

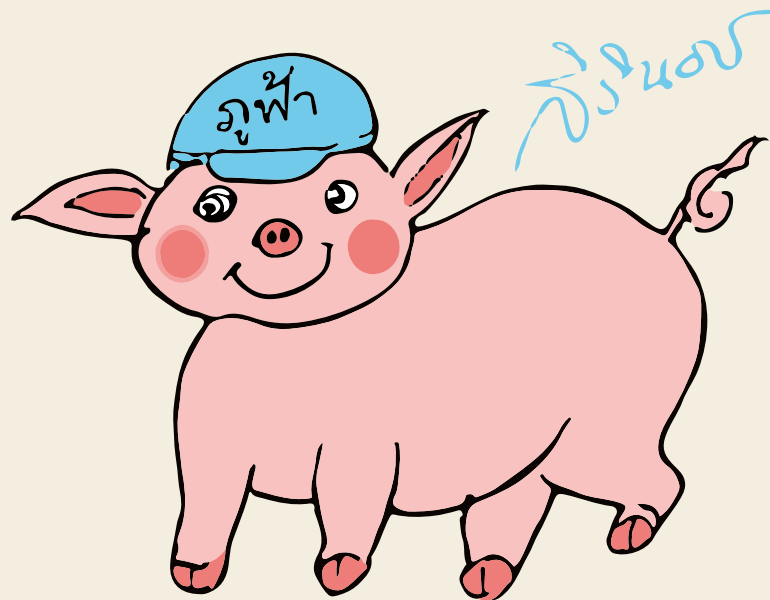


จดหมายข่าว งานสุขภาพ

ปีที่ 17 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม 2019

ISSN 1685-6643

ความร่วมมือไทย - ลาว ด้านการแพทย์และสาธารณสุข ตามพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
เพื่อส่งเสริมการพัฒนาด้านการแพทย์และสาธารณสุขในประเทศไทยและสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว



ทักสิปี่อ๋อ ๒๕๖๒ ทักสิปี่กุนหมอยู่ยังยืน

เรื่องทักสิปี่อ๋อคิดว่า เป็นหม
พิเควระหัดดูไม่วะไร่ง่าย
ทยละเอียดชั้นซ้อนและมากมย
ปัญญาหลายสื่องให้ทำได้ดี
ปี่กุนหรือปี่หมุดิให้แน่
ว่าของแท่งามเลิศเกิดคักดีศรี
กศลกรรมเป็นทนนนนจิวิ
ให้สื่ปี่กุนหมอยู่ยังยืน

Laboratory

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งโรจน์ เชิดตระกูลเกียรติ
ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิกและเทคโนโลยีประยุกต์
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล



การย้อมสีทึบกรด (Acid fast staining) และเกณฑ์มาตรฐานในการรายงานผล (Acid fast staining and standard criteria for reporting)

Acid fast staining เป็นวิธีการย้อมสีทึบกรดที่ใช้เพื่อการวินิจฉัยโรคติดเชื้อในกลุ่ม *Mycobacterium* spp. ซึ่งผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ mycolic acid อยู่มากกว่าร้อยละ 60 ทำให้สามารถติดสีได้ดีแม้จะใช้ decolorizer ที่มีส่วนผสมเป็น acid alcohol ซึ่งการย้อมสีทึบกรดในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ปัจจุบันนิยมใช้อยู่ 2 วิธี ได้แก่ วิธีของ Ziehl Neelsen (heat method) และวิธี Kinyoun (cold method) ซึ่งทั้งสองวิธีจะใช้สี primary stain ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ วิธีของ Ziehl Neelsen ใช้ 0.3% basic fuchsin-5% phenol ซึ่งมีความเข้มข้นของสีน้อยกว่าเพราะใช้ความร้อนช่วยกระตุ้นให้เซลล์ติดสีได้ดีขึ้น ส่วนวิธีของ Kinyoun จะใช้สีที่มีความเข้มข้นมากกว่า คือ 4% basic fuchsin-8% phenol ซึ่งจะทำให้เซลล์ติดสีได้ง่ายโดยไม่ต้องอาศัยความร้อน สำหรับสาร decolorizer และ counter stain จะใช้เหมือนกันทั้งสองวิธี คือ 3% HCl ใน 95% ethyl alcohol และ 0.3% methylene blue ตามลำดับ

