



ที่ สธ ๐๖๓๘.๐๑.๑/ว ๑๕๗๔

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข
ถนนติวานนท์ จังหวัดนนทบุรี ๑๑๐๐๐

๒๒ กรกฎาคม ๒๕๖๕

เรื่อง คำแนะนำการตรวจทางห้องปฏิบัติการกรณีสงสัยติดเชื้อไวรัสฝีดาษวานร

เรียน ผู้อำนวยการโรงพยาบาล/ผู้บริหารหน่วยงาน/ผู้จัดการห้องปฏิบัติการ

สิ่งที่ส่งมาด้วย คำแนะนำการตรวจทางห้องปฏิบัติการกรณีสงสัยติดเชื้อไวรัสฝีดาษวานร
(DMSc_M02 rev.0 27 Jul 2022)

จำนวน ๑ ชุด

ตามที่องค์การอนามัยโลกได้ประกาศแจ้งเตือนระดับสูงสุด ให้การระบาดของโรคฝีดาษวานรเป็นภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ เมื่อวันที่ ๒๓ กรกฎาคม ๒๕๖๕ นั้น

ในการนี้ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอเผยแพร่คำแนะนำการตรวจทางห้องปฏิบัติการกรณีสงสัยติดเชื้อไวรัสฝีดาษวานร (DMSc_M02 rev.0 27 Jul 2022) ให้แก่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายทราบรายละเอียดตามสิ่งที่ส่งมาด้วย เพื่อให้การปฏิบัติงานตรวจวินิจฉัย การรักษาและติดตามผู้ป่วย การสอบสวนโรค การเฝ้าระวังโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ทันต่อสถานการณ์ระบาดของโรค

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบและถือปฏิบัติต่อไปด้วย จะเป็นพระคุณ

ขอแสดงความนับถือ

(นายศุภกิจ ศิริลักษณ์)
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
โทร. ๐ ๒๕๕๑ ๐๐๐๐-๑๑ ต่อ ๙๙๓๐๕
โทรสาร ๐ ๒๕๕๑ ๕๔๔๙



กรมวิทยาศาสตร์สุขภาพ
Department of Medical Sciences

Laboratory testing for the Monkeypox virus (MPXV)

Interim guidance 2022

(รวบรวมจาก WHO, US-CDC, PAHO, UK-GOV)

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ราชการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2565 ประกาศ ณ วันที่ 27 กรกฎาคม 2565 กำหนดให้ monkeypox virus เป็นเชื้อโรคกลุ่มที่ 3* หน่วยงานต้องมีสถานปฏิบัติการกับ monkeypox virus ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ลักษณะของสถานที่ผลิตหรือมีไว้ในครอบครอง และการดำเนินการเกี่ยวกับเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2563

แนวปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ

สำหรับการดำเนินการกับเชื้อไวรัส Monkeypox ในระดับห้องปฏิบัติการ

การตรวจ Biochemistry, Hematology และ Urinalysis ในโรงพยาบาล

ดำเนินการในห้องปฏิบัติการชีววิทยาระดับ 2 จำกัดจำนวนคนที่เข้าปฏิบัติงาน และสวมชุด PPE ตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน (standard clinical laboratory precautions) หากการทดสอบก่อให้เกิดการฟุ้งกระจาย ผู้ปฏิบัติงานต้องใส่หน้ากาก N95 หรือ FFP2 respirator

การตรวจหาสารพันธุกรรม Monkeypox virus (MPXV)

ดำเนินการในห้องปฏิบัติการชีววิทยาระดับ 2 เสริมสมรรถนะ (biosafety level 2 enhanced, BSL2+) สวมชุด PPE ตามมาตรฐานการปฏิบัติงานและใส่หน้ากาก N95 หรือ FFP2 respirator โดยใช้มาตรการที่ลดโอกาสเสี่ยง ได้แก่ เตรียมตัวอย่างในตู้ชีววิทยาระดับ 2 (certified Biosafety cabinet class II) เพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของตัวอย่าง รวมถึงการปั่นตัวอย่างจำเป็นต้องมีฝาครอบภาชนะที่ใส่ตัวอย่างก่อนนำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ผู้ปฏิบัติงานไม่จำเป็นต้องมีประวัติฉีดวัคซีนป้องกันไข้ทรพิษ

