คู่มือการตรวจทางห้องปฏิบัติการ สำหรับห้องปฏิบัติการ หอผู้ป่วยสามัญ ภาควิชาอายุรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

- ข้อแนะนำทั่วไปในการปฏิบัติ 1
- การตรวจเลือด 5
- การตรวจปัสสาวะ 10
- การตรวจอุจจาระ 14
- การตรวจน้ำไขสันหลัง 15
- การตรวจสารน้ำต่าง ๆ 18
- การตรวจทางจุลชีววิทยา 19
- การตรวจทางผิวหนัง 23
- รายชื่อคณะผู้จัดทำ คู่มือการตรวจทางห้องปฏิบัติการ หอผู้ป่วยสามัญ ภาควิชาอายุรศาสตร์ 2546 25

ข้อแนะนำทั่วไปในการปฏิบัติ

- **การดูแลตัวเองของผู้ปฏิบัติ**

การดูแลตัวเองของผู้ปฏิบัติให้ปลอดภัย มีหลักที่ต้องตระหนักและคำนึงถึง คือ

1. อุบัติเหตุเป็นสิ่งที่ป้องกันได้
2. ความปลอดภัยของการทำงานเกิดจากความชำนาญ ความระมัดระวัง และการบริหารจัดการที่ดี
3. การป้องกันอันตรายต่อผู้เกี่ยวข้อง และการป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรคสู่สิ่งแวดล้อม เป็นสิ่งที่ทุกคนต้องรับผิดชอบร่วมกัน คือ
   - 3.1 ต้องสันนิษฐานเสมอว่า มีเชื้อติดต่อ (infectious agent) ในสิ่งส่งตรวจ
   - 3.2 ต้องล้างมือทุกครั้งหลังหยิบจับวัสดุมีเชื้อ และไม่สัมผัสกับพื้นผิวที่สะอาด เช่น โทรศัพท์
   - 3.3 กำจัดวัสดุติดเชื้อที่หกหล่นภายในเครื่องมือเครื่องใช้ที่ใช้ร่วมกัน เช่น เครื่อง centrifuge
4. ให้ความสำคัญ และปฏิบัติตามระเบียบปฏิบัติของห้องปฏิบัติการ เช่น
   - 4.1 ใช้เครื่องมือเครื่องใช้ที่เสริมสร้างความปลอดภัย เช่น อุปกรณ์ที่ใช้ป้องกันตัว ได้แก่ เสื้อกาวน์ ถุงมือ ผ้ากันเปื้อน เป็นต้น
   - 4.2 ไม่ดูดไปเปตต์ด้วยปากเปล่า ต้องใช้เครื่องช่วยดูด
   - 4.3 รู้วิธีการใช้และรู้ถึงอันตรายของสารเคมีที่ไวไฟ และสารเคมีที่เป็นพิษ
   - 4.4 เรียนรู้ทำความเข้าใจและให้ความสำคัญต่อข้อจำกัดของการใช้อุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ และไม่ปล่อยเครื่องมือทำงานโดยลำพัง หรือละทิ้งให้มีปฏิกิริยาดำเนินไปโดยปราศจากผู้ดูแล
   - 4.5 ไม่เคลื่อนย้ายเครื่องมือในห้องปฏิบัติการก่อนได้รับอนุญาต
   - 4.6 ต้องปฏิบัติตามระเบียบ วิธีทำ และข้อบังคับที่กำหนดไว้เท่านั้น อย่าทำวิธีลัด เพราะอาจเกิดปัญหาที่ไม่สามารถแก้ไขได้
   - 4.7 ไม่รับประทานอาหาร เครื่องดื่ม ของขบเคี้ยวในห้องปฏิบัติการ รวมถึงห้ามเก็บอาหาร เครื่องดื่มในตู้เย็นที่มีสิ่งส่งตรวจอยู่
   - 4.8 กำจัดของเสีย ขยะมูลฝอย อย่างถูกวิธีในภาชนะรองรับที่ถูกต้อง
   - 4.9 รายงานสิ่งที่พบเห็น และ/หรือแนะนำถึงความไม่ปลอดภัยให้ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการทราบ โดยแจ้งที่ ฝ่ายการศึกษาฯ ตึกอัษฎางค์ ชั้น 4 โทรศัพท์ 7773 (ในเวลาราชการ)

- **การดูแลความสะอาดทั่วไป**

1. **ผู้ปฏิบัติงานการทดสอบ**
   - 1.1 หลังจากปฏิบัติงาน ต้องจัดเก็บวัสดุอุปกรณ์ ให้เป็นระเบียบ
   - 1.2 สไลด์ที่ย้อมแล้ว และต้องการที่จะเก็บไว้ดูซ้ำ ให้เก็บในกล่องเก็บสไลด์ที่ได้จัดเตรียมไว้ให้ โดยระบุชื่อและวันที่ให้ชัดเจน เจ้าหน้าที่ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการจะทิ้งสไลด์ที่อยู่นอกกล่องและไม่มีการระบุไว้
   - 1.3 ทิ้งขยะมูลฝอย ในภาชนะรองรับให้ถูกต้องตามข้อกำหนดของคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
   - 1.4 แช่หลอดทดลองที่ใช้แล้วในถังน้ำยาฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้ให้
2. **เจ้าหน้าที่ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการ**
   - 2.1 จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ให้เพียงพอและพร้อมใช้ ทุกวัน
   - 2.2 ทำความสะอาดหลอดทดลองที่ใช้แล้ว สัปดาห์ละ 3 ครั้ง
   - 2.3 ทำความสะอาดขวดสีย้อม และเปลี่ยน dropper เดือนละ 1 ครั้ง
3. **คนงานประจำหอผู้ป่วย**
   - 3.1 ทำความสะอาดพื้นห้อง และ เคาน์เตอร์
   - 3.2 ช่วยจัดเก็บขยะมูลฝอย เพื่อนำไปทิ้ง

- **การดูแลรักษาครุภัณฑ์**

1. **กล้องจุลทรรศน์**
   1.1 ทำความสะอาดส่วนประกอบต่างๆของกล้องจุลทรรศน์ที่ไม่ใช่เลนส์ โดยใช้ผ้านิ่ม ๆ ชุบน้ำพอหมาด เช็ดทำความสะอาด
   1.2 ทำความสะอาดเลนส์ต่าง ๆ โดยใช้สำลีชุบน้ำยาทำความสะอาดเลนส์ (absolute alcohol ผสมกับ ether ในอัตราส่วน 3 ต่อ 7) แล้วใช้กระดาษเช็ดเลนส์เช็ดอีกครั้ง
   1.3 ตรวจสอบทั่วไป ให้อยู่ในสภาพที่ใช้งานได้
2. **เครื่อง** centrifuge
   2.1 ทำความสะอาด โดยใช้ผ้าก๊อซชุบ 95% alcohol เช็ดทำความสะอาดทั้งภายนอก และในช่องสำหรับใส่หลอดทดลอง
   2.2 ตรวจสอบทั่วไป ให้อยู่ในสภาพที่ใช้งานได้
3. **เครื่องปั่น** Hematocrit
   3.1 ใช้แปรงปัดเอาเศษ hematocrit tube ที่แตกออกจากเครื่อง
   3.2 หลังจากนั้น ใช้ผ้าก๊อซชุบ 95% alcohol เช็ดทำความสะอาด
   3.3 ตรวจสอบทั่วไป ให้อยู่ในสภาพที่ใช้งานได้
4. **เครื่องวัดค่า** Hematocrit
   4.1 ทำความสะอาด โดยใช้ผ้าก๊อซชุบ 95 % alcohol เช็ดทำความสะอาด
   4.2 ตรวจสอบทั่วไป ให้อยู่ในสภาพที่ใช้งานได้
5. Refractometer
   5.1 ล้างทำความสะอาดบริเวณ cover plate และผิวของ prism ด้วยน้ำเปล่า แล้วใช้ผ้าก๊อซเช็ดให้แห้ง
   5.2 ตรวจสอบทั่วไป ให้อยู่ในสภาพที่ใช้งานได้

- **การทิ้งขยะมูลฝอยและสิ่งส่งตรวจ**

1. **ขยะมูลฝอยติดเชื้อ** (infectious waste) ที่เป็นของเหลวหรือสารคัดหลั่ง เช่น ส่วนประกอบของเลือด สารน้ำจากร่างกาย ชิ้นเนื้อ เนื้อเยื่อที่ได้จากการทำหัตถการ รวมถึงวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการบริการทางการแพทย์ เช่น สำลี ผ้าก๊อซ ถุงมือ กระบอกฉีดยาพลาสติก ผ้าปิดปากและจมูก เป็นต้น ให้ทิ้งในถุงสีส้ม ในภาชนะรองรับที่มีฝาปิดมิดชิด ใช้เท้าเหยียบเพื่อปิดเปิด
2. **ขยะมูลฝอยของมีคมติดเชื้อ** เช่น เข็ม ใบมีด สไลด์ แผ่นกระจกปิดสไลด์ หลอดแก้ว และเครื่องมือที่แหลมคมต่าง ๆ ให้ใส่ในภาชนะทำจากวัสดุที่ไม่สามารถแทงทะลุได้ และติดป้าย “ของมีคมติดเชื้อ” เมื่อจะขนย้ายให้ใส่ในถุงสีส้ม ในภาชนะรองรับที่มีฝาปิดมิดชิด ใช้เท้าเหยียบเพื่อปิดเปิด
3. **ขยะมูลฝอยที่เป็นของเหลว**
   3.1 ขยะมูลฝอยที่เป็นสารเคมี ต้องทำให้เจือจางมาก ก่อนทิ้งลงท่อน้ำทิ้ง
   3.2 สิ่งส่งตรวจ เช่น ปัสสาวะ ให้ทิ้งลงท่อน้ำทิ้งได้เลยและเปิดน้ำตาม
   3.3 สิ่งส่งตรวจอื่นๆ เช่น เลือดในหลอดทดลอง ให้ใส่ในภาชนะทำจากวัสดุที่ไม่สามารถแทงทะลุได้ ติดป้าย “ของมีคมติดเชื้อ” เมื่อจะขนย้ายให้ใส่ในถุงสีส้ม ในภาชนะรองรับที่มีฝาปิดมิดชิด ใช้เท้าเหยียบเพื่อปิดเปิด

• รายชื่อครุภัณฑ์ในห้องปฏิบัติการ

1. กล้องจุลทรรศน์
2. เครื่อง centrifuge
3. เครื่องปั่น Hematocrit
4. เครื่องวัดค่า Hematocrit
5. Refractometer

• รายชื่อวัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

1. กระดาษกรอง
2. กระดาษเช็ดเลนส์
3. กระดาษทิชชู
4. กระดาษลิตมัส
5. กล่องเก็บสไลด์
6. ขวดงวงช้าง (ขวดพลาสติก)
7. ขวดน้ำยา และสารเคมี (ขวดสีชา)
8. ดินน้ำมัน
9. ตะเกียง
10. ถังขยะมูลฝอยติดเชื้อ
11. ถังน้ำยาฆ่าเชื้อ (Virkon 1:1000) สำหรับแช่หลอดทดลอง
12. ถาดวางสไลด์
13. ถาดวางสิ่งส่งตรวจ
14. ถุงมือ
15. เทปกาว
16. น้ำยาฆ่าเชื้อ
17. แปรงทำความสะอาดเครื่องแก้ว
18. แผ่นกระจกปิดสไลด์แก้ว
19. ภาชนะทิ้งขยะมูลฝอยของมีคมติดเชื้อ
20. ไม้ขีดไฟ
21. ไม้จิ้มฟัน
22. ลูกยาง
23. สไลด์แก้ว
24. หลอดทดลอง
25. Clamp
26. Hematocrit capillary tube
27. Medicine dropper
28. Pasteur's pipette
29. Rack

• รายชื่อสารเคมี

- Gram stain:	Gentian violet	Gram iodine
	95 % alcohol	1% safranin
- Wright stain:	Wright stain reagent	
- Acid fast และ	Kinyoun reagent	Acid alcohol
modified stain:	Methylene blue	2% sulfuric acid
- India ink stain:	India ink	
- White cell count:	10% acetic acid	
- Urine examination:	Robert's reagent	Benedict reagent
- Others:	Normal saline	Oil immersion
	Pandy solution	Sterile water

