุในขวดแก้วปิดจุกยางที่สะอาดและแห้ง นำไปนึ่งทำลายเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 30 นาที

กรณีใช้ CHG ชนิดผง

1. ชั่ง CHG 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น (70% Isopropyl alcohol) 50 มล. และเติมน้ำกลั่น (70% Isopropyl alcohol) ให้ครบ 100 มล.
2. บรรจุในขวดแก้วปิดจุกยางที่สะอาดและแห้ง
 - กรณีละลายด้วยน้ำกลั่นนำไปนึ่งทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการ autoclave
 - กรณีละลายด้วย 70% Isopropyl alcohol ไม่ต้อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 30 นาที

อายุการใช้งาน

- 2% CHG ในน้ำกลั่นหลัง autoclave แล้ว สามารถเก็บได้นาน 1 ปี แต่หากเปิดใช้แล้ว เก็บได้นาน 1 สัปดาห์
- 2% CHG in 70% Isopropyl alcohol หลังเปิดใช้เก็บได้นาน 1 ปี ตราบเท่าที่ไม่มีการระเหยของแอลกอฮอล์

เอกสารอ้างอิง

Martindale the Extra Pharmacopoeia , thirtieth Edition: Disinfectants Introduction and Classification ; 788-790.