วิธี PCR ถือเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ตรวจยืนยัน MPXV ซึ่งอาจเป็นการผสมผสานด้วยวิธี PCR และ DNA sequencing หรือ PCR 1-2 ขั้นตอน เช่น

1. Real-time PCR ตรวจหา Genus orthopoxvirus (OPXV) และทดสอบอีกครั้งด้วย Real-time PCR จำเพาะต่อ Monkeypox virus (MPXV)
2. Real-time PCR ตรวจหา Genus orthopoxvirus (OPXV) และทดสอบต่อด้วยวิธี DNA sequencing เพื่อหาชนิดที่จำเพาะต่อ Monkeypox virus (MPXV)
3. Real-time PCR จำเพาะต่อ Monkeypox virus (MPXV) และอาจทดสอบอีกครั้ง เพื่อจำแนกเป็น Congo/Central Basin และ West African clades



การเพาะเลี้ยงเชื้อและการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับตัวเชื้อ

ดำเนินการในห้องปฏิบัติการชีววิทยาระดับ 3 เท่านั้น และสวมชุด PPE ตามมาตรฐานการปฏิบัติงานและใส่หน้ากาก N95 หรือ FFP2 respirator

การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมหรือการแยกเชื้อ

เก็บของเหลวในตุ่มน้ำ (vesicles) หรือ ตุ่มหนอง (pustules) ปริมาณ 0.5–1 มล. โดยทำความสะอาดตุ่มแผลด้วย 70 % แอลกอฮอล์ ใช้ disposable syringe พร้อมเข็มเจาะและดูดน้ำในตุ่มแผล เก็บใส่หลอดปราศจากเชื้อ ปิดฝาให้สนิทแช่ในตู้เย็น 4°C รอการนำส่ง (ให้เจาะและดูดน้ำในตุ่มแผลหลายๆแผลรวมกันในหลอดเดียว เพื่อให้มีปริมาณมากพอสำหรับการแยกเชื้อ)

Swab จากตุ่มแผล ให้ทำความสะอาดตุ่มแผลด้วย 70 % แอลกอฮอล์ ใช้กรรไกรตัดผิวหนังที่คลุมตุ่มแผล จากนั้นใช้ใบมีดแลนเซต (lancet) ปราศจากเชื้อขูดแผลจนกระทั่งผิวชั้นแต่เลือดยังไม่ออก แล้วใช้ไม้ swab ปราศจากเชื้อป้ายที่แผล แล้วรีบแช่ swab ลงในหลอด viral transport media (VTM) ปริมาตร 1-2 มล. หรือ ใส่ในหลอดปราศจากเชื้อหักด้าม swab ที่งัดเพื่อปิดหลอดให้สนิท เก็บในกระติกน้ำแข็ง (4°C) ทันที ควรป้าย 2 ตำแหน่งหรือ 2 swab แล้วจุ่มลงในหลอด VTM เดียวกัน เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสในหลอดตัวอย่าง

Throat swab เก็บในกรณีผู้ป่วยอาจมีแผลหรือตุ่มพองในกระพุ้งแก้ม หรือเก็บในผู้สัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยยืนยัน แต่ยังไม่แสดงอาการ ใช้ swab ป้ายภายในบริเวณ posterior pharynx จุ่มปลาย swab ลงในหลอด viral transport media (VTM) หักด้าม swab ที่งัดเพื่อปิดหลอดให้สนิท

