

รายงานผลการปรับปรุงกระบวนการ

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567

ชื่อกระบวนการ : เทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* (ก่อโรคมดลูกอักเสบติดต่อในม้า; Contagious Equine Metritis; CEM)

หน่วยงาน : สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

ผู้รับผิดชอบ : กลุ่มบริหารจัดการสุขภาพสัตว์ เบอร์โทร. : 0-2579-7591

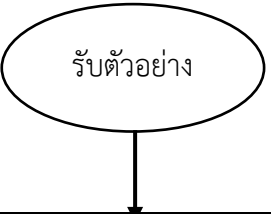
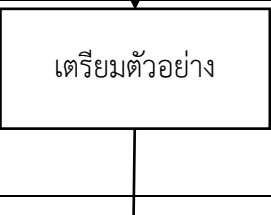
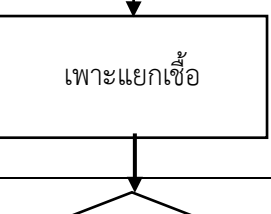
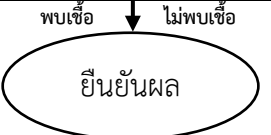
1. อธิบายปัญหา และสภาพการปฏิบัติงานเดิมก่อนที่จะเริ่มการปรับปรุง

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (สสช.) เป็นห้องปฏิบัติการกลางของกรมปศุสัตว์ ที่มีหน้าที่ทดสอบชั้นสูง ตรวจวินิจฉัยโรคสัตว์และทดสอบชีวสารทางห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 เพื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคระบาดสัตว์ และโรคอุบัติใหม่ในสัตว์ รวมถึงการบำบัดและดูแลสุขภาพสัตว์ โดยมีหน่วยงานในสังกัดที่เป็นห้องปฏิบัติการเครือข่ายตั้งอยู่ในภูมิภาค ได้แก่ ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ศอ.) และศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์ (ศทวช.) และศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ (ศวพ.) 8 แห่ง

ในปัจจุบัน มีโรคติดต่อสำคัญในสัตว์ตระกูลม้าหลายโรค ซึ่งเป็นมาตรการหรือข้อกำหนดในการนำเข้า-ส่งออกของประเทศไทยตาม พรบ. โรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558 หนึ่งในนั้นคือ โรคมดลูกอักเสบติดต่อในม้า; Contagious Equine Metritis; CEM มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Taylorella equigenitalis* เป็นโรคติดต่อที่สำคัญในสัตว์ตระกูลม้า เช่น ม้า ลา ล่อ ม้าลาย และสัตว์ป่าอื่น ๆ เช่น แรด สมเสร็จ เป็นต้น โดยโรคดังกล่าว ยังไม่เคยมีรายงานการตรวจพบในประเทศไทย แม้ห้องปฏิบัติการจะมีศักยภาพสามารถตรวจวินิจฉัยได้จากการเพาะแยกเชื้อ แต่เนื่องจากห้องปฏิบัติการไม่มีเชื้ออ้างอิงหรือเชื้อที่เพาะแยกได้จากตัวอย่างทดสอบ ทำให้ไม่มีตัวอย่างควบคุมสำหรับยืนยันผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการ ดังนั้น ห้องปฏิบัติการจึงต้องทำการพัฒนาการตรวจวินิจฉัย เพื่อตรวจหาโรคดังกล่าวด้วยวิธีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรค ตามข้อกำหนดในการออกใบรับรองด้านสุขภาพสัตว์

จากปัญหาดังกล่าว เพื่อให้ผู้รับบริการทราบผลการตรวจวินิจฉัยได้อย่างรวดเร็วและสามารถนำผลการตรวจวินิจฉัยใช้ประกอบการนำเข้าส่งออกสัตว์ได้ทันตามระยะเวลาที่กำหนดตามระเบียบข้อกฎหมายที่เกี่ยวข้อง สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ จึงได้ดำเนินการพัฒนา เทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* (ก่อโรคมดลูกอักเสบติดต่อในม้า; Contagious Equine Metritis; CEM) ซึ่งเป็นวิธีทดสอบทางชีวโมเลกุลในการตรวจตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *Taylorella equigenitalis* ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วและแม่นยำ วิธีการทดสอบดังกล่าว ครอบคลุมการทดสอบตั้งแต่ การรับตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อ การเพิ่มและตรวจวัดปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง และการรายงานผลการทดสอบ การพัฒนาเทคนิคดังกล่าวจะช่วยให้ห้องปฏิบัติการ สามารถดำเนินการตรวจวินิจฉัยโดยวิธีทางเลือกได้ตามความต้องการของผู้รับบริการ

