



ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทร 044 279112 โทรสาร 044 314889 website: www.dld.go.th/rrl

วิธีจัดเก็บตัวอย่าง การบรรจุตัวอย่างและการจัดส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ อย่างปลอดภัยตามหลัก Biosafety และ Biosecurity

1. วัตถุประสงค์

เพื่อรักษาคุณภาพตัวอย่างเชื้อ เนื้อเยื่อ ซีรัมและหีบห่อบรรจุตัวอย่างให้อยู่ในสภาพสมบูรณ์ขณะขนส่งตั้งแต่ต้นทางจนถึงปลายทางได้อย่างปลอดภัยและถูกต้องตามหลักการของ biosafety และ biosecurity เป็นการป้องกันไม่ให้เกิดโอกาสเสี่ยงต่อการรั่วไหลของเชื้อไปสู่บริเวณใกล้เคียงหรือสิ่งแวดล้อม

2. ขอบข่าย

เป็นวิธีการจัดเตรียมตัวอย่างที่เป็นชนิด infectious substance และ non infectious substance ให้ถูกต้องตามหลักการของ biosafety และ biosecurity ทั้งนี้ครอบคลุมตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างในพื้นที่การบรรจุหีบห่อหรือภาชนะที่ปลอดภัยและจนถึงขั้นตอนการขนส่งจากต้นทางถึงปลายทาง

3. นิยาม

- Infectious substance หมายถึง สารหรือจุลินทรีย์ก่อโรคหรือสิ่งของที่มีเชื้อโรคปะปนอยู่ และยังคงมีคุณสมบัติหรือความรุนแรงซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคได้ และมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเช่น คนและสัตว์
- Non infectious substance หมายถึง สารหรือจุลินทรีย์ก่อโรค หรือสิ่งของที่มีเชื้อโรคปะปนแต่ไม่มีความรุนแรงและหมดคุณสมบัติในการก่อโรคและไม่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเช่น คนและสัตว์

4. วิธีและขั้นตอนการปฏิบัติงาน

การเก็บตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ให้ความจำเพาะความไวและความแม่นยำสูงที่ถูกต้องตามหลักวิชาการ คือการตรวจตัวอย่างที่เก็บจากเนื้อเยื่อจากรอยโรค (lesion) ที่บริเวณเยื่อลิ้นและอุ้งกีบจากสัตว์ป่วยหรือที่สงสัยว่าป่วยรวมถึงการเก็บตัวอย่างซีรัม มีดังนี้



ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทร 044 279112 โทรสาร 044 314889 website: www.dld.go.th/rrl

4.1 วิธีเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ หรือ vesicle

4.1.1 บริเวณที่สามารถเก็บเชื้อได้คือ ตุ่มหรือแผลที่ลึน เยื่อภายในช่องปาก แผลที่กีบ ไรกีบ ซอกกีบ หรืออุ้งกีบ โดยทำความสะอาดบริเวณนั้นด้วยน้ำสะอาดก่อน

4.1.2. ขนาดของเนื้อเยื่อควรเก็บเชื้อไม่น้อยกว่า 1 กรัม ถ้าเห็นว่าเก็บเนื้อเยื่อจากสัตว์ตัวหนึ่งๆได้น้อย ก็ควรเก็บจากตัวอื่นเพิ่มเติมด้วย และแยกขวดเป็นตัวยุไป

4.1.3. เก็บเนื้อเยื่อบรรจุลงในขวดที่มีน้ำยา 50 % กลีเซอรินบัฟเฟอร์ ใส่ให้น้ำยาให้ท่วมเนื้อเยื่อ ปิดจุกให้แน่น ปิดทับด้วยเทปกั้นน้ำยารั่วไหล ทำเครื่องหมายขวดให้ชัดเจน

4.1.4 การนำส่งขวดบรรจุเนื้อเยื่อให้ห่อทับด้วยกระดาษหลายชั้น บรรจุในขวดที่มีฝาเกลียวปิดสนิทเพื่อป้องกันการรั่วไหลหรือกันขวดแตก แล้วบรรจุกล่องหรือภาชนะที่ไม่แตกง่าย พร้อมกับบันทึกประวัติสัตว์ป่วย **ริบนำส่งทันที** หรือในกรณีจำเป็น ต้องเก็บไว้ก่อนควรเก็บในตู้เย็น วิธีนำส่งที่ดีที่สุดคือนำส่งในสภาพแช่เย็น โดยมีปริมาณน้ำแข็งหรือ ICE PACK เพียงพอจนกว่าจะถึงห้องปฏิบัติการ