ข้อควรระวังสำหรับการตรวจหาสารพันธุกรรม

1. ไม่ควรใช้ swab ที่มี calcium alginate หรือ swab ที่ด้ามทำด้วยไม้เพราะอาจมีสารที่ยับยั้งไวรัสบางชนิดหรือยับยั้งปฏิกิริยา PCR ควรใช้ Dacron หรือ Rayon swab ที่ด้ามทำด้วยลวดหรือพลาสติก
2. ตัวอย่างอื่นๆ อาจเก็บ urine, semen, rectal หรือ genital swab เมื่อพบแผลหรือตุ่มพองในตำแหน่งดังกล่าว ส่วน EDTA blood อาจตรวจพบเชื้อได้ในระยะ viremia แต่มักพบในช่วงสั้นๆก่อนที่ผู้ป่วยจะเกิดแผลหรือตุ่มพองและพบจำนวนไวรัสได้น้อยกว่าน้ำหรือหนองในตุ่มแผล
3. กรณีที่ตุ่มแผลแห้ง ตกสะเก็ด ให้เก็บสะเก็ดแผล (crusted scabs) ใส่หลอดปราศเชื้อ
4. เลือกใช้ชุดสกัด DNA extraction kit ที่เหมาะสมกับตัวอย่าง โดยเฉพาะสะเก็ดแผล ต้องผ่านกระบวนการบดหรือปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนใช้ชุดสกัด tissue extraction kit หรือชุดสกัดที่เหมาะสม
5. หากไม่พบสารพันธุกรรมของ MPXV ควรตรวจหาไวรัสชนิดอื่นที่ก่อให้เกิดแผลตุ่มพองลักษณะคล้ายคลึงกัน เช่น Varicella zoster virus และ Herpes virus หากแต่ไวรัสทั้ง 2 ชนิดมักจะไม่มิตุ่มแผลที่ฝ้ามืดเหมือน MPXV



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

การเก็บรักษาและนำส่งสิ่งส่งตรวจ

ตัวอย่างสารคัดหลั่งและ swab จากตุ่มแผล ต้องแช่เย็น (2 ถึง 8°C) หรือแช่แข็ง (-20°Cหรือต่ำกว่า) ภายใน 1 ชั่วโมง กรณีที่ไม่สามารถตรวจได้ภายใน 1 สัปดาห์ให้แช่แข็งที่ -70°C บรรจุและนำส่งตัวอย่างตามข้อกำหนด ตัวอย่างสารคัดหลั่งและ swab นำส่งตัวอย่างตามข้อกำหนด UN 3373, Category B ตัวอย่างเชื้อที่แยกได้นำส่งตามข้อกำหนด UN 2814, Category A โดยบรรจุตัวอย่างตามวิธีการดังต่อไปนี้

1. ปิดฝาหลอดหรือภาชนะเก็บตัวอย่างส่งตรวจให้สนิทพันด้วยเทป ปิดฉลากแจ้งชื่อผู้ป่วย ชนิดตัวอย่าง วันที่เก็บ
2. นำหลอดหรือภาชนะสิ่งส่งตรวจ ห่อหุ้มด้วยวัสดุดูดซับก่อนใส่ถุงซิปล็อคและทำความสะอาดภายนอกด้วย 70 % แอลกอฮอล์
3. นำสิ่งส่งตรวจในถุงซิปล็อคใส่ในกระป๋องพลาสติกอย่างหนา (ชั้นที่ 2) มีฝาปิดสนิท ไม่รั่วซึม สามารถทนแรงกระแทกได้หากตกถึงพื้น
4. นำกระป๋องใส่ลงในกระติกเก็บความเย็นหรือกล่องโฟม (ชั้นที่ 3) ที่มีคุณสมบัติทนทานต่อการกระแทกกระแทก ในกรณีที่ส่งตรวจหาเชื้อไวรัสควรรักษาอุณหภูมิที่ 4-8 °C ตลอดการขนส่ง โดยใส่ Ice pack หรือน้ำแข็งแห้งลงในช่องว่างระหว่างชั้นที่ 2 และ 3 ให้เพียงพอและมั่นใจว่าจะรักษาความเย็นจนถึงปลายทาง
5. ปิดฝากล่องโฟม และใช้เทปพันปิดรอยต่อระหว่างฝาให้แน่น กรณีใส่น้ำแข็งแห้งใช้เทปยึดติดฝากล่องในลักษณะที่สามารถระบาย ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นได้ ระบุชื่อผู้ส่งและผู้รับตัวอย่าง พร้อมเบอร์โทรศัพท์ติดต่อกรณีฉุกเฉิน ที่ข้างกล่อง
6. แจ้งวัน เวลาที่ส่งตัวอย่างที่ ศูนย์ประสานงานการตรวจวิเคราะห์และเฝ้าระวังโรคทางห้องปฏิบัติการ (ศปส.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จ.นนทบุรี โทร 02 591 2153, 02 951 1485 หรือที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 15 แห่ง นำส่งตัวอย่างพร้อมแบบนำส่งตัวอย่าง