ขั้นตอนกระบวนการรับ-ส่งตัวอย่าง ก่อนปรับปรุง

ลำดับ	ผังกระบวนการ	รายละเอียด	ผู้รับผิดชอบ	ระยะเวลา	แบบฟอร์ม/เอกสาร อ้างอิง
1		กรอกข้อมูลประวัติสัตว์ พร้อมส่งตัวอย่างที่ห้องรับตัวอย่าง กลุ่มระบาดวิทยาฯ สสช.	ผู้รับบริการ/ ผู้ส่งตัวอย่าง	30 นาที	แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ (F-AHM-01)
2		เตรียมตัวอย่างก้านสวอปด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เพื่อป้ายตัวอย่างบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	1 ชั่วโมง	WOAH, 2022
3		เพาะแยกเชื้อ <i>Tylorella equigenitalis</i> รวมถึงการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	4 วัน	WOAH, 2022
4		บันทึก วิเคราะห์ สรุป และยืนยันผลการทดสอบ	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	1 ชั่วโมง	แบบฟอร์ม LIMS-7.2-038 และ 7.2-102
5		รายงานผลการทดสอบในระบบ LIMS	กลุ่มระบาดวิทยาฯ	10 นาที	

2. ผู้นำเสนอแนวทางการแก้ปัญหา ผู้ดำเนินการ และผู้มีส่วนได้ส่วนเสียของโครงการ

สสช. ได้พัฒนาเทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Tylorella equigenitalis* เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค CEM อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยเป็นการพัฒนาร่วมกันจากผู้ที่เกี่ยวข้องทุกภาคส่วน ได้แก่ ส่วนของผู้ให้บริการ ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา กลุ่มระบาดวิทยาทางห้องปฏิบัติการ สสช. และ ศวพ. ประจำภูมิภาค 8 แห่ง ส่วนของผู้รับบริการ ได้แก่ หน่วยงานภายในกรมปศุสัตว์ เช่น สำนักงานปศุสัตว์พื้นที่กรุงเทพมหานคร สำนักงานปศุสัตว์จังหวัด สำนักงานควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กองสารวัตรและกักกัน และหน่วยงานภายนอกกรมปศุสัตว์ เช่น กรมอุทยาน สัตว์ป่าและพันธุ์พืช องค์การสวนสัตว์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ กรมการสัตว์ทหารบก บริษัทเอกชน มหาวิทยาลัย เกษตรกร และประชาชน

3. ผลงานที่เป็นความคิดริเริ่มในการพัฒนาคุณภาพการบริการ

สสช. เป็นหน่วยงานที่ให้บริการด้านการตรวจวินิจฉัย ชั้นสูง และวิจัยด้านสุขภาพสัตว์ จึงมีความจำเป็นในการเตรียมพร้อมทางด้านห้องปฏิบัติการให้สอดคล้องกับสถานะการระบาดของโรคในปัจจุบัน รวมทั้ง

อำนวยความสะดวกแก่ผู้รับบริการในการนำผลการตรวจวินิจฉัยไปใช้ประกอบการนำเข้าส่งออกสัตว์ได้ทันตามระยะเวลาที่กำหนดตามระเบียบข้อกฎหมายที่เกี่ยวข้อง แม้ว่าโรคติดเชื้อทางแบคทีเรียในสัตว์ส่วนใหญ่สามารถวินิจฉัยได้โดยวิธีการเพาะแยกเชื้อ (Bacterial Culture) แต่วิธีดังกล่าวมีข้อจำกัดคือต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้ออย่างน้อย 18-24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรีย *Tylorella equigenitalis* ต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มมากกว่า 72 ชั่วโมงจึงจะปรากฏโคโลนีของเชื้อ ดังนั้น เพื่อให้มีวิธีทดสอบที่มีความแม่นยำ รวดเร็ว และมีความถูกต้อง การพัฒนาวิธีทางเลือกจึงมีความจำเป็นสำหรับห้องปฏิบัติการกลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา สสช. และ ศวพ. ประจำปีภาค 8 แห่ง การพัฒนาเทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Tylorella equigenitalis* เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค CEM จึงมีบทบาทสำคัญในการตรวจวินิจฉัยโรคได้อย่างรวดเร็วนำไปสู่การควบคุมป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจาก CEM เป็นหนึ่งในโรคสำคัญตาม พรบ. โรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558

ขั้นตอนกระบวนการรับ-ส่งตัวอย่าง

หลังปรับปรุง

ลำดับ	ผังกระบวนการ	รายละเอียด	ผู้รับผิดชอบ	ระยะเวลา	แบบฟอร์ม/เอกสารอ้างอิง
1		รับตัวอย่างจากกลุ่มระบาดวิทยา ฯ	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	10 นาที	แบบฟอร์ม LIMS-7.1-002
2		การสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อ <i>Tylorella equigenitalis</i>	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	2 ชั่วโมง	QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook (QIAGEN, 2024)
3		การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ <i>Tylorella equigenitalis</i> ด้วยวิธี Real-time PCR	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	2 ชั่วโมง	Wakeley <i>et al.</i> , 2006
4		วิเคราะห์ผลจากเครื่อง สรุปรูป บันทึกและยืนยันผลการทดสอบ	ผู้ปฏิบัติการทดสอบ	1 ชั่วโมง	แบบฟอร์ม LIMS-7.2-026
5		รายงานผลในระบบ LIMS	กลุ่มระบาดวิทยา ฯ	10 นาที	

หมายเหตุ หากการทดสอบให้ผลวิเคราะห์ Inconclusive จะทำการทดสอบซ้ำโดยเริ่มในลำดับขั้นตอนที่ 2

4. กลยุทธ์ที่นำมาใช้ให้การพัฒนาบริการประสบผลสำเร็จ

สสช. มุ่งมั่นพัฒนาวิธีทดสอบให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล ตามยุทธศาสตร์กรมปศุสัตว์ พ.ศ. 2566-2570 ยุทธศาสตร์ที่ 3 : เสริมสร้างการใช้เทคโนโลยีและนวัตกรรมในการบริการเกษตรกรและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มและมูลค่าใหม่ให้สินค้าและบริการด้านปศุสัตว์ เพื่อพัฒนาวิธีทดสอบให้ได้มาตรฐาน รวดเร็ว และแม่นยำ

5. ทรัพยากรที่ใช้ในการดำเนินการ

กระบวนการ เทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* (ก่อโรคมดลูกอักเสบติดต่อในม้า; Contagious Equine Metritis; CEM) ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากงบดำเนินการปกติของ สสช. รวมทั้งใช้ทรัพยากรบุคคล เครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีอยู่ปัจจุบันของ สสช. เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

6. ขั้นตอนสำคัญในการพัฒนาบริการและการนำไปปฏิบัติ

6.1 ลำดับขั้นตอนในการพัฒนา

ศึกษา ค้นคว้า และทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องสำหรับวิธีทดสอบโรค CEM ที่มีความ รวดเร็ว แม่นยำ และเป็นไปตามมาตรฐานสากล สำนวจความต้องการและสั่งซื้อสารเคมี อุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องสำหรับการปรับปรุงพัฒนาวิธีทดสอบโรค CEM

6.2 ลำดับขั้นตอนในการนำไปปฏิบัติ

6.2.1 เลือกใช้วิธีทดสอบทางชีวโมเลกุลที่เป็นไปตามมาตรฐานองค์การอนามัยสัตว์โลก (WOAH)

6.2.2 ทวนสอบวิธี (method verification) โดยการทดสอบหาความเข้มข้นของโพรบและไพรเมอร์ที่เหมาะสม หาค่า Limit of Detection (LOD) และหาค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity)

6.2.3 ทดสอบวิธีกับตัวอย่างส่งตรวจ ตัวอย่างควบคุมบวก และตัวอย่างควบคุมลบ

6.2.4 จัดประชุมชี้แจงเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง (สสช. และ ศวพ.) เพื่อให้สามารถทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* ได้ทั้งห้องปฏิบัติการส่วนกลางและภูมิภาค

6.3 ระบบการติดตามและประเมินผล

6.3.1 ติดตามผลการให้บริการและการดำเนินงาน ผ่านช่องทางประชาสัมพันธ์ของ สสช. เพื่อนำปัญหาที่พบจากการให้บริการ และการปฏิบัติงานไปพัฒนาและปรับปรุงระบบให้สมบูรณ์และมีประสิทธิภาพมากขึ้น

6.3.2 รวบรวมและประมวลผลการประเมินความพึงพอใจสำหรับผู้รับบริการของ สสช.