ลักษณะตัวอย่างที่มีคุณภาพ



ตัวอย่างที่ไม่มีคุณภาพ

หมายเหตุ

1. หากพบตุ่มใสที่ลึน, อุ้งเท้า, ไรกีบ ของโคและสุกร ซึ่งมักพบในสัตว์ที่เพิ่งเป็นโรคใหม่ๆ หากสามารถเก็บน้ำเหลืองจากตุ่มใสที่แผลโดยตรงส่งไปได้ก็จะเป็นการดียิ่ง ควรเก็บก่อนที่ตุ่มใสจะแตกโดยใช้เข็มดูดและเก็บในขวดที่สะอาด แช่ในกระติกน้ำแข็ง แล้วริบนำส่งห้องปฏิบัติการ ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเร็วที่สุด



ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
 สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
 โทร 044 279112 โทรสาร 044 314889 website: www.dld.go.th/rri

2. หากพบตุ่มใสที่ลิ้น, อุ้งเท้า, ไรกีบ ของโคและสุกร ซึ่งมักพบในสัตว์ที่เพิ่งเป็นโรคใหม่ๆ หากสามารถเก็บน้ำเหลืองจากตุ่มใสที่แผลโดยตรงส่งไปได้ก็จะเป็นการดียิ่ง ควรเก็บก่อนที่ตุ่มใสจะแตกโดยใช้เข็มดูดและเก็บในขวดที่สะอาด แช่ในกระติกน้ำแข็ง แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการ ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเร็วที่สุด

3. การเก็บเชื้อควรเก็บจากแผลหรือน้ำเยื่อจากสัตว์ที่เพิ่งเป็นโรคเพราะจะมีปริมาณไวรัสมากเพียงพอสำหรับการตรวจสอบ

4. ห้ามใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น ทิงเจอร์ หรือ gentian ทำความสะอาดเนื้อเยื่อที่จะส่งไปตรวจเพราะจะทำให้ผลการวินิจฉัยผิดพลาดได้

5. ภายหลังการเก็บเชื้อใส่ขวดเรียบร้อยแล้วควรทำความสะอาดภายนอกขวดและอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนมือผู้เก็บตัวอย่าง ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อไวรัส เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อแพร่กระจายหรือระบาดไปสู่ผู้อื่น



ตัวอย่างภาชนะ หรือ primary container และ secondary container สำหรับใส่หลอดที่บรรจุขวดที่ใส่ตัวอย่างเนื้อเยื่อ ก่อนใส่ลงในหีบห่อภายนอก หรือ กล่องมาตรฐานที่ผ่านการยอมรับ



ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
โทร 044 279112 โทรสาร 044 314889 website: www.dld.go.th/rrl

4.2 วิธีเก็บตัวอย่างซีรัม

กรณีการเก็บตัวอย่างซีรัมหรือน้ำเหลือง ไม่สามารถใช้สำหรับตรวจวินิจฉัยโรคเพื่อจำแนกชนิดไวรัส (ELISA typing) ได้ จะใช้เพื่อจุดประสงค์สำหรับตรวจสอบระดับภูมิคุ้มกันและตรวจแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อเท่านั้น วิธีปฏิบัติดังนี้

- 4.2.1 ให้ใช้ ไช้จริง และหลอดเก็บเลือดที่แห้งและสะอาดผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- 4.2.2 เจาะเลือดเสร็จแล้วให้วางหลอดในแนวเฉียง เพื่อให้การแยกซีรัมได้ดีขึ้น
- 4.2.3 ควรวางในอุณหภูมิห้องเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ชั่วโมง เพื่อให้การแยกซีรัมจากเกล็ดเลือดได้มากขึ้น ไม่ควรนำหลอดเลือดที่เพิ่งเจาะมาใหม่เข้าสู่ตู้เย็นทันที เพราะทำให้ซีรัมไม่แยกชั้นหรือแยกได้น้อยมาก
- 4.2.4 ห้ามปั่นหลอดเลือดที่ยังไม่ได้ทำการถ่ายซีรัมออก เพราะจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเกิด hemolysis มีผลกระทบต่อ การตรวจวินิจฉัย
- 4.2.5 แยกซีรัมแล้ว ถ่ายใส่หลอดพลาสติกที่มีฝาเกลียว ปิดฝาให้สนิทก่อนการรวุ้ไหล กรณีไม่สามารถนำส่งห้องปฏิบัติการได้ทันที ให้เก็บในตู้แช่แข็ง -20°C ทั้งนี้เป็นการเก็บรักษาคุณภาพซีรัมให้คงที่สม่ำเสมอ





ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

โทร 044 279112 โทรสาร 044 314889 website: www.dld.go.th/rrl

5. การบรรจุหีบห่อและการขนส่ง

- 5.1 ต้องมีเอกสารประกอบการจัดส่งแนบมาทุกครั้ง ซึ่งประกอบด้วย หนังสือ/บันทึกจากหน่วยงานโดยมีลายเซ็นของหัวหน้าหน่วยงานหรือรักษาการแทน ประวัติตัวอย่างอย่างละเอียดเท่าที่จะทำได้
- 5.2 เช็ดทำความสะอาดขวดบรรจุตัวอย่าง หลอดเก็บซีรัม วัสดุสิ่งของที่เหลือใช้ กระจกน้ำแข็งหรือกล่องโฟมให้ทั่วภายนอกกล่องด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อไวรัสที่เหมาะสมก่อนนำออกจากพื้นที่หรือสถานที่ทำงานน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ 4% ปูนขาว 3% Speedyne (1:200) หรือ 1% Glutaraldehyde เป็นต้น
- 5.3 ให้ขนส่งโดยนำขวดหรือหลอดบรรจุตัวอย่าง ใส่ในถุงพลาสติกและมัดให้แน่นเพื่อป้องกันการซึมของน้ำจากน้ำแข็ง เข้าไปในหลอด บรรจุตัวอย่างทั้งหมดลงในขวดพลาสติกหรือโลหะที่มีฝาเกลียวปิดสนิทเพื่อป้องกันการรั่วไหลเชื้อหรือกันขวดแตกขณะขนส่ง นำใส่ในกระติกน้ำแข็งหรือกล่องโฟมที่แข็งแรงโดยมี ICE PACK หรือน้ำแข็งบรรจุอยู่ เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างอยู่ในสภาพแช่เย็นในขณะขนส่งจากต้นทางจนถึงปลายทาง
- 5.4 ให้นำส่งปลายทางโดยตรง ห้ามแวะไปที่หน่วยงานอื่น เพื่อป้องกันการหกหล่นหรือการแพร่เชื้อไปสู่สิ่งแวดล้อมต่าง ๆ
- 5.5 กรณีตัวอย่างซีรัมให้นำส่งห้องปฏิบัติการด้วยตนเองเท่านั้น โดยนำส่งในสภาพแช่เย็นหากยังไม่สามารถนำส่งทันทีให้เก็บในช่องแช่แข็ง -20°C ห้ามส่งทางไปรษณีย์หรือรถขนส่งต่างๆ โดยเด็ดขาด





ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
 สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
 โทร 044 279112 โทรสาร 044 314889 website: www.dld.go.th/rrl

6. วิธีการตรวจวินิจฉัยโรค

6.1 เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะดำเนินการรับตัวอย่างและลงทะเบียนของศูนย์ ตรวจสอบสภาพหีบห่อหรือภาชนะที่บรรจุตัวอย่าง พร้อมเอกสารที่แนบมากับหีบห่อ ในเบื้องต้นก่อน จากนั้นส่งต่อเข้าห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้อง โดยตรวจสอบเอกสาร ประวัติและพิจารณาคำร้องขอจากความต้องการของลูกค้า และพิจารณาจากชนิดของตัวอย่าง และชนิดของการทดสอบ ซึ่งจะดำเนินการทดสอบทางห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน 17025 :2005 ได้แก่

6.2 ELISA typing เป็นวิธีการตรวจจำแนกชนิดไวรัสจากตัวอย่างเนื้อเยื่อ จะดำเนินการทดสอบตามคู่มือวิธีทดสอบ (Test method) RRL-T-001 ของเอกสารในระบบคุณภาพ

6.3 Liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) เป็นการตรวจสอบระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัส FMD จากตัวอย่างเป็นซีรัม จะดำเนินการตามคู่มือวิธีทดสอบ (Test method) RRL-T-002 ของเอกสารในระบบคุณภาพ

6.4 ตรวจหาแอนติบอดีต่อ Non structure protein (NS) test เป็นการตรวจสอบแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจากสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ จะดำเนินการตามคู่มือวิธีทดสอบ (Test method) RRL-T-003 และ RRL-T-004 ของเอกสารในระบบคุณภาพ

6.5 การรายงานผลการตรวจสอบ จะดำเนินการจัดส่งทางไปรษณีย์ หากกรณีเร่งด่วนจะดำเนินการส่งทางโทรสารก่อนและจัดส่งทางไปรษณีย์ตามหลัง

6.6 หน่วยงานที่ต้องส่งรายงานคือ สำนักควบคุม ป้องกันและบำบัดโรค (สคบ) เจ้าของพื้นที่ที่ส่งตัวอย่าง และสำนักสัตวศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยประจำเขต (สสอ)
