

วิธีปฏิบัติ

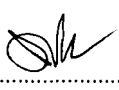
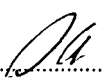
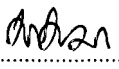
Work Instruction

เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun



กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

รหัสเอกสาร WI-BAC-001		ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17
ผู้จัดทำ	 (นายปิยะพงศ์ ปินตา) นักเทคนิคการแพทย์ ชำนาญการ	๐๑ กพ ๒๕๖๔ วัน / เดือน / ปี
ผู้ทบทวน	 (นางสาวศิริพร นันตา) ผู้จัดการวิชาการกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์	๐๑ กพ ๒๕๖๔ วัน / เดือน / ปี
ผู้อนุมัติ	 (นายครรชิต กิติมา) ผู้จัดการคุณภาพกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์	๐๑ กพ ๒๕๖๔ วัน / เดือน / ปี

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 1/7

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	ทบทวน/แก้ไข ครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
8 ก.ค. 2547	0	ทบทวนโดย นายบรรเลง ปัญจบุรี - ไม่มีการแก้ไข
21 ก.ย. 2548	1	แก้ไขผู้อนุมัติ
2 ต.ค. 2549	2	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 เม.ย. 2551	3	- แก้ไขรูปแบบวิธีปฏิบัติการตามข้อกำหนด ISO 15189 และอนุมัติใช้ - เปลี่ยนรหัสเอกสารจาก WI-LAB-009 เป็น WI-BAC-001 - แก้ไขผู้ทบทวน จากนักเทคนิคการแพทย์ เป็น ผู้จัดการวิชาการ - แก้ไขผู้อนุมัติ จากหัวหน้ากลุ่มงานพยาธิวิทยา เป็น ผู้จัดการคุณภาพ
15 ก.ย. 2551	4	- แก้ไขรูปแบบวิธีปฏิบัติให้เป็นไปตามข้อกำหนด ISO 15189
1 เม.ย. 2551	5	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 มี.ค. 2555	6	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ส.ค. 2555	7	- แก้ไขชื่อกลุ่มงานพยาธิวิทยาเป็น "กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์" - แก้ไขหน้า 4/6 ข้อ 8.2.2.2 เปลี่ยน 100-200 วงกึ่งเป็น 100 วงกึ่ง - แก้ไขแบบอักษรหน้า 5/6 ข้อ 10.1.2 จาก Mycobacterium tuberculosis และ E.coli เป็น Mycobacterium tuberculosis และ E.coli
1 ก.ย. 2556	8	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ก.ย. 2557	9	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ก.ย. 2558	10	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ส.ค. 2559	11	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 2/7

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	ทบทวน/แก้ไข ครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
1 ธ.ค. 2559	12	แก้ไขหน้า 6/7 ข้อ 10.1 เรื่องการควบคุมคุณภาพภายใน
1 ก.ย. 2560	13	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ก.ย. 2561	14	- แก้ไขชื่อวิธีปฏิบัติ (Work instruction) จาก การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Ziehl nelson เป็น การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun - แก้ไขหน้า 5/7 ข้อ 9.2.2 การย้อมสิ่งส่งตรวจ
1 เม.ย. 2562	15	แก้ไขให้เป็นไปตามข้อกำหนดตามผลการตรวจประเมิน ระบบ ISO 15189 : 2012 และ ISO 15190 : 2003
1 เม.ย. 2563	16	- ทบทวน ไม่มีการแก้ไข
1 ก.พ. 2564	17	- แก้ไขชื่อทบทวนจากนางสาวกนกวรรณ ใจพิงค์ เป็นนางสาวศิริพร นันตา - แก้ไขชื่อผู้อนุมัติจากนายบรรเลง ปัญจบุรี เป็นนายครรชิต กิตติมา

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 3/7

การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun

1. วัตถุประสงค์การทดสอบ

เพื่ออธิบายวิธีการตรวจหาเชื้อ AFB ซึ่งเป็นการตรวจวินิจฉัยที่ทำได้ง่ายและให้ผลตรวจที่รวดเร็ว

2. นิยามและคำย่อ

- AFB ย่อจาก Acid fast bacilli

3. หลักการทดสอบ

เชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่งไม่มี Capsule , ไม่ Motile มีคุณสมบัติพิเศษ คือ เป็นเชื้อที่ทนกรด ดังนั้นจึงเรียกว่า Acid fast bacilli เนื่องจากมีผนังเซลล์หนา และมีไขมัน (Lipid) มาก ทำให้ย้อมติดสียากแต่เมื่อย้อมติดสีแล้วจะล้างออกยาก ถึงแม้จะล้างด้วยน้ำยาที่เป็นกรด จะเห็นติดสีแดงของ Carbol fuchsin

4. คุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์

4.1 ค่าความเป็นเส้นตรง

-

4.2 ค่าความแม่นยำ

-

4.3 ค่าความถูกต้อง

-

4.4 ค่าความไม่แน่นอน

-

4.5 ข้อจำกัดของการทดสอบ

-

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 4/7

4.6 ระยะของการวัด

-

4.7 ค่าจริงของการวัด

-

4.8 ความไว

-

4.9 ความจำเพาะ

-

5. สิ่งส่งตรวจและรายละเอียดที่ต้องตรวจสอบ

- น้ำไขสันหลังและน้ำจากส่วนต่างๆของร่างกาย ปัสสาวะ อุจจาระ เสมหะ หนอง แผล ฟีต่างๆ

6. ประเภทของภาชนะบรรจุและสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

- ภาชนะพลาสติก ปากกว้าง ที่ไม่มีการดูดซึม มีฝาปิดมิดชิด

7. เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้

7.1 น้ำยาและสีย้อม

1. Carbol fuchsin
2. Acid Alcohol Decolorizer
3. Methylene Blue

7.2 นาฬิกาจับเวลา

7.3 กล้องจุลทรรศน์

7.4 Slide ฝา

7.5 ไม้ถูกล้างหัดครึ่ง

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 5/7

8. วิธีการสอบเทียบ

-

9. วิธีการตรวจวิเคราะห์

9.1. การเก็บและเตรียมสิ่งส่งตรวจ

การเก็บเสมหะ เก็บเสมหะตอนเช้าหลังจากตื่นนอนใหม่ ๆ โดยให้ผู้ป่วยบ้วนปากหลาย ๆ ครั้งด้วยน้ำธรรมดา ให้ผู้ป่วยไอลึก ๆ แรง ๆ บ้วนเสมหะใส่ขวดภาชนะพลาสติก ปากกว้าง ที่ไม่มีการอุดซึม มีฝาปิดมิดชิด ควรตรวจดูให้แน่ใจว่าเป็นเสมหะไม่ใช่ น้ำลาย ถ้าต้องการหาเชื้อวัณโรค ควรเก็บเสมหะ 3 วันติดต่อกันโดยใส่ในกระป๋องพลาสติก เขียนชื่อ นามสกุล H.N. หอผู้ป่วย ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ วันที่เก็บ ตัวอย่างให้เรียบร้อย (QP-LAB-001)

9.2. วิธีการตรวจ

9.2.1. การเตรียมเสมหะบนสไลด์

9.2.1.1. ใช้ดินสอเขียนบนสไลด์ฝ้ายโดยเขียน Lab NO. (มี 7 ตัว XXX-XXXX) ให้ตรงกับเลข Barcode ที่ติดมากับใบ Request คนไข้

9.2.1.2. ใช้ไม้ลูกชิ้นหักครึ่งเขี่ยเสมหะป้ายบนสไลด์ โดยวิธี Repeat coil type ให้ได้ขนาดของ Smear กว้าง X ยาว 2 x3 cm

9.2.2. การย้อมสิ่งส่งตรวจ

9.2.2.1. ทิ้งสไลด์ไว้แห้ง แล้ว Fixed สไลด์ด้วยเปลวไฟประมาณ 3 วินาที

9.2.2.2. หยด Carbol fuchsin ให้ท่วมสไลด์ แล้วทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที

9.2.2.3. ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปา

9.2.2.4. หยด Acid Alcohol Decolorized เพื่อฟอกสีทิ้งไว้ประมาณ 1-2 นาที

9.2.2.5. ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปา

9.2.2.6. หยด Methylene blue ทิ้งไว้ประมาณ 10 วินาที

9.2.2.7. ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปา

9.2.2.8. ทิ้งสไลด์ไว้ให้แห้งในอากาศ

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 6/7

9.2.3. การตรวจดูเชื้อ AFB

- 9.2.3.1 ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย X 100
- 9.2.3.2 ตรวจหาเชื้อ AFB ให้ตัวอย่างน้อย 100 วงกล้อง

9.2.4. การรายงานผล

ให้รายงานจำนวน Acid fast bacilli (AFB) เป็น 1+ , 2+ , 3+ โดยมีหลักเกณฑ์ดังนี้

AFB 3+ พบเชื้อ AFB จำนวน >10 cell ต่อ 20 Oil Immersion Field

AFB 2+ พบเชื้อ AFB จำนวน 1-10 cell ต่อ 50 Oil Immersion Field

AFB 1+ พบเชื้อ AFB จำนวน 10-99 cell ต่อ 100 Oil Immersion Field

ถ้าพบเชื้อ AFB จำนวน 1-9 cell ต่อ 100 Oil Immersion Field ให้รายงานเป็นจำนวน Cell และขอให้ส่งสิ่งตรวจใหม่

หมายเหตุ; สไลด์ที่ตรวจวิเคราะห์แล้วให้เก็บไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน เพื่อการทวนสอบในภายหลัง

10. วิธีการควบคุมคุณภาพ

การควบคุมคุณภาพภายใน

การควบคุมคุณภาพการย้อมสีและสีย้อม ให้นำเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* เป็น positive control มาย้อมด้วยวิธีที่ใช้ปัจจุบันและตรวจสอบดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยการทดสอบสีและคุณภาพการย้อมสิ่งส่งตรวจอาทิตย์ละ 1 ครั้ง

การควบคุมคุณภาพภายนอก

ควบคุมคุณภาพโดยองค์การภายนอก ร่วมกับสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีละ 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BAC-001
	วิธีปฏิบัติ (Work instruction)	
	เรื่อง การตรวจหาเชื้อ AFB โดยวิธี Kinyoun	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 17	หน้า 7/7

11. สิ่งรับกวนการทดสอบ

-

12. หลักการของวิธีการคำนวณผล รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด

-

13. คำอ้างอิงในคนปกติ

- AFB Not seen

14. ขอบเขตของค่าของผู้ป่วยที่รายงาน

-

15. คำวิฤต

- AFB Positive

16. การรายงานและการแปลผลการทดสอบ

- ผลบวก ตรวจพบแบคทีเรียรูปแท่งดิดสีแดง รายงานผลเป็น Positive for AFB

- ผลลบ ตรวจไม่พบแบคทีเรียรูปแท่งดิดสีแดง รายงานผลเป็น AFB Not seen

ปฏิบัติตามหลักสากลในการปฏิบัติงานเกี่ยวกับโรคติดเชื้อ

17. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

-

18. สิ่งที่เป็นสาเหตุของความแปรปรวน

-

19. เอกสารอ้างอิง (Reference)

SD-BAC-002 (เอกสารการตรวจทางจุลชีววิทยาคลินิก)

SD-BAC-003 (คู่มือการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สาขาจุลชีววิทยาคลินิก)

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต