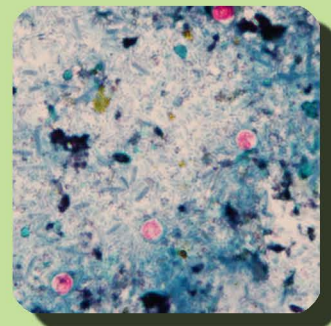
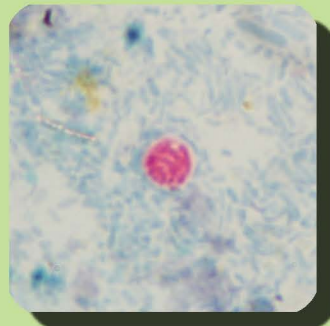


# คู่มือปฏิบัติงาน

การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Cryptosporidium* spp.  
ด้วยวิธีดูสด (Wet smear) และย้อมสีพิเศษ  
(Rapid DMSO modified acid fast)



กัณฐิณีษฐ์ ทิมา

ภาควิชาพยาธิโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน

มหาวิทยาลัยมหิดล

# คู่มือปฏิบัติงาน

การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Cryptosporidium* spp.  
ด้วยวิธีคูด (Wet smear) และย้อมสีพิเศษ  
(Rapid DMSO modified acid fast)

กัณฐิณิษฐ์ ทิมา

ภาควิชาพยาธิโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน

มหาวิทยาลัยมหิดล

## คำนำ

เชื้อ *Cryptosporidium* spp. ระยะ oocyst จะมีคุณสมบัติของการติดสีทนกรด (acid fast) ดังนั้นการตรวจอุจจาระเพื่อการตรวจวินิจฉัย จึงย้อมด้วยสีพิเศษคือ Rapid DMSO modified acid fast ด้วยวิธีย้อมนี้จะทำให้การอ่านผลง่ายขึ้น และใช้เวลา ในการ ย้อมน้อยกว่าการย้อมด้วยวิธีอื่น ภาควิชาพยาธิโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ใช้วิธีย้อมสีพิเศษนี้กับเชื้อ *Cryptosporidium* spp. มานานกว่า 17 ปี

คู่มือปฏิบัติงานการตรวจ วินิจฉัยเชื้อ *Cryptosporidium* spp. เล่มนี้เป็นการรวบรวม ความรู้และประสบการณ์ ของผู้เขียนที่ได้ให้บริการตรวจวินิจฉัย เชื้อดังกล่าว ด้วยวิธีดูสดและย้อมสีพิเศษ ดังกล่าว ในห้องปฏิบัติการ ในคู่มือเล่มนี้จะกล่าวถึงรายละเอียดทุกขั้นตอนของการเก็บตัวอย่างส่งตรวจ การเตรียมสไลด์เพื่อดูเชื้อแบบสด การเตรียมสไลด์สำหรับย้อมสีพิเศษ การ mount สไลด์ ตลอดจนเทคนิคการตรวจเชื้อด้วยการดูสด และการย้อมสีพิเศษ การรายงานผล ตัวอย่างกรณีศึกษาจากหน่วยงานภาครัฐหรือโรงพยาบาลต่างๆ รวมถึงปัญหาและอุปสรรคต่างๆของวิธีการตรวจ พร้อมทั้งข้อเสนอแนะแนวทางในการแก้ไขเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจให้ดีขึ้น เทคนิคเฉพาะที่สำคัญในการปฏิบัติงาน ได้รวบรวมและเน้นไว้ในกรอบสี่เหลี่ยมแล้ว ผู้เขียนหวังว่าคู่มือเล่มนี้จะเป็นข้อมูลความรู้ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อนักวิจัยและผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการต่างๆ ทั่วประเทศที่มีการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Cryptosporidium* spp. เพื่อเอื้อประโยชน์ต่อแพทย์ในการวินิจฉัยผู้ป่วยและการทำนายโรคที่เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยต่อไป

กัญฉนิษฐา ทิมา

9 กรกฎาคม 2558

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พรทิพย์ เพ็ชรมิตร หัวหน้าภาควิชาพยาธิโปรโตซัว สำหรับตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหาและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งเกี่ยวกับการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Cryptosporidium* spp. รวมทั้งขอขอบคุณรองศาสตราจารย์พิเศษวรรณมา ไม้พานิช สังกัดภาควิชาปรสิตหนอนพยาธิ ซึ่งเป็นผู้ ถิ่นกรอง ตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหา รวมทั้งแนะนำให้คำปรึกษา ต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการเขียนคู่มือเล่มนี้ ได้อย่างดียิ่ง