สำหรับการย้อมสีทั้งสองวิธี จะให้ผลลัพธ์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 1 กล่าวคือ หากในสิ่งส่งตรวจมีเชื้อ *Mycobacterium* spp. ก็จะทำให้มองเห็นการติดสีที่ผนังเซลล์ของเชื้อเป็นสีแดง ในขณะที่แบคทีเรียชนิดอื่นและเซลล์อื่น ๆ รวมทั้งพื้นหลังของแผ่นสไลด์จะติดสีน้ำเงิน ทำให้สามารถอ่านผลได้ง่าย

เนื่องจากสีติดกันอย่างชัดเจน แต่เนื่องจากสิ่งส่งตรวจที่นิยมส่งตรวจการย้อมสีทึบกรด ส่วนใหญ่จะเป็นสิ่งส่งตรวจเสมหะ (sputum) ดังนั้นการเสมหะลงบนสไลด์ก็มีผลต่อการตรวจพบ acid-fast bacilli (AFB) เช่นกัน เพราะเสมหะจะมีส่วนที่เป็น mucous มาก อาจทำให้ไปบดบังเชื้อก่อโรคหรืออาจทำให้เซลล์ย้อมติดสีได้ไม่ชัดเจน ปัจจุบันจึงมีการคิดค้นการทำ decontaminated sputum เพื่อละลาย mucous ในเสมหะ ทำให้เราสามารถย้อมสีและมองเห็น AFB ได้ง่ายขึ้น และหากนำเอา decontaminated sputum ไปเพาะเลี้ยงเชื้อต่อ ก็จะลดการปนเปื้อนของเชื้อประจำถิ่น (normal biota) ที่ปนมาในเสมหะได้อีกด้วยสำหรับการรายงานผลของการย้อมสีทึบกรด มีเกณฑ์มาตรฐานในการรายงาน ดังแสดงในตารางที่ 1 เนื่องจากต้องมีการ grading ปริมาณของเชื้อ AFB เพื่อเป็นประโยชน์ในการติดตามการรักษาของแพทย์ต่อไป

การย้อมสีทึบกรดเป็นเพียงแค่การวินิจฉัยเชื้อ *Mycobacterium* spp. เบื้องต้น ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นเชื้อในสปีชีส์อะไร ดังนั้น หากต้องการทราบถึงระดับสปีชีส์จะต้องนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อทำการวินิจฉัยต่อไป หรืออาจจะใช้วิธีทางด้านอณูชีวโมเลกุล (molecular method) ช่วยในการวินิจฉัยได้ เช่น การใช้เครื่อง Xpert MTB/RIF ซึ่งเป็นเครื่องอัตโนมัติที่สามารถวิเคราะห์ได้ว่าเป็นเชื้อ *M. tuberculosis* และเป็นเชื้อดื้อยา (MDR-TB) หรือไม่

ตารางที่ 1 เกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ในการรายงานผลการย้อม Acid fast staining

จำนวนของ AFB ที่พบ	จำนวน field ที่ดู	การรายงานผล
ไม่พบ AFB	Per 100 immersion fields	No AFB observed (No AFB per 100 fields)
1-9 AFB	Per 100 immersion fields	Record exact number (1-9 AFB per 100 fields)
10-99 AFB	Per 100 immersion fields	AFB 1+ (10-99 AFB per 100 fields)
1-10 AFB	Per field	AFB 2+ (1-10 AFB per field in 50 fields)
More than 10 AFB	Per field	AFB 3+ (>10 AFB per field in 20 fields)

ที่มา: World Health Organization. Laboratory services in Tuberculosis control Part II: Microscopy 1998: p.43



รูปที่ 1 การติดสีของ Acid-fast bacilli (AFB)
จากเสมหะผู้ป่วยวัณโรค