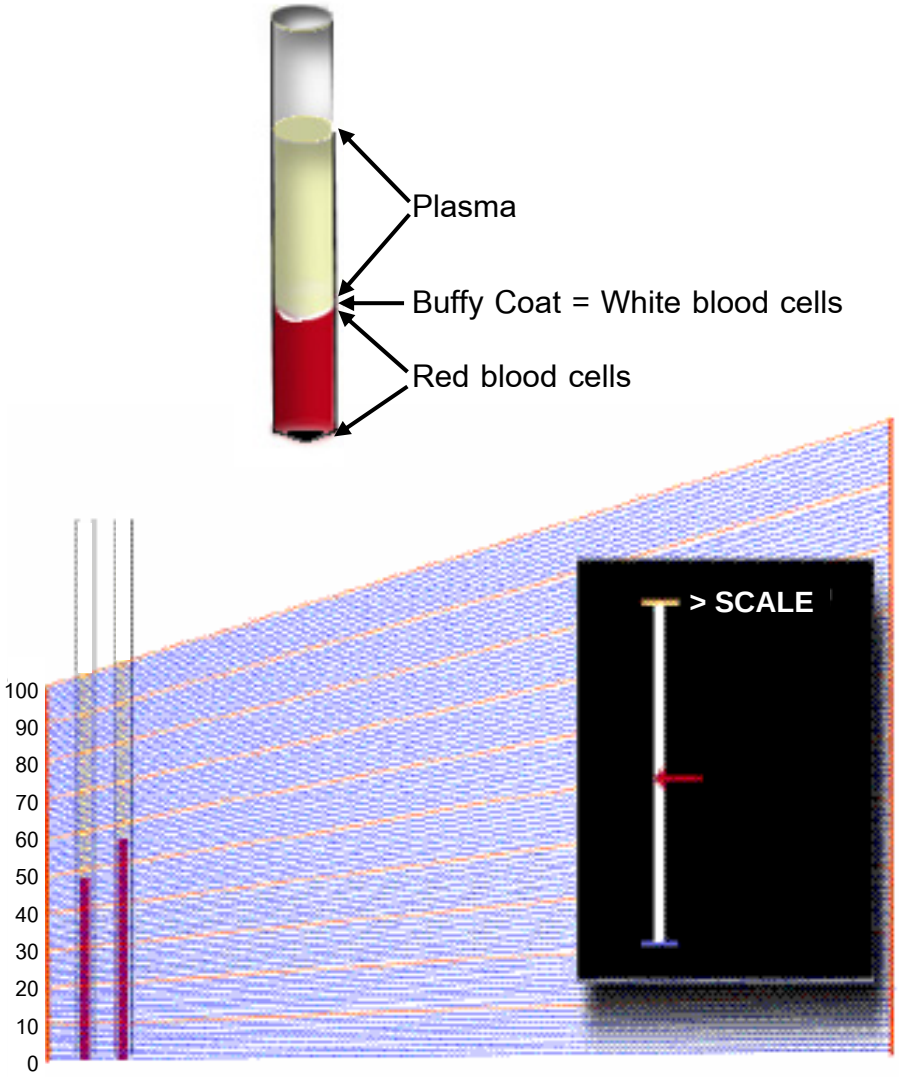
• การเก็บและส่งสิ่งส่งตรวจ

ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	การเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อการเพาะแยกเชื้อ	การนำส่งห้องปฏิบัติการ
Blood	โดยใช้วิธี Aseptic technique	ภายใน 2 ชม.
- Septicemia	- เจาะเลือดใส่ขวด hemoculture 2-3 ขวด ขวดละ 5 มล ห่างกัน 15 นาที - 1 ชม.โดยเจาะจากตำแหน่งที่ต่างกัน	อุณหภูมิห้อง
- FUO	- เจาะเลือดใส่ขวด hemoculture 3 ขวด ขวดละ 5 มล ในเวลาต่างกัน ภายใน 24 ชม. โดยควรเจาะในเวลาก่อนที่ไข้จะเริ่มขึ้น 1-2 ชม.	
- Subacute endocarditis		

ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	การเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อการเพาะแยกเชื้อ	การนำส่งห้องปฏิบัติการ
Body fluid	- ใช้วิธี Aseptic technique เก็บสิ่งส่งตรวจในขวดปลอดเชื้อ และส่งห้องปฏิบัติการทันที	ภายใน 15 นาที อุณหภูมิห้อง
* ในกรณีที่ต้องการส่งตรวจน้ำไขสันหลัง ที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาประสาทวิทยา ถ้าเป็นวันหยุดราชการ หรือภายหลังเวลา 14.00 น. ให้แช่ในตู้เย็นที่ 4–8° C แล้วนำส่งตรวจในเวลาราชการ แต่ถ้าต้องการส่งเพื่อเพาะเชื้อ ให้เก็บที่อุณหภูมิห้องเท่านั้น		
Respiratory tract		
- Nasopharynx, Pharynx	- ใช้ swab ชุบ NSS ให้ชุ่มพอหมาด ๆ ก่อนนำไปเก็บสิ่งส่งตรวจ แล้วใส่ใน transport media หรือป้ายลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อทันที	ภายใน 2 ชม. อุณหภูมิห้อง
- Bronchoalveolar lavage	- เก็บใส่ขวดปลอดเชื้อ	
- Sputum	- ให้ผู้ป่วยบ้วนปาก กลั้วคอด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้ง ก่อนเก็บเสมหะใส่ลงในขวดปลอดเชื้อ	
- Endotracheal aspirate	- ควร suction ล้างด้วย NSS 2-3 ครั้ง ก่อนที่จะ suction เสมหะใส่ลงในขวดปลอดเชื้อ	
Genital tract	- ใช้ swab ชุบ NSS ให้ชุ่มพอหมาด ๆ ก่อนนำไปเก็บสิ่งส่งตรวจ แล้วใส่ใน transport media	ภายใน 2 ชม. อุณหภูมิห้อง
Gastrointestinal tract		
- Rectal swab	- สอด swab ให้ผ่าน anal sphincter เข้าไปอย่างน้อย 2.5 ซม. แล้วใส่ใน transport media	ภายใน 2 ชม. อุณหภูมิห้อง
- Stool	- เก็บส่วนที่มีมูกเลือด ใส่ในขวดสะอาดและแห้ง ปิดฝาให้สนิท	

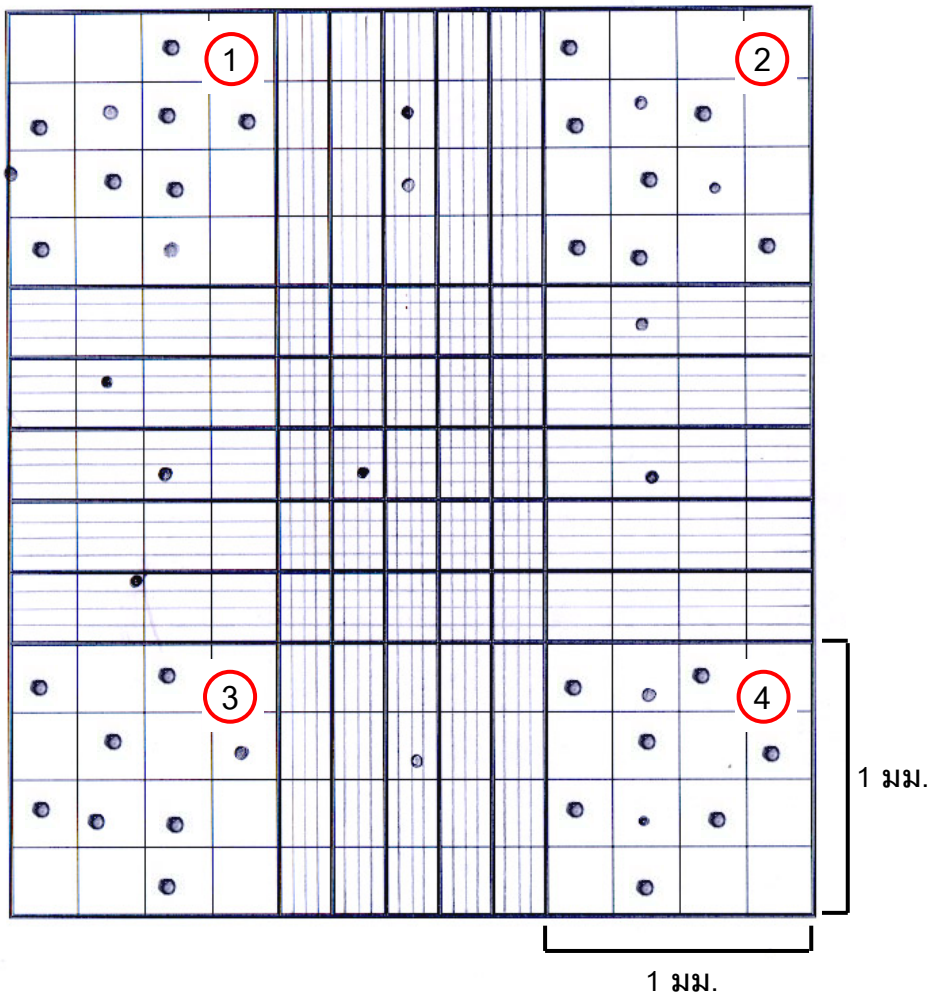
ชนิดของสิ่งส่งตรวจ	การเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อการเพาะแยกเชื้อ	การนำส่งห้องปฏิบัติการ
Urine		
- Clean voided midstream	- ทำความสะอาดภายนอกด้วยสบู่ ล้างน้ำให้สะอาด เช็ดให้แห้ง ถ่ายปัสสาวะส่วนแรกทิ้ง แล้วเก็บปัสสาวะใส่ลงขวดปลอดเชื้อ ปิดฝาให้สนิท	ภายใน 2 ชม. ในตู้เย็นที่ 4°C
- Indwelling catheter	- ใช้วิธี aseptic technique โดยนำ syringe ดูดปัสสาวะจาก catheter ส่วนที่ใกล้ตัวประมาณ 5 มล. เก็บใส่ขวดปลอดเชื้อ ปิดฝาให้สนิท	
- Straight catheter	- ใช้วิธี aseptic technique โดยทิ้งปัสสาวะส่วนแรกที่ไหลออกมา ประมาณ 15 มล. ก่อน แล้วจึงเก็บปัสสาวะใส่ขวดปลอดเชื้อ ปิดฝาให้สนิท	
Pus	- ถ้ามีปริมาณน้อย ใช้ swab ชุบ NSS ให้ชุ่มพอหมาด ๆ ก่อนนำไปเก็บสิ่งส่งตรวจ แล้วใส่ใน transport media - ถ้ามีปริมาณมากให้เก็บในขวดปลอดเชื้อ โดยใช้วิธี aseptic technique	ภายใน 2 ชม. อุณหภูมิห้อง
	- ถ้าต้องการส่งเพาะแยกเชื้อ anaerobe ให้เก็บสิ่งส่งตรวจจนเต็มขวด (ไม่ให้มีช่องว่างอากาศ) ปิดฝาให้สนิท	นำส่งโดยเร็วที่สุด
- **ชิ้นเนื้อ** - **ปลายสาย** IV catheter	- ใช้วิธี aseptic technique ตัดชิ้นเนื้อหรือปลายสาย IV catheter เก็บใส่ขวดปลอดเชื้อที่มี sterile NSS อยู่ก้นขวดเล็กน้อยพอชุ่ม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งส่งตรวจแห้งก่อนถึงห้องปฏิบัติการ (ห้ามใช้ formalin)	ภายใน 15นาที อุณหภูมิห้อง

การตรวจเลือด



Hematocrit

1. ถ้าตรวจจากปลายนิ้ว ให้ใช้สำลีชุบ alcohol เช็ดทำความสะอาดบริเวณปลายนิ้วที่จะเจาะ ปล่อยให้แห้ง เช็ดเลือดหยดแรกทิ้งไปก่อน แล้วจึงบีบนิ้วให้ได้หยดเลือดโตพอสมควรก่อนนำ capillary tube ไปดูดให้ได้เลือดประมาณ 3 ใน 4 ของ tube
2. ถ้าตรวจจากเลือดในขวด EDTA ต้องเขย่าเลือดในขวดให้ผสมกันดีก่อนการดูดเลือดเข้าไปใน capillary tube จุ่มปลายข้างหนึ่งของ capillary tube ลงในขวดเลือด ดูดให้ได้เลือดประมาณ 3 ใน 4 ของ tube
3. อุดปลายด้านหนึ่งด้วยดินน้ำมัน
4. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่น hematocrit ที่ความเร็ว 10,000 – 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (ต้อง Balance tube ทุกครั้งที่ใช้เครื่องปั่น)
5. อ่านค่า โดยใช้เครื่องวัดค่า hematocrit
6. นำ capillary tube ที่อ่านแล้วทิ้งลงในภาชนะ “ ของมีคม ติดเชื้อ “ และใส่ในถุงขยะสีส้ม