หมายเหตุ

- แบบนำส่งตัวอย่างให้ใส่ในซองพลาสติกกันน้ำก่อนส่ง
- ดาวน์โหลดแบบนำส่งตัวอย่าง <http://nih.dmsc.moph.go.th/login/filedata/FM-NIH-001-53.pdf>
- Category A และ B มีความแตกต่างที่ระบบเอกสาร และบรรจุภัณฑ์ ซึ่งบรรจุภัณฑ์สำหรับ Category A ต้องได้รับการรับรองจาก United Nation (UN), วิธีการบรรจุตัวอย่างสำหรับ Category A และ B ปฏิบัติแบบเดียวกัน



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดี

เก็บซีรัมปริมาณ 0.5 – 1 มล. หรือเลือดประมาณ 3 – 5 มล. โดยเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำประมาณ 3-5 มล. ใส่หลอดปราศจากเชื้อปิดฝาให้สนิท ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอเลือดแข็งตัว ปั่นแยกซีรัม แบ่งซีรัมใส่หลอดปราศจากเชื้อ เก็บเข้าตู้เย็น 4°C เพื่อรอการนำส่ง สำหรับผู้ป่วย เจาะเลือด 2 ครั้ง ครั้งแรกภายใน 1 สัปดาห์ เมื่อเริ่มมีอาการครั้งที่ 2 ห่างจากครั้งแรกอย่างน้อย 21 วัน การตรวจหาแอนติบอดีอย่างเดียวไม่สามารถวินิจฉัยโรคได้และการให้ผลบวก IgG จากซีรัมคู่อาจเกิดจากภูมิคุ้มกันเดิมที่ได้จากการฉีดวัคซีน

ชนิดตัวอย่างและการเก็บรักษาเพื่อการส่งตรวจ Monkeypox virus ทางห้องปฏิบัติการ

ชนิดสิ่งส่งตรวจ	วัสดุสำหรับเก็บตัวอย่าง	สถานะการเก็บตัวอย่าง	วิธีการทดสอบ	หมายเหตุ
ตัวอย่างจากแผล: ตุ่มน้ำหรือ ตุ่มหนอง	เข็มปราศจากเชื้อ	แช่เย็น (2-8 องศาเซลเซียส) สำหรับเก็บรักษาระยะเวลาน้อยกว่า 7 วัน แช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า) สำหรับเก็บรักษาเวลานานกว่า 7 วัน	Real-time PCR	
ตัวอย่างจากแผลบนผิวหนัง: ตุ่มน้ำ หรือ รอยแผลพุพอง	ไม้ swab ที่ทำจากใยสังเคราะห์ Dracon หรือ Rayon และ/หรือ หลอด VTM (1 -2 มล)	ดั่งที่กล่าวไปด้านบน	Real-time PCR	
ตัวอย่างจากแผล: สะเก็ดแผล	หลอดเก็บตัวอย่างปราศจากเชื้อ	ดั่งที่กล่าวไปด้านบน	Real-time PCR	
Oropharynx หรือ throat swab	ไม้ swab ที่ทำจากใยสังเคราะห์ Dracon หรือ Rayon และ/หรือ หลอด VTM (1 -2 มล)	ดั่งที่กล่าวไปด้านบน	Real-time PCR	สัมผัสเสี่ยงสูง
เลือด	หลอดปราศจากเชื้อที่มี EDTA 3-5 มล	ดั่งที่กล่าวไปด้านบน	Real-time PCR	

เอกสารอ้างอิง

1. Monkeypox: diagnostic testing GOV.UK (<https://www.gov.uk/guidance/monkeypox-diagnostic-testing>)
2. Laboratory Guidelines for the Detection and Diagnosis of Monkeypox Virus Infection ,Pan American Health Organization (PAHO)
3. World Health Organization interim guidance on Laboratory testing for monkeypox virus, 23 May 2022
4. Laboratory Procedures | Monkeypox | Poxvirus | CDC, (<https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/lab-personnel/lab-procedures.htm>)

แบบส่งตัวอย่างกลุ่มโรคจากเชื้ออาวุธชีวภาพ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
ถนนติวานนท์ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000 โทรศัพท์ 0-2951-0000 ต่อ 99614, 0-2951-1485
โทรสาร 0-2591-2153 website: <http://nih.dmsc.moph.go.th/>

ติดสติ๊กเกอร์
ชื่อผู้ป่วย

ชื่อ-สกุลผู้ป่วย HN..... เพศ ชาย หญิง อายุ.....ปี.....เดือน.....วัน
ที่อยู่ เลขที่..... หมู่ที่..... ถนน..... ตำบล/แขวง.....
อำเภอ/เขต..... จังหวัด..... รหัสไปรษณีย์..... โทรศัพท์.....