7. ปัญหา อุปสรรค รวมถึงวิธีการบริหารจัดการ

เนื่องจากประเทศไทย ไม่เคยมีรายงานการตรวจพบโรค CEM ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสั่งซื้อพลาสติกสังเคราะห์เพื่อนำมาใช้เป็นตัวควบคุมบวกในขั้นตอนการทวนสอบวิธีในช่วงแรก เพื่อให้การทวนสอบวิธีมีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้นจึงมีความจำเป็นในการสั่งซื้อเชื้อมาตรฐานจากต่างประเทศ (*Taylorella equigenitalis* ATCC 35865) นอกจากงบประมาณการสั่งซื้อเชื้อมาตรฐานที่สูงแล้ว การสั่งซื้อเชือดังกล่าวมี

ความล่าช้าทำให้การพัฒนาวิธีเทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* ไม่เป็นไปตามแผนที่กำหนดไว้

8. ประโยชน์ที่ได้รับจากการดำเนินการพัฒนาบริการ

การพัฒนาวิธีเทคนิค Real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* ช่วยให้ห้องปฏิบัติการ สสช.และ ศวพ. มีวิธีทดสอบทางเลือกที่รวดเร็ว แม่นยำและเป็นไปตามมาตรฐานสากลซึ่งเป็นประโยชน์แก่ผู้รับบริการและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องดังนี้

8.1 ห้องปฏิบัติการมีวิธีการทดสอบในการตรวจวินิจฉัยโรค CEM เพิ่มขึ้น

8.2 วิธีที่การทดสอบที่พัฒนาใช้ระยะเวลาในการตรวจวินิจฉัยที่ลดลง จากเดิมที่วิธีการเพาะแยกเชื้อใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 3 วัน ซึ่งวิธี Real-time PCR ใช้เวลาในการทดสอบ 1 วัน

8.2 สามารถนำข้อมูลผลการตรวจวินิจฉัยไปประกอบการออกใบรับรองด้านสุขภาพสัตว์

8.3 ทราบผลการตรวจวินิจฉัยได้อย่างรวดเร็วและสามารถนำผลการตรวจวินิจฉัยไปประกอบการนำเข้าส่งออกสัตว์ได้ทันตามระยะเวลาที่กำหนด ตามระเบียบข้อกฎหมายที่เกี่ยวข้อง

9. การสร้างความยั่งยืนและการขยายผลไปยังหน่วยงานอื่น ๆ

สสช. มีการประชาสัมพันธ์ให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภายในและภายนอกกรมปศุสัตว์ได้รับทราบและเผยแพร่ข้อมูลประชาสัมพันธ์วิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Taylorella equigenitalis* ทางช่องทางติดต่อสอบถาม บนเว็บไซต์ของ สสช. และหน่วยงานในสังกัด

10. บทเรียนที่ได้รับจากการดำเนินการพัฒนาบริการ คืออะไร

ด้วยสถานการณ์การระบาดของโรคในสัตว์ในภาวะปัจจุบันมีแนวโน้มเกิดมากขึ้นทุกปี ห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นในการเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการในการตรวจวินิจฉัย โดยเฉพาะเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญมากขึ้น โดยมีการคัดเลือกวิธีทดสอบตามมาตรฐานสากลและมีการทดสอบความใช้ได้ของวิธีและการทวนสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามมาตรฐานวิธีทดสอบ ก่อนจะนำวิธีการทดสอบดังกล่าวมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยจะช่วยให้ห้องปฏิบัติการและผู้รับบริการมีความมั่นใจในผลการทดสอบดังกล่าว นอกจากนี้ยังเป็นการเตรียมการสำหรับเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ เพื่อให้พร้อมสำหรับการยื่นขอการรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทดสอบ ISO/IEC 17025 ในอนาคต ซึ่งจะช่วยลดการกีดกันทางการค้าสำหรับประเทศคู่ค้าในระดับนานาชาติ อันจะส่งผลดีต่อเศรษฐกิจของประเทศในอนาคต