การนับจำนวนเม็ดเลือดขาวใน WBC count chamber

นับใน 4 ช่องใหญ่ที่มุม ในกรณีที่เม็ดเลือดอยู่บนเส้นใน chamber ให้นับทะแยงแค่ 2 ด้าน เช่น นับเฉพาะด้านบนและด้านซ้าย เป็นต้น

White Blood Cell (WBC) Count

1. เขย่าเลือดในขวด EDTA ให้ผสมกันดี
2. ใช้ WBC count pipette ดูดเลือดถึงขีด 0.5 เช็ดปลายและด้านนอกให้สะอาด แล้วจึงดูดน้ำยานับเม็ดเลือดขาว (10% acetic acid) ถึงขีด 11
3. เขย่า pipette นาน 3 นาที
4. ปล่อยน้ำยาใน pipette ทิ้ง 2-3 หยด แล้วหยดใส่ใน chamber
5. นำไปนับเม็ดเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยาย 10 เท่า และปรับ diaphragm เพื่อหรี่แสง
6. เมื่อนับเม็ดเลือดเสร็จเรียบร้อยแล้ว ปรับไฟกล้องให้มาอยู่ที่ไฟหรี่สุด ก่อนปิดสวิทซ์กล้อง
7. ทำความสะอาด chamber เช็ดให้แห้ง และเก็บเข้าที่ให้เรียบร้อย

การคำนวณ

ปริมาตร 1 ช่องใหญ่ที่มุม = 1 x 1 x 0.1 ลบ.มม. = 0.1 ลบ.มม.

นับรวมกัน 4 ช่อง ปริมาตร = 0.1 x 4 ลบ.มม.

ถ้านับได้ N ตัว จะมีเม็ดเลือดขาว = N / (4 x 0.1) ลบ.มม.

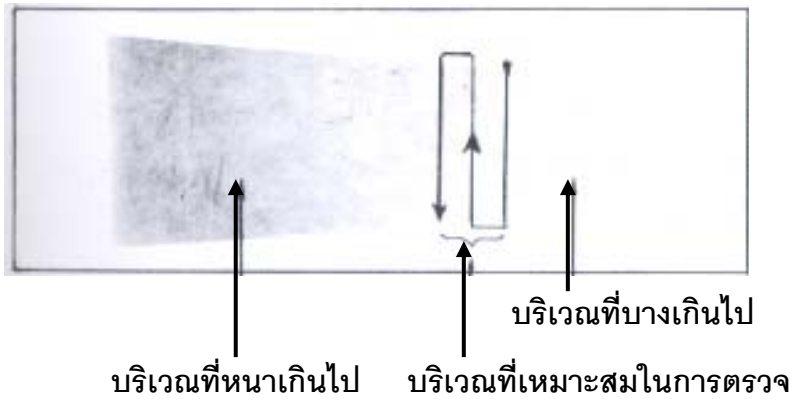
dilution ที่ใช้ = 20 ดังนั้น

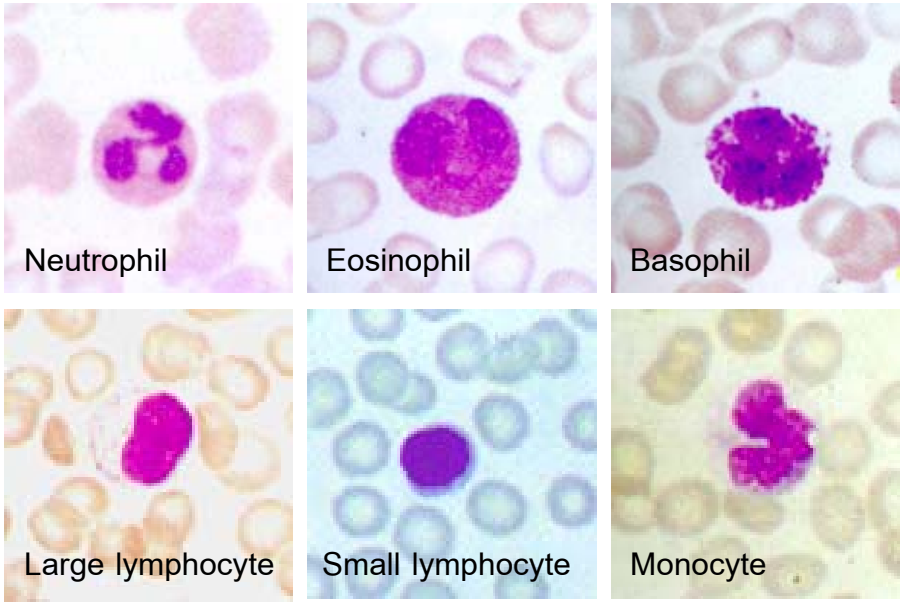
จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด = (20 x N) / (4 x 0.1) = N x 50 ลบ.มม.

ค่าปกติของ WBC = 4,500–11,000 เซลล์ต่อ ลบ.มม. (4.5–11 x 10^9 / L)

หมายเหตุ

ถ้าตรวจพบ nucleated red cell (NRC) ใน blood smear จะต้องนำมาหักออกจาก leukocyte (WBC) count ด้วยทุกครั้ง





การย้อม Blood Smear

1. อย่าลืมเขียนวันที่ ชื่อ นามสกุลของผู้ป่วยที่แผ่นสไลด์ทุกครั้ง เพื่อป้องกันการผิดพลาด
2. วางสไลด์ blood smear ลงบนแท่งแก้วที่พาดเหนือถาดย้อม
3. หยดสี Wright ลงบน blood smear ให้ท่วมสไลด์พอดี
4. จับเวลา 4 นาที
5. หยดน้ำกลั่นลงไปประมาณเท่าตัว ให้สีและน้ำผสมกันดี
6. จับเวลา 4 นาที
7. ล้าง blood smear ด้วยน้ำธรรมดา จนตะกอนหมด รอให้สไลด์แห้ง
8. นำไปอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 10 เท่าก่อนเสมอ แล้วจึงดูด้วยกำลังขยาย 100 เท่า
9. เมื่อตรวจและบันทึกผลเรียบร้อยแล้ว นำสไลด์ออกจากกล้อง ปรับไฟกล้องให้มาอยู่ที่ไฟหรี่สุด ก่อนปิดสวิทซ์กล้อง

Plasmodium falciparum **1**: Normal red cell; **2-18**: Trophozoites (2-10 are ring-stage trophozoites); **19-26**: Schizonts (26 is a ruptured schizont); **27, 28**: Mature macrogametocytes (female); **29, 30**: Mature microgametocytes (male)

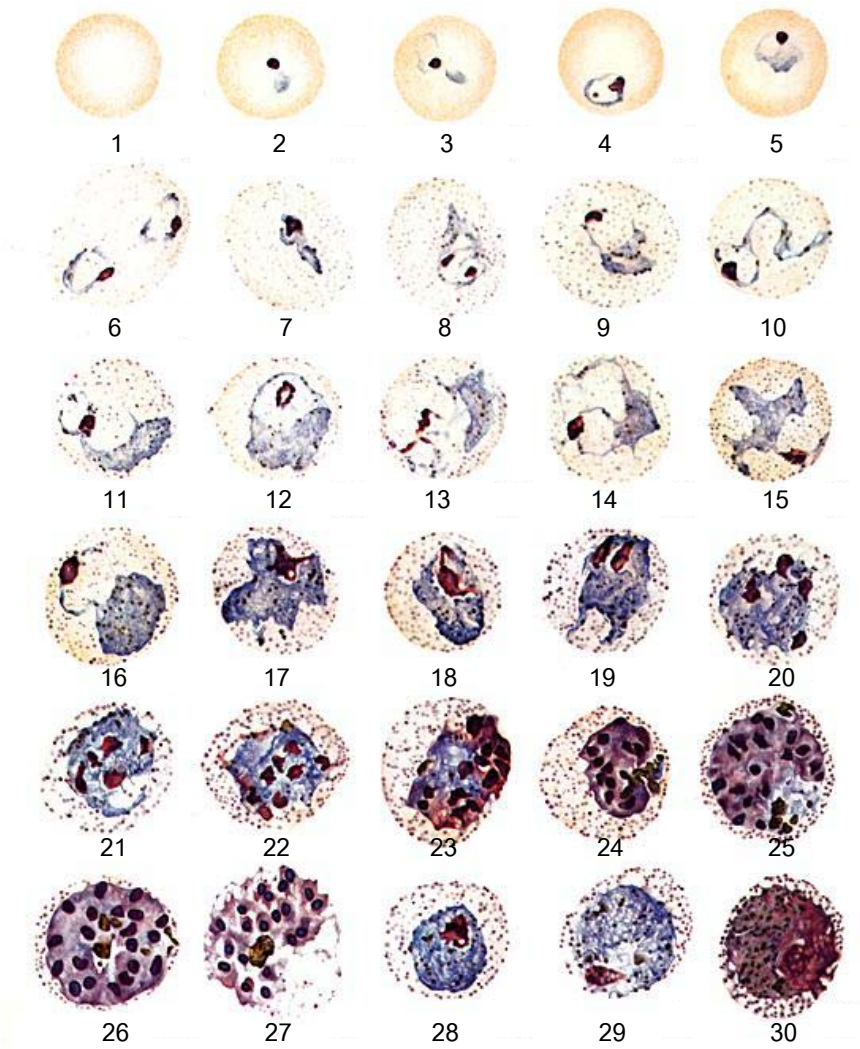
การย้อมเพื่อตรวจหาเชื้อมาลาเรีย

การย้อม Thin film ด้วย Field's stain

1. เตรียมฟิล์มเลือดเช่นเดียวกับการย้อม blood smear
2. นำสไลด์ fix ใน methanol นาน 3 นาที แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
3. นำสไลด์ย้อมใน Field's stain solution B 1-5 วินาที
4. ล้างน้ำให้สะอาด
5. นำสไลด์ย้อมใน Field's stain solution A 1-5 วินาที
6. ล้างน้ำให้สะอาด
7. ตั้งสไลด์ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การย้อม Thick film ด้วย Wright's stain

1. หยดเลือด 2-3 หยดลงบนสไลด์
2. ใช้ไม้จิ้มฟัน smear หยดเลือดให้แผ่เป็นวง เส้นผ่าศูนย์กลาง ~ 2 ซม. ซึ่งฟิล์มเลือดที่หนาพอเหมาะจะมองทะลุเห็นตัวหนังสือข้างใต้ได้ เมื่อนำไปวางบนกระดาษ
3. นำสไลด์ที่เตรียมไว้ ไปจุ่มน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง เพื่อละลายเอา hemoglobin ออก ทิ้งสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
4. นำสไลด์ไปย้อมโดยใช้ Wright's stain 1 ส่วน และ น้ำกลั่น 2 ส่วน ใช้เวลา 3 นาที
5. ล้างน้ำให้สะอาด
6. ตั้งสไลด์ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์



Plasmodium vivax 1: Normal red cell; 2-6: Young trophozoites (ring stage parasites); 7-18: Trophozoites; 19-27: Schizonts; 28, 29: Macrogametocytes (female); 30: Microgametocyte (male)