การรักษาที่โรงพยาบาล

วันที่รับการรักษา..... ชื่อโรงพยาบาล..... อำเภอ..... จังหวัด.....

การวินิจฉัยทางคลินิก

- โรคฝีดาษ/ไข้ทรพิษ โรคแอนแทรกซ์ กาฬโรค โรคโบทูลิซึม
 อื่นๆ (ระบุ).....

วัน/เดือน/ปี ที่เริ่มป่วย.....

อาการและการตรวจพบ

- ปวดกล้ามเนื้อ ปวดหลัง ปวดศีรษะ มีไข้°ซ หนาวสั่น อ่อนเพลีย ช็อค ชัก
 กล้ามเนื้ออ่อนแรง เจ็บหน้าอก ต่อม้ำเหลืองบวม ปอดบวม ไอ/จาม เจ็บคอ หายใจลำบาก
 คัน ตุ่มน้ำใส ผื่นแดง ตุ่มหนองแดง ตุ่มหนอง คลื่นไส้/อาเจียน เบื่ออาหาร ปวดเมื่อย
 ปวดท้อง ท้องเสีย ท้องอืด ท้องผูก ตามัว/ตาลาย เห็นภาพซ้อน หนังตาตก
 คอแห้ง กลืนลำบาก คอและลิ้นแข็ง แขนขาอ่อนแรง หน้ามืด อื่นๆ (ระบุ).....

โปรดระบุรายการที่ต้องการส่งตรวจ

- โรคฝีดาษ/ไข้ทรพิษ ตรวจด้วยวิธีอณูชีววิทยา
โรคแอนแทรกซ์ เพาะแยกเชื้อ *Bacillus anthracis* และทดสอบทางชีวเคมี ตรวจด้วยวิธีอณูชีววิทยา MALDI-TOF MS
กาฬโรค เพาะแยกเชื้อ *Yersinia pestis* และทดสอบทางชีวเคมี ตรวจด้วยวิธีอณูชีววิทยา MALDI-TOF MS
โรคโบทูลิซึม ทดสอบหาสารพิษในหนุทดลอง เพาะแยกเชื้อ *Clostridium botulinum* และทดสอบทางชีวเคมี
 อื่นๆ (ระบุ).....

ชนิดตัวอย่าง	วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง	เวลาที่เก็บตัวอย่าง	NIH no.	ชนิดตัวอย่าง	วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง	เวลาที่เก็บตัวอย่าง	NIH no.
<input type="checkbox"/> ป้ายแผล/...../.....น.	<input type="checkbox"/> น้ำล้างกระเพาะ/...../.....น.
<input type="checkbox"/> น้ำไขสันหลัง/...../.....น.	<input type="checkbox"/> หนอง/...../.....น.
<input type="checkbox"/> เลือด/...../.....น.	<input type="checkbox"/> อาเจียน/...../.....น.
<input type="checkbox"/> ซิรัม/...../.....น.	<input type="checkbox"/> Throat swab/...../.....น.
<input type="checkbox"/> อุจจาระ/...../.....น.	<input type="checkbox"/> Vesicular fluid/...../.....น.
<input type="checkbox"/> เสมหะ/...../.....น.	<input type="checkbox"/> Pustular fluid/...../.....น.
<input type="checkbox"/> อาหาร/...../.....น.	<input type="checkbox"/> เชื้อบริสุทธ์/...../.....น.
<input type="checkbox"/> ชิ้นเนื้อ/...../.....น.	<input type="checkbox"/> อื่นๆ (ระบุ)/...../.....น.

ชื่อและที่อยู่ของผู้นำส่งตัวอย่าง	ชื่อและที่อยู่ของผู้ที่ต้องทราบผล
ชื่อ.....	ชื่อ.....
ที่อยู่.....	ที่อยู่.....
.....
.....
หน่วยงาน.....	หน่วยงาน.....
โทรศัพท์.....	โทรศัพท์.....
โทรสาร.....	โทรสาร.....
	E-mail.....

เฉพาะเจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข