|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 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 | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

### การตรวจ Malaria

### 1. วัตถุประสงค์

เพื่อใช้เป็นวิธีการปฏิบัติงานตรวจหาเชื้อมาเลเรีย (Malaria) สำหรับห้องปฏิบัติการงานโลหิตวิทยาในโรงพยาบาล ทำให้การปฏิบัติงานมีประสิทธิภาพ

### 2. หลักการ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยมาเลเรียจะใช้การย้อมสีฟิล์มเลือดในการตรวจหาเชื้อมาเลเรีย ซึ่งการทำฟิล์มเลือดจะมี 2 แบบ คือ แบบ Thick film และแบบ Thin film โดยทั้ง 2 แบบ สามารถใช้ในการตรวจหาเชื้อมาเลเรียได้ ซึ่งจะต้องจำแนกชนิด species และแยกระยะต่างๆ ของเชื้อมาเลเรีย พร้อมทั้งต้องนับจำนวนเชื้อมาเลเรีย เพื่อรู้ถึงความรุนแรงของโรค และติดตามการรักษา

**3. วิธีการตรวจ**

Slide method

##### 4. เอกสารอ้างอิง

4.1 เพ็ญนภา ชมะวิต .คู่มือปฏิบัติการ วิชา MT 3613 ปรสิตวิทยาทางการแพทย์ 1 .สมุทรปราการ: กลุ่มวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิกและปรสิตวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ , 2548.

4.2 คู่มือการตรวจทางห้องปฏิบัติการ สำหรับห้องปฏิบัติการ หอผู้ป่วยสามัญ ภาควิชาอายุรศาสตร์

**5. คำนิยามและคำย่อ**

P. = Plasmodium

**6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

- หนังสือคู่มือการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

**7. ความปลอดภัย**

- สวมเสื้อคลุมทุกครั้งที่ปฏิบัติงาน

- สวมถุงมือทุกครั้งที่สัมผัสสิ่งส่งตรวจ

- ปฏิบัติตามหลัก Uriversal Precaution

#### 8. เครื่องมือเครื่องใช้

8.1 glass slide

8.2 Cover glass

8.3 สีย้อม Wright – Giemsa

8.4 EDTA Blood

8.5 น้ำยาและสารมาตราฐาน

8.6 นาฬิกาจับเวลา

8.7 oil immersion

8.8 กล้องจุลทรรศน์

8.9 ดินสอเขียนแก้ว

**10. วิธีดำเนินงาน**

10.1 การเตรียมฟิล์มเลือด

10.1.1 เขียน Lab Number, ชื่อผู้ป่วย ที่ปลายสไลด์

10.1.2 แบ่งสไลด์ ออกเป็น 2 ส่วน สำหรับ ฟิล์มเลือดแบบบาง และแบบหนา

10.1.3 หยดเลือดบนสไลด์ 1-2 หยด ขนาดเท่ากับหัวไม้ขีดไฟ บริเวณท้ายสไลด์เกลี่ยให้เป็นพื้นที่วงกลมขนาดรัศมี 1 cm สำหรับ **ฟิล์มเลือดหนา (Thick film)** และหยดเลือดบนสไลด์ 1 หยด ขนาด เท่ากับหัวไม้ขีดไฟ (บริเวณปลายสไลด์) ใช้แผ่นสไลด์ที่มีขอบเรียบไถสเมียร์หยดเลือดนั้น ให้ได้แผ่นฟิล์มเลือดที่บาง สำหรับ **ฟิล์มเลือดบาง** ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งสนิท แล้วจึงนำไปย้อมด้วยสี Giemsa

10.2 การย้อมสี Giemsa

10.2.1 นำแผ่นสไลด์สเมียร์ด้านเลือด ฟิล์มเลือดบาง ไป Fix ด้วย Methyl alcohol โดยการจุ่มแผ่นสไลด์สเมียร์เลือดทิ้งไว้ 1 นาที ใน Methyl alcohol ส่วนฟิล์มเลือดหนา ไม่

ต้อง Fix

10.2.2 ผสมสี Giemsa กับ buffer โดยสี Giemsa 2 หยด กับ Buffer 30 หยด (1:15)

ผสมกันเป็น working Giemsa นำ แผ่นสไลด์สเมียร์เลือดที่ Fix ด้วย Methyl alcohol แล้วไป

วางพาดบนแท่นรองรับสไลด์

10.2.3 หยดสีให้ท่วม สเมียร์เลืยด ทั้งฟิล์มเลือดบาง และฟิล์มเลือดหนา ทิ้งไว้ 10 นาที ล้างด้วยน้ำประปา เป่าให้แห้งดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

10.3 การตรวจสเมียร์เลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขนาย 100X ปฏิบัติ

ดังนี้ (เชื้อ Plasmodium spp. จะเห็น Chromatin ติดสีแดงม่วง Cytoplasm ติดสีฟ้า )

10.3.1 แบบฟิล์มหนา ตรวจดูอย่างน้อย 100 fields

10.3.2 แบบฟิล์มบาง ตรวจดูอย่างน้อย 200 fields

10.3.3 พื้นที่ตรวจนับจะต้องมีการกระจายตัวของเม็ดเลือดแดงสม่ำเสมอประมาณ

150-200 เชลล์ต่อวง แล้วนับ จำนวนเชลล์แต่ละวงกล้องรวมกันทั้งหมด ภายใต้จำนวนเม็ด

เลือดแดงไม่น้อยกว่า 1,000 เชลล์

10.3.4 การตรวจฟิล์มเลือดที่ย้อมสีแล้ว

ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X ในฟิล์มเลือดบางเลือกดูบริเวณที่

เม็ดเลือดแดง เรียงกั้นชั้นเดียว และอยู่ติดกัน ถ้าไม่พบเชื้อในฟิล์มเลือดบางให้ตรวจซ้ำใน

ฟิล์มเลือดหนาทุกครั้ง โดยเลือกดูบริเวณที่เม็ดเลือดขาวติดสีม่วงเข้มออกแดง

**11.การควบคุมคุณภาพ**

ทำ Internal control สีย้อมทุกวันจันทร์หรือวันแรกของสัปดาห์

**12. การรายงานผลและการแปลผล**

รายงานชนิด ระยะ และจำนวนเชื้อต่อ 2,000 RBC

**13. ค่าปกติ**

Not found

**14. ข้อควรระวัง**

-กรณีที่เชื้อมีปริมาณน้อยอาจตรวจไม่พบเชื้อ