การอ่านผล

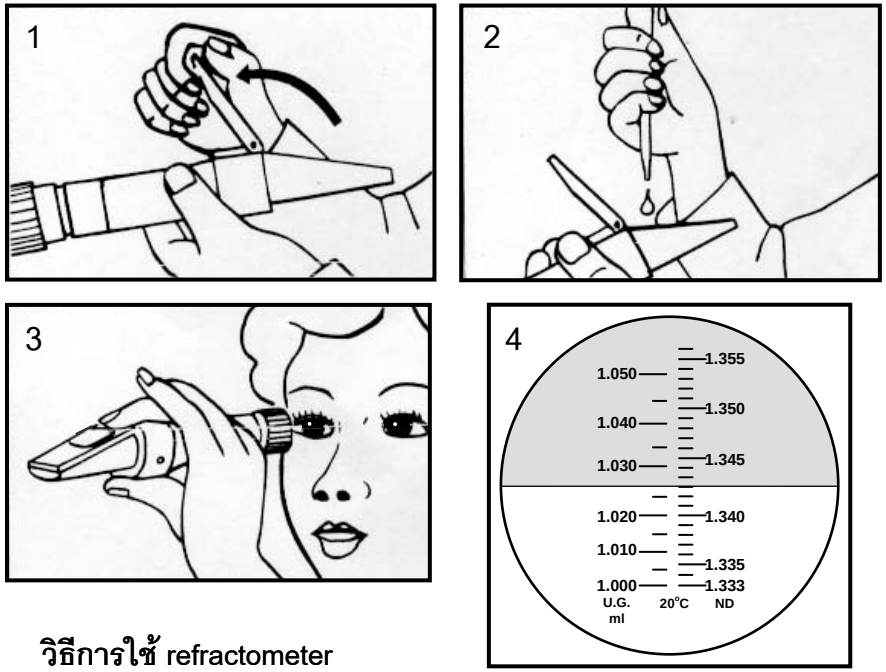
1. Thin blood film

- เลือกตรวจบริเวณใกล้ปลายฟิล์มเลือด ที่เม็ดเลือดแดงมีขนาดไม่ใหญ่เกินไปและไม่ซ้อนกัน โดยเฉลี่ยมีเม็ดเลือดแดง 200-250 เซลล์ต่อ oil fields
- ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเลนส์ oil immersion ควรตรวจอย่างน้อย 100 oil fields หรือประมาณ 8-10 นาที
- วินิจฉัยระยะและ species ของเชื้อมาลาเรียโดยดูรูปร่างลักษณะของเชื้อและเปรียบเทียบขนาดของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อกับเม็ดเลือดแดงปกติ
- นับจำนวนเชื้อต่อ 1,000 RBC โดยนับแยกระยะของเชื้อแต่ละ species

2. Thick blood film

- เลือกตรวจบริเวณที่พบ WBC 3-5 เซลล์ต่อ oil field และนิวเคลียสติดสีม่วงแดง
- ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยเลนส์ oil immersion ควรตรวจอย่างน้อย 50 oil fields หรือประมาณ 10 นาที
- วินิจฉัยเชื้อมาลาเรียโดยดูรูปร่างลักษณะของเชื้อ และเปรียบเทียบขนาดของเชื้อกับขนาดของเม็ดเลือดขาว
- นับจำนวนเชื้อต่อ 200 WBC โดยนับแยกระยะของเชื้อแต่ละ species ที่พบ หรือรายงานผลอย่างคร่าวๆ โดยใช้ plus system ตามหลักเกณฑ์ดังนี้

1 +	จำนวนเชื้อ	1-10 ตัว ต่อ 100 oil fields
2 +	จำนวนเชื้อ	11-100 ตัว ต่อ 100 oil fields
3 +	จำนวนเชื้อ	1-10 ตัว ต่อ oil field
4 +	จำนวนเชื้อ	> 10 ตัว ต่อ oil field



วิธีการใช้ refractometer

สารที่มีผลต่อค่า urine specific gravity	Molecular Weight (Da)
1. NaCl	58.5
2. Urea	60.0
3. Creatinine	113.12
4. Glucose	180.0
5. Radiocontrast agent (Omnipague)	821.14
6. Albumin	68,000

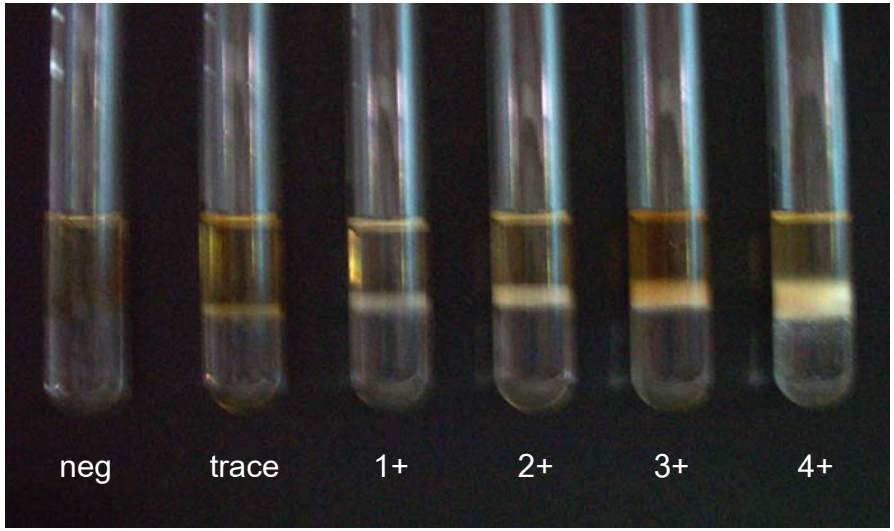
การตรวจปัสสาวะ

ความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะ (Urine specific gravity)

1. ทำความสะอาดที่ cover plate และผิว prism ของเครื่อง refractometer ด้วยน้ำกลั่น 1 หยด และเช็ดให้แห้ง ก่อนใช้ทุกครั้ง
2. ตั้งจุดศูนย์ของเครื่อง โดยเปิด cover plate และหยดน้ำกลั่น 1 หยด บน prism ปิด cover plate อ่านผลผ่าน eyepiece โดยปรับเสกลจนตัวเลขค่าความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 1.000
3. เช็ด cover plate และผิวของ prism ให้แห้ง
4. เปิด cover plate หยดปัสสาวะ 1 หยด บน prism ปิด cover plate
5. อ่านค่าความถ่วงจำเพาะ ตรงเส้นตัดชัดเจนบนสเกล
6. เช็ดปัสสาวะออก ทำความสะอาด cover plate และผิวของ prism ด้วยน้ำกลั่น เช็ดให้แห้ง และเก็บเข้าที่ให้เรียบร้อย

ข้อพึงทราบ

1. Urine specific gravity เป็นการวัดความหนาแน่น (density) เทียบกับน้ำบริสุทธิ์ มีค่าแปรตามปริมาณของ solute รวมทั้งขนาดและน้ำหนัก (molecular weight) ส่วน urine osmolality เป็นการวัด particle number จึงมีค่าแปรตามปริมาณของสารเท่านั้น
2. การวัด urine specific gravity ควรทำที่อุณหภูมิห้อง ค่าจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น



False positive	False negative
Contrast media	Highly buffered alkaline urine
Antibiotics in high concentration, e.g. penicillin and cephalosporin derivatives	Dilute urine

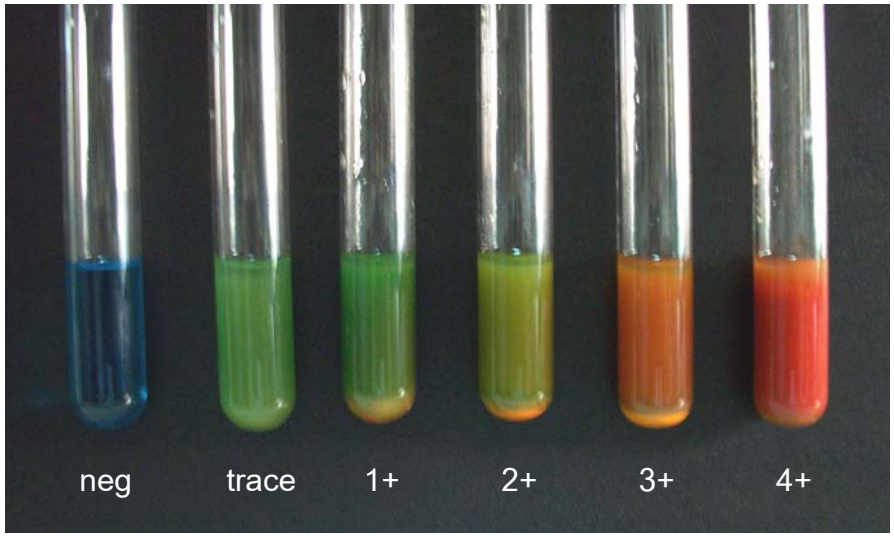
Uncentrifuged turbid urines อาจทำให้เกิดได้ทั้ง false positive และ false negative - ให้ทดสอบโดยใช้ urine supernatant

Urine Protein

1. ใส่ปัสสาวะในหลอดทดลองแก้วที่สะอาดประมาณ 2-3 มล.
2 ตะแคงหลอดทดลองประมาณ 45° แล้วใช้ pipette ดูด Robert's reagent ในปริมาณเท่าๆ กับปัสสาวะ ใส่ในหลอดทดลอง ค่อยๆ ปล่อยให้ Robert's reagent ไหลไปอยู่ใต้ชั้นของปัสสาวะ
3 ถ้าเกิดวงขาวขึ้น แสดงว่ามีโปรตีนในปัสสาวะ
4 ถ้าไม่แน่ใจว่ามีวงขาวเกิดขึ้นหรือไม่ ให้ใช้ฉากหลังเป็นสีดำ จะอ่านผลได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

การอ่านผล

Negative	ไม่มีสีขาวเกิดขึ้น
Trace	เป็นวงขาวจาง ๆ ต้องเทียบกับฉากสีดำ
1+	เห็นวงขาวชัดด้วยตาเปล่า
2+	เห็นวงขาวชัด เมื่อส่องดูกับไฟ
3+	เห็นวงขาวหนา เมื่อดูจากปากหลอด
4+	เห็นวงขาวทึบมาก เมื่อดูจากปากหลอด



False positive	False negative
Presence of hydrogen peroxide, bacterial peroxidases (e.g. cystitis), hypochlorite และ chlorine ทำให้เกิด false positive reactions Formaldehyde	Ascorbic acid ในปริมาณสูง ยา เช่น salicylates และ tetracycline

Urine Sugar

ใส่น้ำยา Benedict 5 มล. ในหลอดทดลองแก้วที่สะอาด

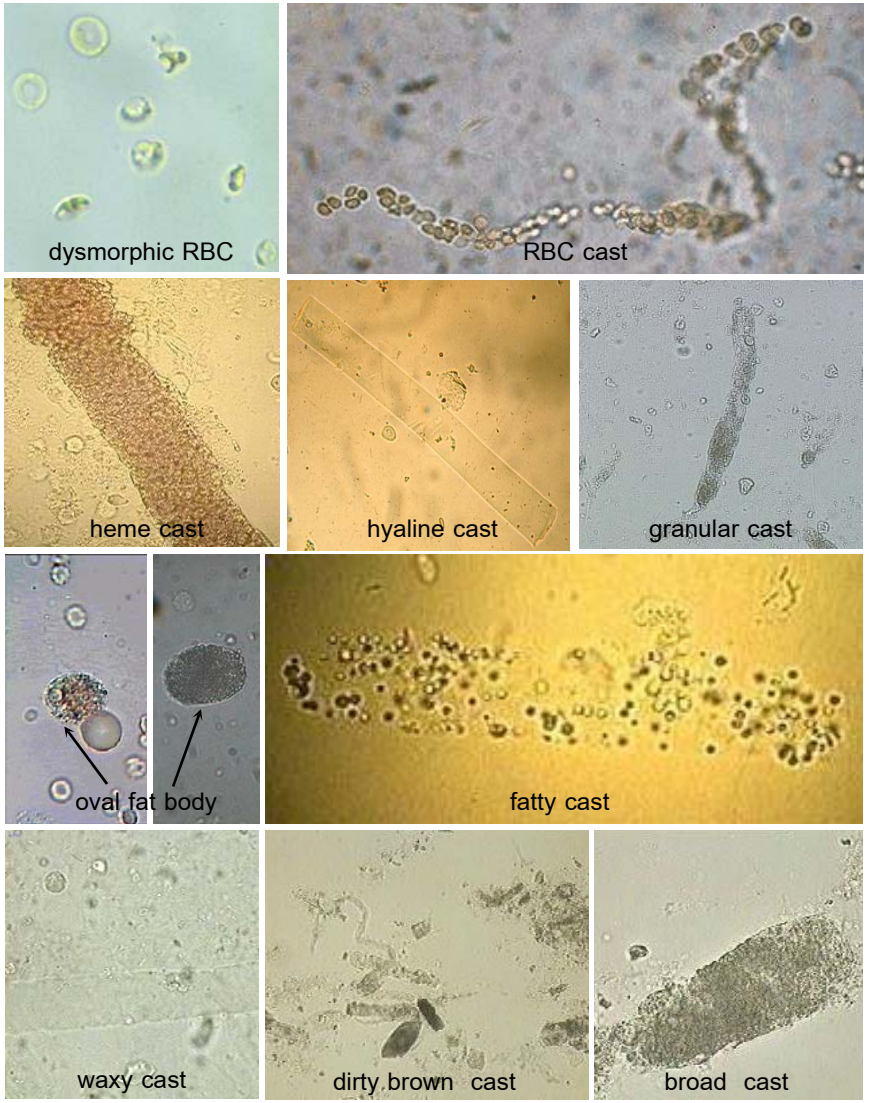
เติมปัสสาวะ 8 หยด หรือ 0.5 มล. ลงในหลอดแก้ว

