|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ผู้จัดทำ :………………………….  (นางสาวนันทิยา ใหญ่ยงค์)  นักเทคนิคการแพทย์ | ผู้ทบทวน :…………………….  (นางวันเพ็ญ อุทัยพร)  นักเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดการวิชาการ | ผู้อนุมัติ :…………………….  (นางวชิราภรณ์ ทองเทศ)  ผู้จัดการคุณภาพหัวหน้างานชันสูตรสาธารณสุข |

**ประวัติการแก้ไข**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| วัน เดือน ปี  ที่ใช้ | แก้ไขครั้งที่ | หน้าที่แก้ไข | รายละเอียดการแก้ไข | ผู้แก้ไข | ผู้อนุมัติ |
| 3 เมษายน 2556 | 0 | - | เอกสารออกใหม่ | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

### การตรวจเสมหะ เพื่อหาเชื้อวัณโรค

### 1. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจวินิจฉัยขั้นต้นของโรค Pulmonary tuberculosis สำหรับการติดเชื้อวัณโรคปอด โดยการย้อมสีด้วยวิธี Acid Fast Bacilli Staining

### 2. หลักการ

ใช้ในการตรวจหาเชื้อวัณโรค (Mycobcaterium tuberculosis) จากเสมหะของผู้ป่วยสำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

**3. วิธีการตรวจ**

Slide method

##### 4. เอกสารอ้างอิง

##### คู่มือปฏิบัติการตรวจทางห้องปฏิบัติการจุลวิทยาคลินิค

**5. คำนิยามและคำย่อ**

-

**6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

**-**

**7. ความปลอดภัย**

- สวมเสื้อคลุมทุกครั้งที่ปฏิบัติงาน

- สวมถุงมือทุกครั้งที่สัมผัสสิ่งส่งตรวจ

#### 8. เครื่องมือเครื่องใช้

1. กล้องจุลทรรศน์
2. glass slide
3. ไม้ขีดไฟ
4. immersion oil
5. กระดาษเช็ดเลนส์
6. ตะเกียงแก๊ส
7. สีย้อม carbol fuchsin , Acid Alcohol, Methylene blue
8. นาฬิกาจับเวลา

**9. น้ำยาและสารมาตราฐาน**

carbol fuchsin

Acid Alcohol

Methylene blue

**10. วิธีดำเนินการ**

เชื้อ Mycobacteria เป็นเชื้อที่ผนังเซลล์มีไขมันเป็นองค์ประกอบเป็นจำนวนมาก การย้อมด้วย Gram’s stain ตามขั้นตอนปกติ ไม่สามารถทำให้แทรกซึมเข้าไปจับกับผนังเซลล์ได้ โดยทั่วไป นิยมใช้ Acid – fast stain ซึ่งใช้สีจะจับกับไขมันในผนังเซลล์ได้ดีกว่าและเมื่อจับแล้วแม้จะล้างด้วย Acid Alcohol สีก็ไม่หลุดออกมา แบคทีเรียชนิดอื่นก็สามารถจับสีย้อมไว้ได้เช่นเดียวกัน แต่สีที่จับไว้ได้นี้จะหลุดหมดเมื่อล้างด้วย Acid-Alcohol ในการตรวจเบื้องต้นจึงมีประโยชน์มาก

1. นำเสมหะจากผู้ป่วยมา smear ให้เป็นก้นหอย เป็นวงรีกว้าง ๆ ประมาณ 4 x4 cm. และบางเป็นชั้นเดียวบน slide ฝ้าใหม่ๆ ที่สะอาดปราศจากไขมัน ทิ้งให้แห้งนำไปผ่านเปลวไฟที่ด้านล่างของ slide 2-3 ครั้ง เพื่อให้smear เสมหะติดแน่นบน slide

2. หยดสี carbol fuchsin ให้ท่วม บริเวณที่ smear ของ slide

ใช้ไฟลนใต้ slide จนสี carbol fuchsin เป็นไอขึ้น (ระวังอย่าให้เดือด) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที (ถ้าสีแห้งให้เติมสีแล้วลนไฟใหม่)

3. เทสีส่วนเกินออก ล้างด้วยน้ำประปา

4.ล้างสีด้วย Acid Alcohol โดยราดทับให้ท่วม slide นานประมาณ 1 นาที จะได้ smear ใส หรือสีชมพูเรื่อ ๆ

5.ล้างด้วยน้ำประปา

6. ย้อมทับด้วยสี Methylene blue ให้สีท่วม smear นานประมาณ 1 นาที

7. ล้างด้วยน้ำประปา ทิ้ง slide ไว้ให้แห้ง (ห้ามเป่า)

8. นำ slide ดังกล่าว ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 x

**11.การควบคุมคุณภาพ**

ทำ Internal control สีย้อมทุกวันจันทร์หรือวันแรกของสัปดาห์

**12. การรายงานผลและการแปลผล**

AFB not seen จำนวนเชื้อที่พบ 0 / 100 fields

AFB seen จำนวนเชื้อที่พบ 0 – 9 / 100 fields

AFB seen 1+ จำนวนเชื้อที่พบ 10-99 /100 fields

AFB seen 2+ จำนวนเชื้อที่พบ 1-10 / 50 fields

AFB seen 3+ จำนวนเชื้อที่พบ >10 / fields in 20 fields

**13. ค่าปกติ**

Not found

**14. ข้อควรระวัง**

ในการ fix เซลล์ในสไลด์ ไม่ควรเผาสไลด์โดยตรง เพราะทำให้เซลล์ผิดรูป แต่แค่นำไปผ่านเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ก็พอ

**15. ข้อควรรู้**

**วิธีการเก็บเสมหะมี 2 วิธี**

1. spot sputum คือ เสมหะที่เก็บเมื่อเวลาที่ผู้ป่วยมาทำการรักษา
2. morning sputum หรือ collection sputum คือการเก็บเสมหะทันที เมื่อผู้ป่วยตื่นนอนก่อนแปรงฟัน เป็นเสมหะที่ดี มีโอกาสตรวจพบเชื้อสูง เพราะเป็นเสมหะที่สะสมอยู่ในหลอดลมตลอดทั้งคืน

* การเก็บเสมหะแบบ spot sputum หากเก็บได้ถูกต้องก็จะได้ผลดีพอ ๆ กับการเก็บแบบcollection sputum
* ภาชนะที่ใส่เสมหะ ควรเป็นตลับปากกว้าง มีฝาปิดแน่น ไม่หกรั่วไหลง่าย
* ควรตรวจอย่างน้อย 3 ครั้งติดต่อกัน และควรเป็น morning sputum หรือ collection sputum อย่างน้อย 1 ครั้งในการตรวจเสมหะอย่างน้อย 3 ครั้ง ติดต่อกัน