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิเศษ เบญจนิ พันธ์ภูวงค์ และคุณจารุฉัตต์ บุญนะโชติ สังกัดภาควิชาพยาธิวิทยาเขตร้อน ผู้สอนเทคนิคการเตรียมสไลด์ ขั้นตอนต่างๆเกี่ยวกับการย้อมสีพิเศษ และด้วยความระลึกถึงเป็นอย่างยิ่งแก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุฑาทิพ ศิริพันธุ์ อาจารย์ผู้ล่วงลับ สังกัดภาควิชาพยาธิโปรโตซัว ซึ่งเป็นผู้สอนเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อด้วยวิธีคูสดและวิธีย้อมสีพิเศษ และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาฯ ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจในการเขียนคู่มือเล่มนี้

กัณฐิณิษฐ์ ทิมา

9 กรกฎาคม 2558

# สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1	
บทนำ	
ความเป็นมา	1
วัตถุประสงค์	5
ขอบเขต	5
นิยามศัพท์เฉพาะ	6
บทที่ 2	
บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบ	8
บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง	8
ลักษณะงานที่ปฏิบัติ	10
โครงสร้างการบริหารจัดการ	12
บทที่ 3	
หลักเกณฑ์วิธีการปฏิบัติงาน	13
หลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน	13
วิธีการปฏิบัติงาน	15
ข้อควรระวังในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ	18
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 4	
เทคนิคในการปฏิบัติงาน	21
แผนปฏิบัติงาน	21
ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp.	22
วิธีติดตามและประเมินผลการปฏิบัติงาน	35
จรรยาบรรณในการการปฏิบัติงาน	35
ตัวอย่างกรณีศึกษาจากหน่วยงานภาครัฐหรือจากโรงพยาบาลต่างๆ	36
บทที่ 5	
ปัญหา อุปสรรค และแนวทางในการพัฒนางาน	44
บรรณานุกรม	51
ภาคผนวก	

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1. ลักษณะผนังชีสต์ 2 ชั้นของเชื้อ <i>C. parvum</i> ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ TEM	2
2. ลักษณะ oocyst ของเชื้อ <i>C. parvum</i> ที่มี sporozoite อยู่ภายในจำนวน 4 sporozoites	2
3. ลักษณะภายนอกและปริมาณการเก็บอุจจาระ	16
4. แบบฟอร์มการรับส่งตรวจและรายงานผลการตรวจที่ภาควิชาพยาธิโปรโตซัว	23
5. การตรวจวินิจฉัยเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา อย่างเป็นระบบ	25
6. ลักษณะ oocyst ของเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp. ด้วยวิธีการทดสอบเปรียบเทียบกับลักษณะของเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาด้วยกำลังขยายสูง 40X	25
7. ขั้นตอนการย้อมสีพิเศษ Rapid DMSO modified acid fast เพื่อตรวจวินิจฉัยเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp.	28
8. ขั้นตอนการ mount สไลด์ด้วยน้ำยา permount	30
9. ลักษณะ oocyst ของเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp. ด้วยการย้อมสีพิเศษ Rapid DMSO modified acid fast คู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดากำลังขยายสูงสุด 100X	32
10. ใบส่งตรวจวินิจฉัยเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp. ด้วยการย้อมสีพิเศษที่ส่งมาจากหน่วยงานต่างๆและบันทึกผลการตรวจหาเชื้อจากภาควิชาพยาธิโปรโตซัว	34
11. สไลด์สเมียร์อุจจาระที่หนาเกินไปและสไลด์ที่บางเกินไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดากำลังขยายสูง 40X	46
12. Background ของสเมียร์อุจจาระที่ย้อมได้ดีจะติดสีเขียวและย้อมไม่ดีจะติดสีม่วงแดง	47
13. Oocyst ของเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp. ที่ไม่ชัดเจนในสไลด์ย้อมสีที่ไม่ได้ mount ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาด้วยกำลังขยายสูงสุด 100X	48
14. ความชัดเจนของ oocyst ในสไลด์ที่ผ่านการ mount และไม่ผ่านการ mount ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาด้วยกำลังขยายสูง 40X	49
15. ลักษณะ oocyst ของเชื้อ <i>Cryptosporidium</i> spp. และ artifact ที่ย้อมติดสีคล้าย oocyst ของเชื้อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาด้วยกำลังขยายสูงสุด 100X	49