เขย่าให้เข้ากัน

ต้มด้วยตะเกียง alcohol จนเดือด หรือแช่ในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จึงอ่านผล

การอ่านผล

Negative	สีน้ำเงินไม่เปลี่ยน หรือปนเขียวเล็กน้อย ไม่มีตะกอน
Trace	สีตองอ่อน ไม่มีตะกอน
1+	สีเขียว ตะกอนเหลือง
2+	สีเขียวอมเหลือง ตะกอนเหลือง
3+	สีเหลือง ถึง ส้ม ตะกอนเหลือง
4+	สีแสด ถึง แดง ตะกอนสีแดงอิฐ

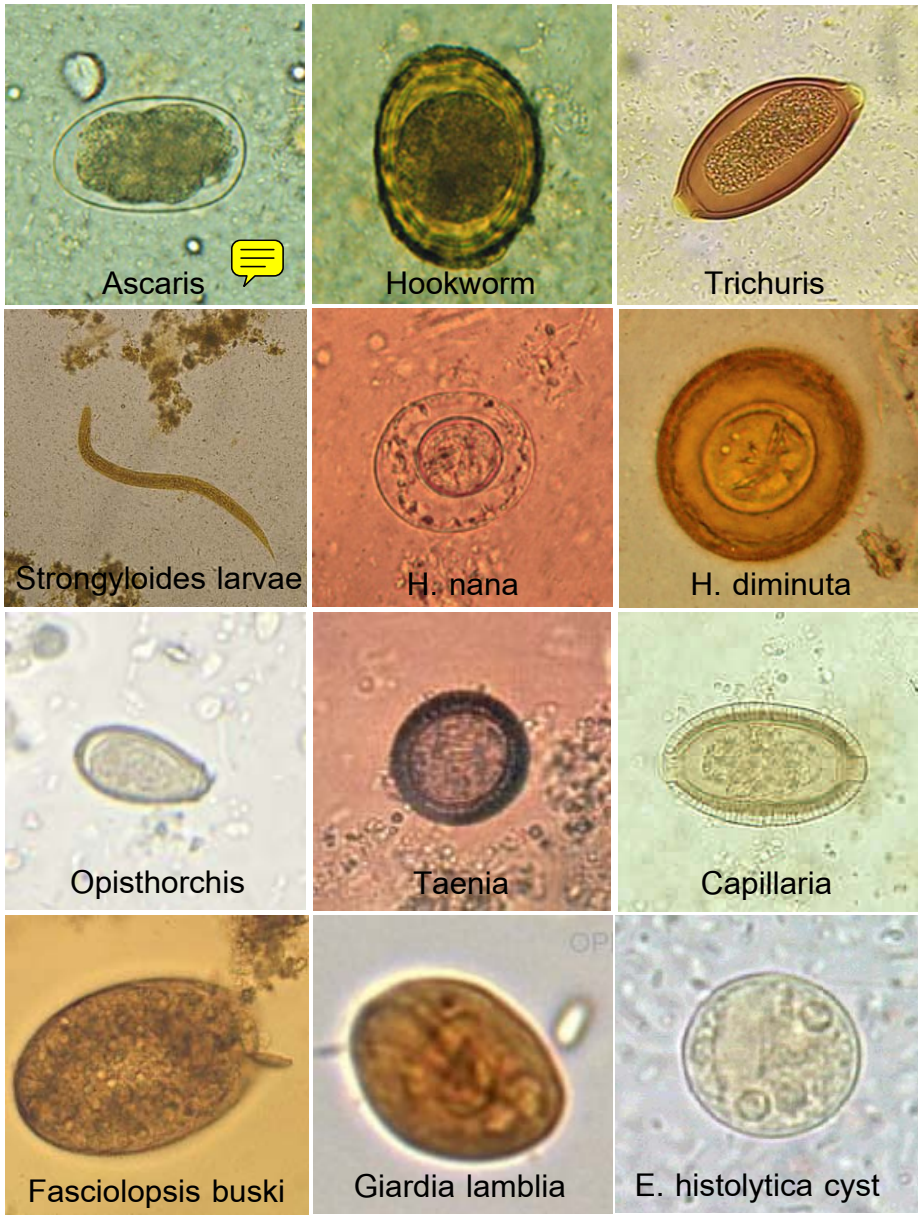


Urine Sediment

1. ใส่ปัสสาวะประมาณ 10 มล. ในหลอดทดลองแก้วที่สะอาด
2. ปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที
3. เทน้ำใสส่วนบนทิ้ง ให้เหลือตะกอนของปัสสาวะประมาณ 1 มล. เขย่าส่วนที่เหลือให้เข้ากันเบา ๆ
4. ใช้ pipette ดูดตะกอน แล้วหยดลงบนสไลด์สะอาด 1 หยด ปิดด้วย cover slip
5. ตรวจดูตะกอนของปัสสาวะด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 10 เท่าก่อนเสมอ แล้วจึงดูด้วยกำลังขยาย 40 เท่า
6. เมื่อตรวจและบันทึกผลเรียบร้อยแล้ว นำสไลด์ออกจากกล้อง ปรับไฟกล้องให้มาอยู่ที่ไฟหรี่สุด ก่อนปิดสวิทซ์กล้อง
7. นำสไลด์ที่ตรวจดูเสร็จแล้ว แช่ไว้ในภาชนะที่มีน้ำยาฆ่าเชื้อบรรจุอยู่

การแปลผล

1. Nephritic urine: พบมี proteinuria เล็กน้อย
   มี dysmorphic RBC, RBC cast หรือ heme cast
2. Nephrotic urine: พบมี proteinuria มาก, oval fat body, fatty cast, etc.
3. Nephrotic-nephritic urine: พบมีลักษณะในข้อ 1 + 2
4. Telescopic urine: พบมีลักษณะในข้อ 1 + 2 ร่วมกับ broad cast
5. Acute renal failure: พบมี tubular cell และ dirty brown (muddy) cast
6. Chronic renal failure: พบมี proteinuria เล็กน้อย, broad cast



การตรวจอุจจาระ

Direct Smear

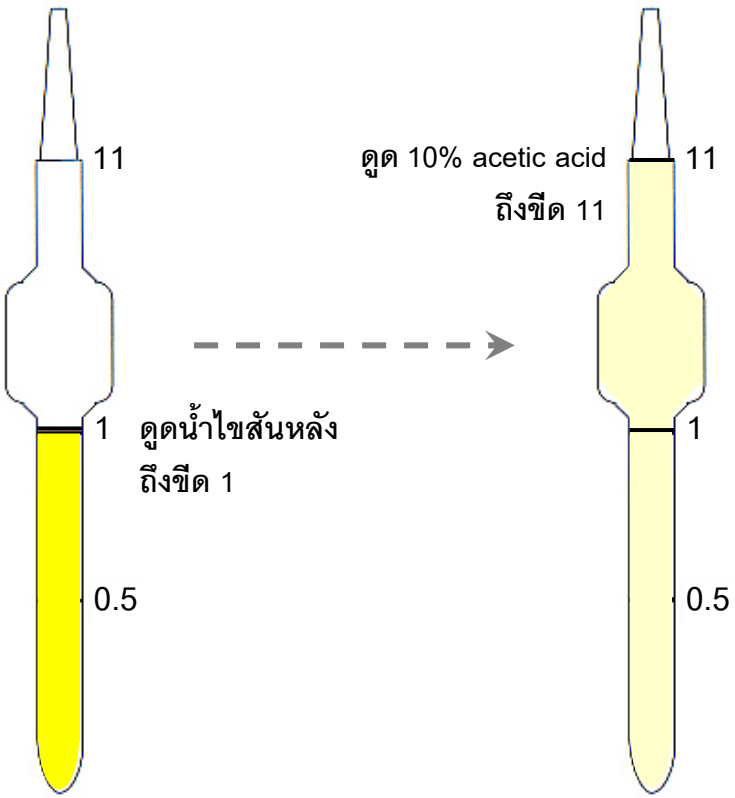
1. หยดน้ำเกลือ (NSS) 1 หยดลงกลางแผ่นสไลด์ที่สะอาด
2. ใช้ไม้เขี่ยอุจจาระหลายๆแห่ง โดยเฉพาะบริเวณที่มีมูกเลือดหรือหนอง ปริมาณอุจจาระที่นำมาตรวจนั้นใช้ประมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟ
3. smear อุจจาระในหยดน้ำเกลือบนสไลด์ให้ละลายไม่เป็นก้อน
4. ปิด cover glass บนสไลด์ พยายามอย่าให้มีฟองอากาศใต้ cover glass ซึ่งสไลด์ที่หนาพอเหมาะจะมองทะลุเห็นตัวหนังสือข้างใต้ได้ เมื่อนำไปวางบนกระดาษ
5. ตรวจสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ให้ทั่วแผ่น โดยเริ่มจากกำลังขยายต่ำและกำลังขยายที่สูงขึ้น
8. เมื่อพบตัวอ่อนของหนอนพยาธิหรือพบโปรโตซัว ให้หยดน้ำยาไอโอดีน 1 % ลงข้าง cover glass จะทำให้เห็นรูปร่างลักษณะได้ชัดเจนขึ้น
9. เมื่อตรวจและบันทึกผลเรียบร้อยแล้ว นำสไลด์ออกจากกล้อง ปรับไฟกล้องให้มาอยู่ที่ไฟหรี่สุด ก่อนปิดสวิทช์กล้อง
10. นำสิ่งส่งตรวจและสไลด์ที่ใช้แล้ว ทิ้งลงในถุงขยะสีส้ม

การรายงานผล

พบปรสิตชนิดใดและในระยะใด

จำนวนเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง ต่อ high power field

การ dilute น้ำไขสันหลัง (1:10)

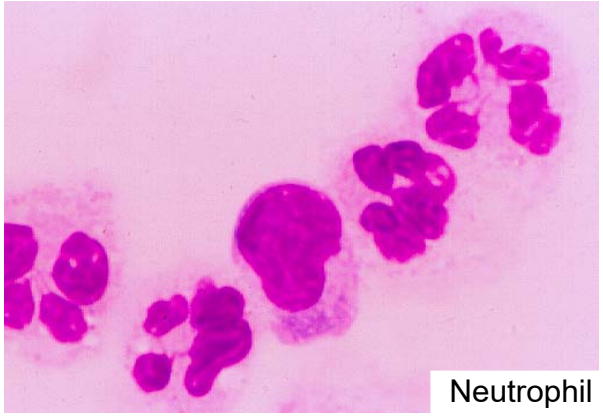


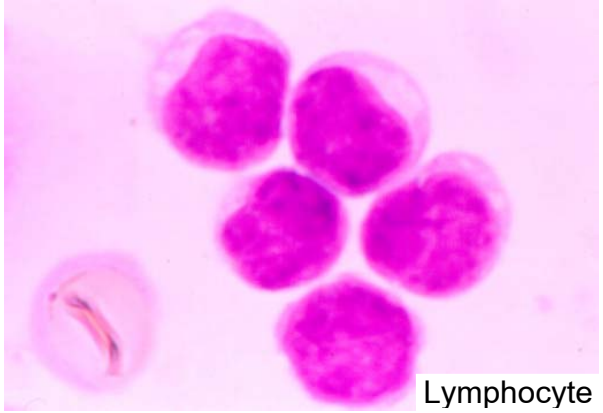
การตรวจน้ำไขสันหลัง

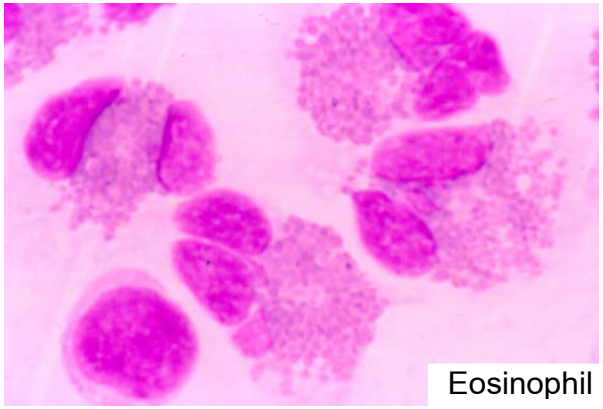
การนับจำนวนเซลล์ในน้ำไขสันหลัง

การนับจำนวนเซลล์ในน้ำไขสันหลัง ควรทำทันทีหลังเจาะหลังซึ่งทำได้โดย

1. ถ้าน้ำไขสันหลังขุ่นไม่มาก
   1.1 หยดน้ำไขสันหลังลงใน WBC chamber นับเซลล์ใน 9 ช่องใหญ่
   1.2 คำนวณค่าเป็น จำนวนเซลล์ต่อ ลบ.มม.โดยคูณด้วย 10 หารด้วย 9
2. ถ้าน้ำไขสันหลังขุ่นมาก ควรเจือจางก่อนโดย
   2.1 ใช้ WBC count pipette ดูดน้ำไขสันหลังจนถึงขีด 0.5 หรือ 1 ซึ่งแล้วแต่ความขุ่นของน้ำไขสันหลัง ว่ามากน้อยเพียงใด
   2.2 ดูดน้ำยา 10 % acetic acid ตามถึงขีด 11 (dilution 1:20 หรือ 1:10 ตามลำดับ)
   2.3 ทิ้งส่วนผสม 3-4 หยดแรก แล้วจึงนับเซลล์ใน WBC chamber
   2.4 คำนวณค่าเป็น จำนวนเซลล์ต่อ ลบ.มม.โดยคูณด้วย dilution factor
3. ถ้าน้ำไขสันหลังมีเม็ดเลือดแดงปน ให้ปฏิบัติดังนี้
   3.1 นับเซลล์ทั้งหมดโดยไม่เจือจาง จะได้จำนวน WBC และ RBC รวมกัน
   3.2 Dilute ด้วย 10 % acetic acid (dilution 1:10) แล้วนับ WBC ใน 9 ช่องใหญ่ คำนวณเป็นจำนวนเซลล์ต่อ ลบ.มม. แล้วคูณด้วย 10
   3.4 นำไปหักออกจากจำนวนเซลล์ทั้งหมดข้างต้น ก็จะได้จำนวน RBC

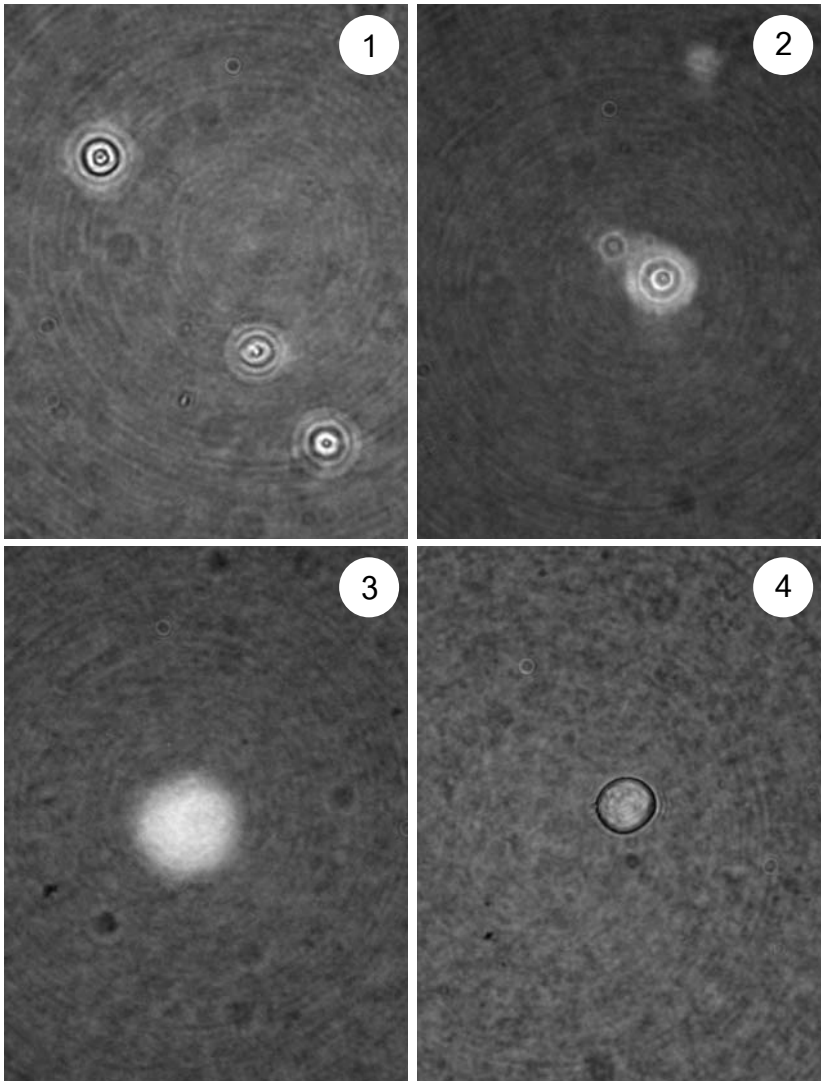

Neutrophil


Lymphocyte


Eosinophil

Differential Cell Count ในน้ำไขสันหลัง

1 ใช้ pipette ดูดน้ำไขสันหลัง ใส่ในหลอดทดลองแก้วที่สะอาดและแห้ง
2 ปั่นที่ความเร็วต่ำ 500-1,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที
3. เมื่อปั่นเสร็จ เทน้ำส่วนบนออก (อาจใช้ส่งตรวจหา protein หรือ sugar ได้)
4. เขย่าส่วนที่เหลือให้เข้ากันเบาๆ
5. ใช้ pipette ดูดไปหยดบนสไลด์ 1 หยด แล้ว smear เป็นวงรี
6. วางสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
7. นำไปย้อมโดยหยด Wright stain ลงจนท่วมสไลด์ แล้วเติมน้ำกลั่นทันทีในอัตราส่วน 1:1
8. ทิ้งไว้ 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ เช็ดด้านหลังสไลด์ให้สะอาด
9. นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์
10. เมื่อตรวจและบันทึกผลเรียบร้อยแล้ว นำสไลด์ออกจากกล้อง ปรับไฟกล้องให้มาอยู่ที่ไฟหรี่สุด ก่อนปิดสวิทช์กล้อง



รูปแสดง India ink preparation. 1: yeasts, 2: budding yeast, 3: white blood cell, 4: artifacts

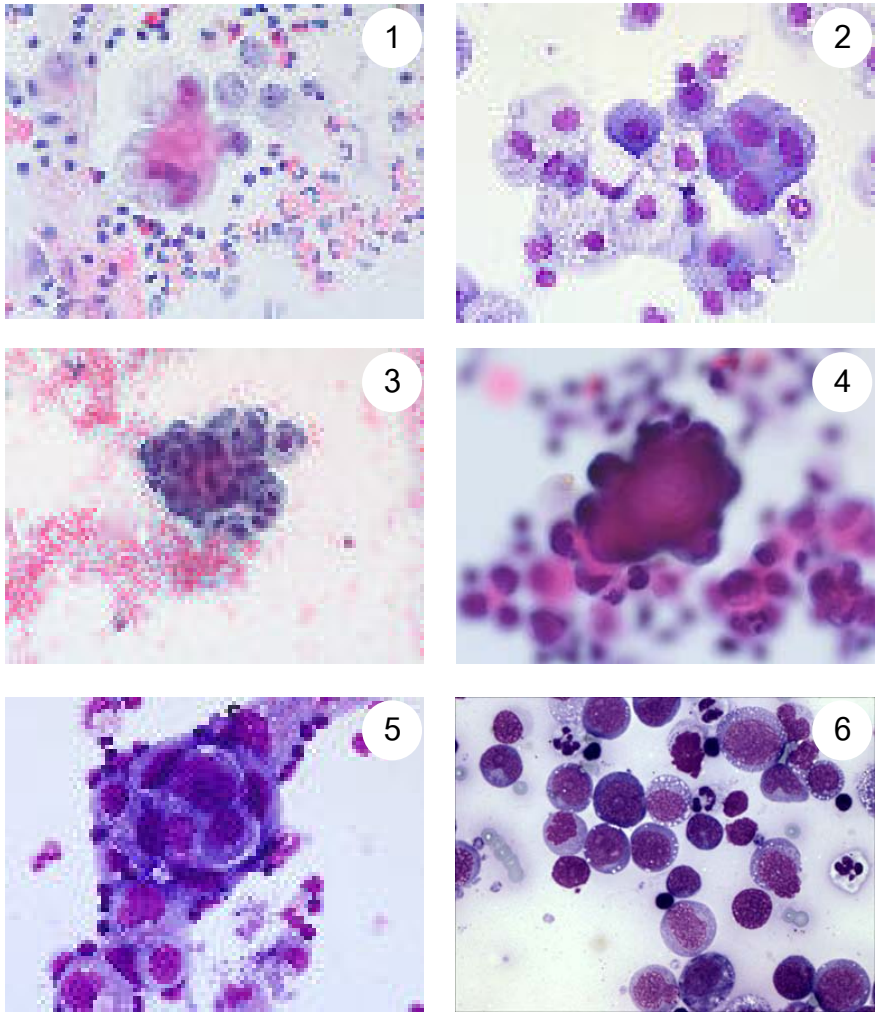
India Ink Preparation

เป็นการตรวจหาเชื้อ *Cryptococcus* ในน้ำไขสันหลัง

1. ใช้ pipette ดูดน้ำไขสันหลัง ใส่ในหลอดทดลองแก้วที่สะอาดและแห้ง
2. ปั่นที่ความเร็วต่ำ 1,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที
3. เมื่อปั่นเสร็จแล้วเทน้ำส่วนบนออก(อาจใช้ส่งตรวจหา protein หรือ sugar ได้) เขย่าส่วนที่เหลือให้เข้ากันเบาๆ
4. ใช้ pipette ดูดน้ำไขสันหลัง หยดลงบนสไลด์ 1 หยด
5. ใช้ไม้จิ้มฟัน แตะ India ink มาผสมกับน้ำไขสันหลังบนสไลด์
6. ปิดด้วย cover glass
7. นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มจากกำลังขยายต่ำและกำลังขยายที่สูงขึ้น

การอ่านผล

- จะมองเห็น background เป็นสีดำ ส่วน yeast cell ไม่ติดสี จึงเห็นสว่างกว่า background และเห็น capsule เป็นวงรอบ
- บาง yeast cell จะมี budding ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Cryptococcus*



รูปแสดง Staining of Effusion. 1: eosinophilic pleuritis, 2: mesothelial cell, 3: mesothelioma, 4: adenocarcinoma, 5: metastatic carcinoma, 6: lymphoblasts **และ** small lymphocytes

การตรวจสารน้ำต่าง ๆ

Wright's Stain Effusion

ใส่ effusion ลงในหลอดทดลองแก้วที่สะอาด (~ 20 มล. ถ้า effusion ขุ่น และ ~ 40 – 50 มล. ถ้า effusion ใส) ปั่นที่ความเร็ว 700 – 1,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

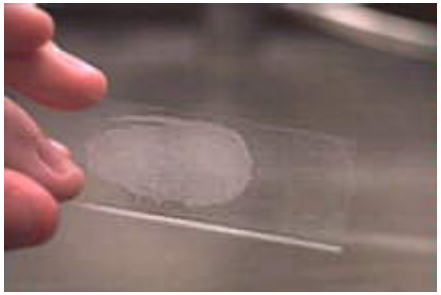
2. เทน้ำใสส่วนบนทิ้ง ดูดตะกอนใส่ Wintrobe tube หรือหลอดทดลองแก้ว
3. ปั่นซ้ำด้วยความเร็วและเวลาเท่าเดิม ดูดน้ำส่วนบนทิ้ง
4. ผสมน้ำที่เหลือและตะกอนให้เข้ากันดี นำมาหยดบนสไลด์1หยด เกลี่ยด้วยไม้จิ้มฟัน ไม่ให้หนามาก วางสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
5. นำไปย้อมสี Wright ดังนี้
   - 5.1 หยดสี Wright ให้พอเต็มสไลด์ (5 – 8 หยด)
   - 5.2 เติมน้ำกลั่น ประมาณ 2 เท่าของสี ทิ้งไว้ 3 – 5 นาที ในกรณีที่ smear หนาเกินไป หรือมี WBC มาก ต้องเพิ่มเวลาเป็น 2 เท่า
   - 5.3 ล้างน้ำให้สะอาด เช็ดด้านหลังสไลด์ให้สะอาด
   - 5.4 นำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์
6. อย่าลืมเขียนวันที่ ชื่อ นามสกุลของผู้ป่วยที่แผ่นสไลด์ทุกครั้ง เพื่อป้องกันการผิดพลาด
7. หลังจากตรวจ effusion เสร็จทุกครั้ง ให้ล้าง tube และนำไปแช่ในภาชนะที่มีน้ำยาฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้ให้

การตรวจทางจุลชีววิทยา

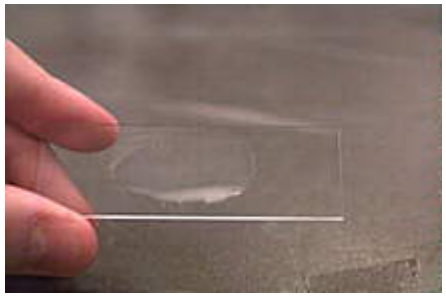
การเตรียมสไลด์เพื่อย้อมสี

semi-fluid sample

fluid sample



ปล่อยให้แห้ง
ที่อุณหภูมิห้อง

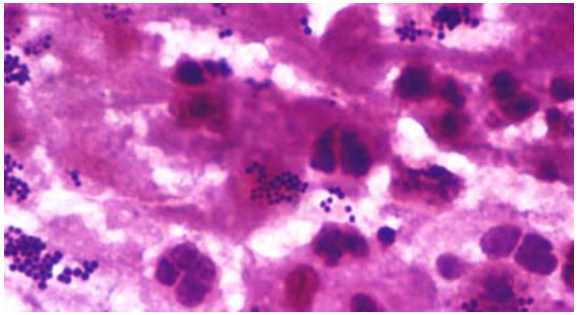


ลนผ่านเปลวไฟ
เพื่อ fix สไลด์

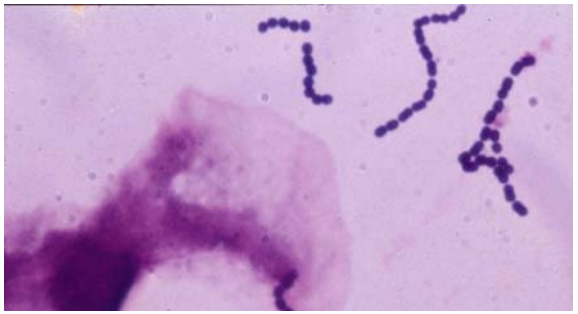
1. ใช้ ไม้จิ้มฟันแตะสิ่งส่งตรวจที่เป็นหนองหรือเสมหะมา smear บนสไลด์ อย่าให้หนาหรือบางเกินไป โดยบริเวณที่ smear ให้กว้างประมาณ 1 ซม.
   - ถ้าสิ่งส่งตรวจเป็นน้ำค่อนข้างใส เช่น CSF, fluid จากช่องต่างๆ ควรปั่นที่ 3,000 รอบต่อนาที นาน 10-30 นาที แล้วจึงนำ sediment มา smear
   - ถ้าเป็นปัสสาวะ ใช้ dropper หยด 1 หยด บนสไลด์ ไม่ต้อง smear
   - ถ้าเป็น tissue ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใช้ปากคีบกดละเลงบนแผ่นสไลด์
2. วางสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
3. Fix โดยใช้ปากคีบจับสไลด์ ลนผ่านเหนือเปลวไฟ 3-4 ครั้ง วางสไลด์ให้เย็นก่อนย้อม

ข้อควรระวัง

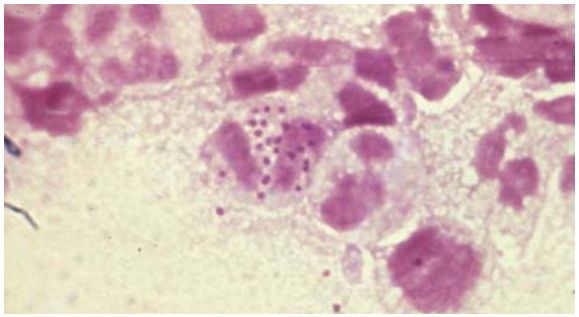
1. ต้องเช็ดสไลด์ให้สะอาด ไม่มีรอยนิ้วมือ รอยเปื้อน หรือคราบน้ำมันก่อน smear
2. วางให้ smear แห้งสนิทที่อุณหภูมิห้อง อย่าเร่งโดยการลนไฟ เพราะทำให้เชื้อมีรูปร่างผิดไป และสีจะตกตะกอน
3. เพื่อให้ film หรือ smear ติดแน่นกับแผ่นสไลด์ ไม่หลุดขณะย้อม ต้อง fix แผ่นสไลด์โดยผ่านเปลวไฟ อย่าผ่านไฟแรงจัด



Gram +ve cocci in cluster



Gram +ve cocci in chain



Gram -ve diplococci

Gram -ve bacilli

การย้อมสี Gram's Stain

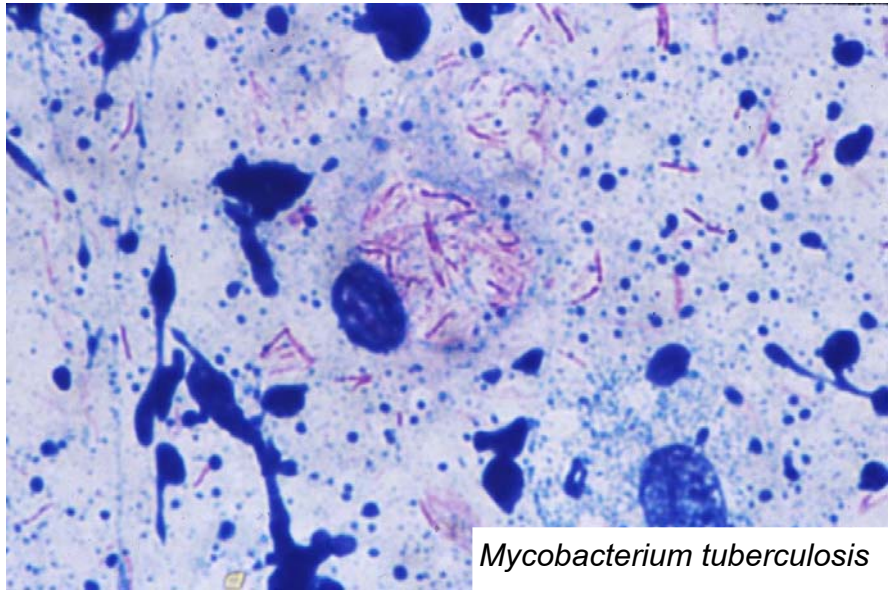
1. หยดสี gentian violet ลงบนสไลด์ในบริเวณที่ smear ปล่อยไว้นาน 15-30 วินาที
2. ล้างน้ำให้สะอาด
3. หยด Gram iodine ปล่อยไว้นาน 15-30 วินาที
4. ล้างน้ำให้สะอาด
5. เอียงสไลด์ 45 ° หยด 95 % alcohol บนแผ่นสไลด์ทีละหยด จนไม่มีสีออกจากบริเวณ smear
6. ล้างน้ำให้สะอาด
7. หยด 1% safranin ปล่อยไว้นาน 10-15 วินาที
8. ล้างน้ำ เช็ดสไลด์ด้านหลังให้สะอาด ซับน้ำให้แห้ง ก่อนตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

การอ่านผล

1. ดูลักษณะเซลล์ที่พบ: epithelial cell, white blood cell, bacteria, fungus
2. การย้อมสี Gram ที่พอเหมาะ: nucleus จะติดสีม่วง ส่วน cytoplasm ตลอดจนพื้น smear ติดสีชมพู
3. สามารถแยกการติดสีของ bacteria ได้โดย

   Gram positive ติดสีม่วง

   Gram negative ติดสีแดง



Mycobacterium tuberculosis

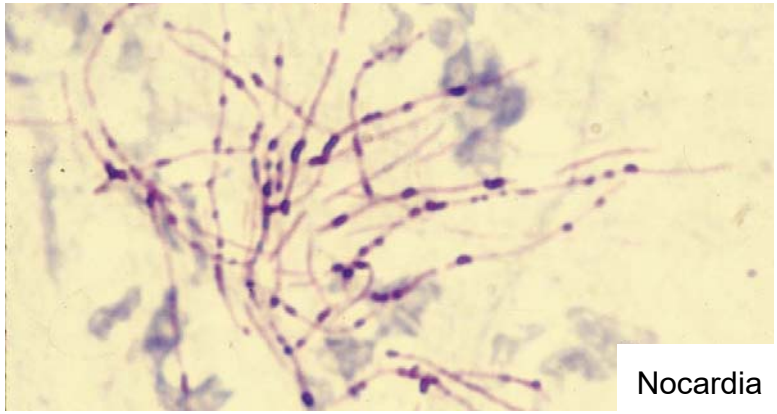
การย้อมสี Acid Fast (Kinyoun method)

1. หยดสี Kinyoun บนสไลด์บริเวณ smear ปล่อยไว้นาน 5 นาที
2. ล้างน้ำให้สะอาด
3. ล้างสีออก (decolorize) ด้วย acid alcohol จนไม่มีสีออกมาอีก
4. ล้างน้ำให้สะอาด
5. หยด methylene blue ปล่อยทิ้งไว้นาน 1 – 2 นาที
6. ล้างน้ำให้สะอาด ซับสไลด์ให้แห้ง **ก่อน**นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

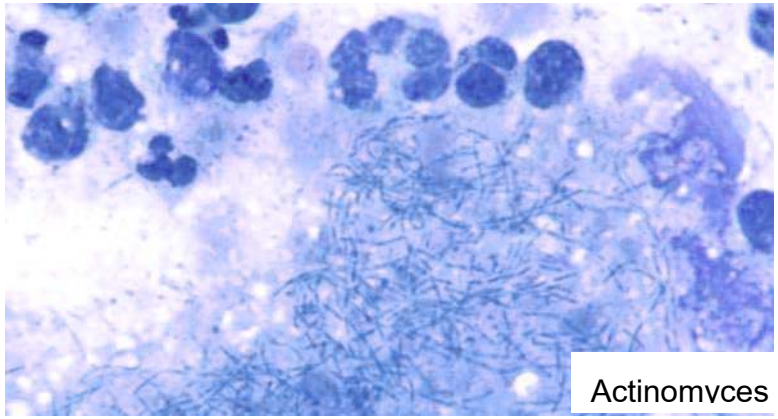
การอ่านผล

1. ดูลักษณะการติดสี ถ้า bacteria ปรกติที่เป็น normal flora จะติดสีน้ำเงิน ส่วน acid fast bacilli จะติดสีแดง
2. รายงานผลโดยดูจำนวนเชื้อ ถ้าไม่พบเชื้อต้องตรวจดูอย่างน้อย 300 oil fields (F) โดยรายงานผลตามหลักของ WHO/UNAIDS ดังนี้

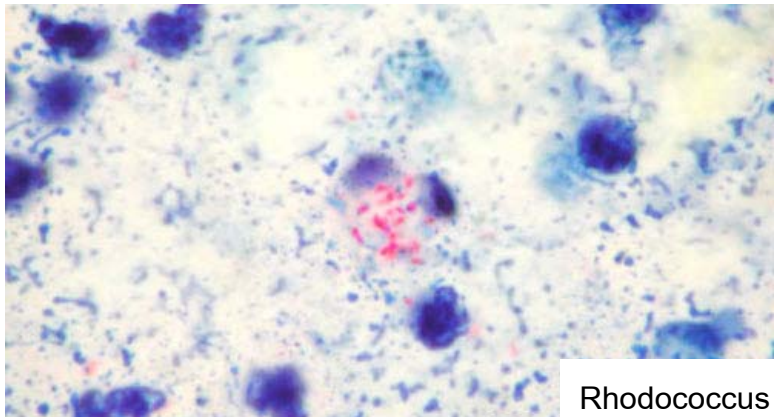
จำนวนเชื้อที่พบ		รายงาน
0	ต่อ สไลด์	AFB: not found
1-9	ต่อ 100 F	AFB: บอกจำนวน bacilli ที่พบ
10-99	ต่อ 100 F	AFB: 1+
1-10	ต่อ F (อย่างน้อย 50 F)	AFB: 2+
> 10	ต่อ F	AFB: 3+



Nocardia



Actinomvces



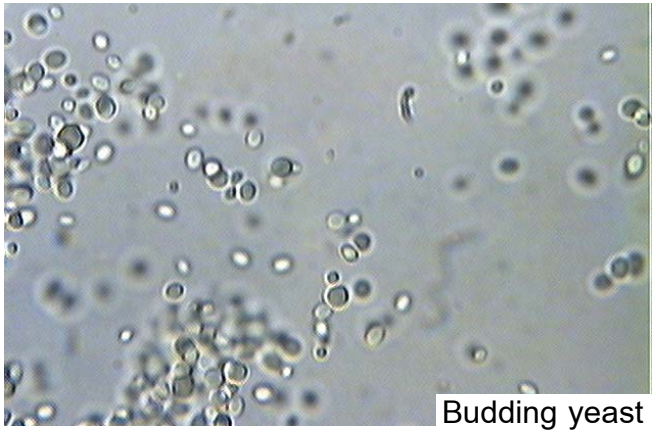
Rhodococcus

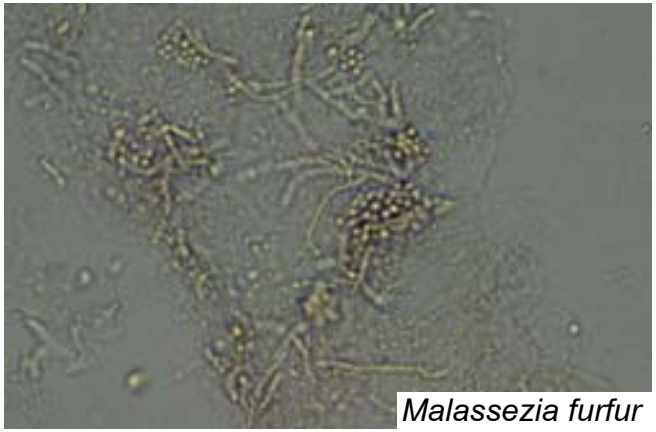
การย้อมสี Modified Acid Fast

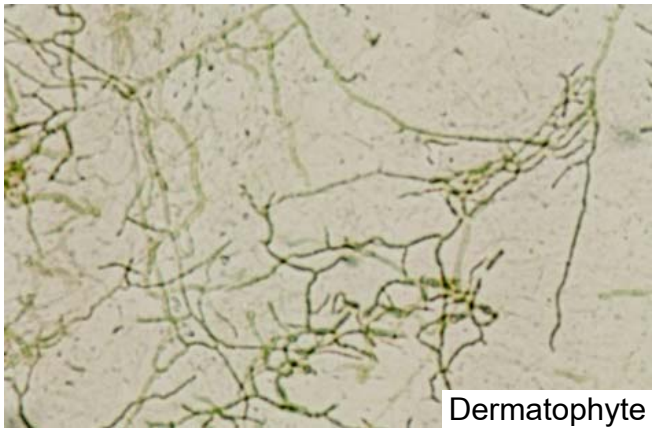
1. วางกระดาษกรองบนสไลด์ ให้ปิดทับบริเวณที่ smear ตัวอย่างตรวจ
2. หยดสี Kinyoun บนสไลด์ ปล่อยไว้นาน 5 นาที
3. ล้างน้ำให้สะอาด (กระดาษกรองจะถูกล้างทิ้งไป)
4. ล้างสีด้วย 2 % sulfuric acid โดยหยดให้ท่วมสไลด์ แล้วเททิ้ง
5. หยด 2 % sulfuric acid อีกครั้งให้ท่วมสไลด์ แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที สังเกตว่าสีล้างออกหมด
6. ล้างน้ำให้สะอาด
7. หยด methylene blue ปล่อยไว้นาน 1-2 นาที
8. ล้างน้ำให้สะอาด ซับสไลด์ให้แห้ง ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

การอ่านผล

1. เชื้อ Nocardia มีลักษณะเป็น branching filament ติดสีแดง ขนาดเล็กกว่า fungal hyphae
2. เชื้อ Actinomyces มีลักษณะเป็น branching filament ติดสีน้ำเงิน
3. เชื้อ Rhodococcus มีลักษณะเป็น cocci หรือ coccobacilli ติดสีแดง


Budding yeast


Malassezia furfur


Dermatophyte

การตรวจทางผิวหนัง

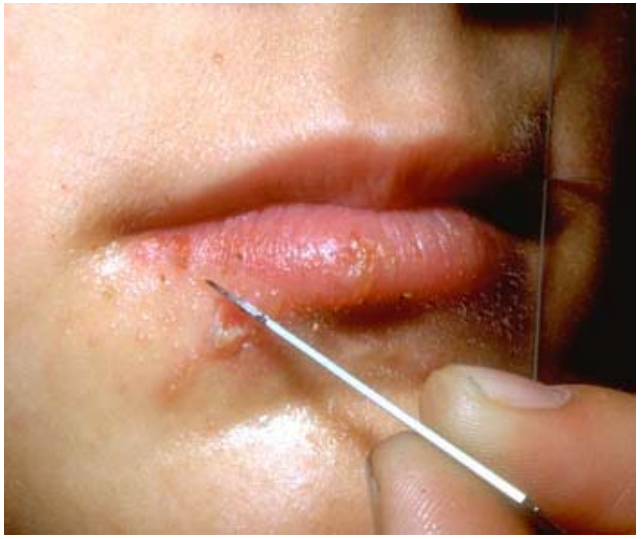
Potassium Hydroxide (KOH) Preparation

สิ่งส่งตรวจ ได้แก่ ขุยผิวหนัง, เล็บและขุยใต้เล็บติดกับ nail bed
โคนผม หรือเส้นผม

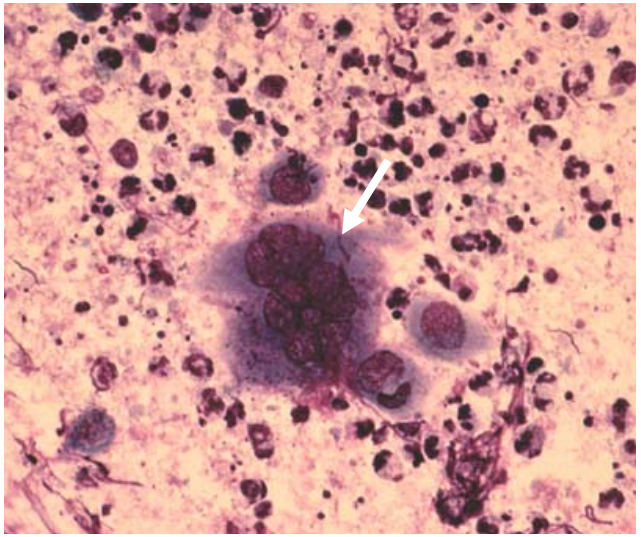
1. หยด 10% KOH 1หยด บนสไลด์สะอาด
2. แตะสิ่งส่งตรวจ นำมาผสมกับ 10 % KOH
3. ปิด cover glass
4. นำสไลด์อังผ่านเปลวไฟพออุ่น (ชนิดใช้หลังมือแตะได้, ไม่ร้อนจัด KOH จะละลาย keratin) แล้ววางไว้ประมาณ 10 – 20 นาที
5. ซับ KOH ส่วนที่เกินออก (ถ้ามี) ก่อนนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การอ่านผล

1. นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ objective lens กำลังขยาย 10 และ 40 เท่า โดยปรับ diaphragm ให้แสงผ่านน้อยเพื่อดูสายราและ epithelial cell
2. ถ้าเป็นเกลื้อน (เชื้อ *Malassezia furfur*) จะพบ budding yeast รูปกลม หรือรูปไข่ และท่อน hyphae (meatballs and spaghetti appearance)
3. ถ้าเป็นกลาก (เชื้อ dermatophytes) จะพบ branching septate hyphae และ/หรือสายของ arthroconidia



การเตรียมตัวอย่างเพื่อทำ Tzanck preparation **โดยการขูดที่ฐานและขอบในของ** vesicular lesion **และลักษณะ** multinucleated giant cell



Tzanck Test

การเตรียมตัวอย่างตรวจเพื่อย้อมสี Wright

1. ขูดเซลล์จากบริเวณขอบในและฐานของ vesicular lesion แล้ว smear บนสไลด์ (ควรเลือกจากตำแหน่งที่ยังเป็น vesicle ที่มีน้ำใส ตัดส่วนที่เป็นผนัง vesicle ออกก่อนขูดเซลล์)
2. ปล่อยสไลด์ให้แห้ง
3. Fix สไลด์ด้วย 95 % alcohol นาน 1 นาที
4. ปล่อยสไลด์ให้แห้ง
5. ปฏิบัติเช่นเดียวกับการย้อม blood smear

การอ่านผล

- ดู epithelial cells ที่รวมตัวเป็น multinucleated cell
- เซลล์อื่นๆที่พบได้แก่ polymorphonuclear cells, lymphocytes, mononuclear cells
- ใน smear มักไม่พบ intranuclear inclusion bearing cells

หมายเหตุ

เซลล์อาจติดสีชัดเจนขึ้นถ้าย้อมด้วยสี Giemsa

- fix สไลด์ โดยการแช่ใน absolute methanol นาน 5-10 นาที
- ปล่อยสไลด์ให้แห้ง แล้วแช่สไลด์ใน Coplin jar ที่ใส่ diluted Giemsa stain (เจือจางราว 1:20-1:40) ปล่อยไว้และล้างด้วย 95 % ethanol ก่อนนำไปล้างน้ำ แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

ห้องปฏิบัติการที่ให้บริการสำหรับผู้ป่วยของภาควิชาอายุรศาสตร์

• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาหทัยวิทยา	ตึก	อัษฎางค์	ชั้น 1	7745-6
• ห้องปฏิบัติการหัตถการวินิจฉัย	ตึก	อัษฎางค์	ชั้น 2	7755
• ห้องปฏิบัติการ Sleep Lab	ตึก	อัษฎางค์	ชั้น 2	7758
• ห้องปฏิบัติการตรวจสมรรถภาพปอด	ตึก	อัษฎางค์	ชั้น 2	7760
• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาความดันโลหิตสูง	ตึก	อัษฎางค์	ชั้น 5	7791
• ห้องปฏิบัติการต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม	ตึก	ผะอบ	ชั้น 2	7295
• ห้องปฏิบัติการวัดความหนาแน่นของกระดูก	ตึก	ผะอบ	ชั้น 2	7293
• ห้องทดสอบการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อ	ตึก	ผะอบ	ชั้น 2	7293
• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร	ตึก	ผะอบ	ชั้น 1	7281-3 ต่อ 119
• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวักกะวิทยา	ตึก	ผะอบ	ชั้น 4	8382
• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโรคติดเชื้อและอายุรศาสตร์เขตร้อน	ตึก	ผะอบ	ชั้น 4	7203, 7301
• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาประสาทวิทยา	ตึก	72 ปี	ชั้น 4 ออก	7100
• ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโลหิตวิทยา	ตึก	ผู้ป่วยนอก	ชั้น 6	7642-4 ต่อ 15, 16

คณะผู้จัดทำ
คู่มือการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
หอผู้ป่วยสามัญ ภาควิชาอายุรศาสตร์

ศ.นพ.อมร ลีลารัศมี (ที่ปรึกษา)

ศ.พญ.วรรณี นิธิยานันท์ (ที่ปรึกษา)

รศ.นพ.ชัยรัตน์ ฉายากุล

ผศ.นพ. รุ่งนิรันดร์ ประดิษฐสุวรรณ

ผศ.นพ.สุรพล กอบวรรธนกุล

นางจรรยา มั่นเขตวิทย์

นางสุรภี เทียนกริม

นายเลิศชาย วชิรุตมางกูร

น.ส.ดวงพร เชื้อวัฒนา

ขอขอบคุณ นายสมควร ศรียังเล็ก, น.ส.อาทิตยา หงษ์อุดร, นายอนุสรณ์ บุญตา ที่ช่วยในการตรวจดูแลความเรียบร้อยของห้องปฏิบัติการหอผู้ป่วยสามัญ ภาควิชาอายุรศาสตร์ และ น.ส.นภารัตน์ แก้วเกื้อกูล ที่ช่วยในการพิมพ์และจัดรูปเล่ม