

**Application of a new blood film staining kit  
in field operation**

**Ditthakorn Rodnak, Pongwit Bualombai, Praneet Uttarapinyo,  
Kanungnit Congpuong, Suebskul Sakolvaree, Komkit Kirdjantug, Chaiporn  
Rojanawatsirivet**

*Laboratory Reference Center, Bureau of Vector Borne Disease*

**Abstract**

A new blood film staining kit was applied to improve the performance of microscopic malaria diagnosis in endemic areas. One hundred blood staining kits were tested in malaria clinics under the responsibility of the Disease Prevention and Control Office (DPCO) number 2-12. The number of test kits sending to the DPCO varied according to their malaria transmission level. Quality of the new staining kit was compared with the routine staining in terms of their ability to clearly differentiate chromatin, cytoplasm and artifacts caused by stain precipitation. The user satisfaction to the new staining kit was also evaluated. Result showed that quality of the new staining kit was better than the routine staining in term of less artifact forming. 50-64% of microscopists in this study preferred the new blood film staining kit and 85% would like to replace the routine staining by this new staining kit. Further improvement should be the packaging and staining tray.

**Key words:** Malaria, Giemsa stain, Staining kit



## การประยุกต์ใช้ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูป

กิตติการ รอดนาค, พงษ์วิทย์ บัวล้อมใบ, ประณีต อุตระภิญโญ, คณิงนิจ คงพ่วง,  
สืบสกุล สากลวาริ, คมกฤษ เกิดจันทิก, ชัยพร โรจนวัฒน์ศิริเวช

สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง กรมควบคุมโรค

### บทคัดย่อ

คณะผู้วิจัยได้พัฒนาชุดย้อมสีสำเร็จรูปเพื่อใช้ย้อมฟิล์มโลหิตในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียอย่างมีประสิทธิภาพและสะดวกต่อการนำไปใช้ในภาคสนาม การศึกษาครั้งนี้เพื่อประเมินผลการประยุกต์ใช้ชุดทดสอบในภาคสนาม ดำเนินการโดยจัดส่งชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูปจำนวน 100 ชุด ให้กับสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2-12 เพื่อนำไปทดลองใช้ในภาคสนาม การประเมินผลประกอบด้วย การประเมินคุณภาพการติดสีของฟิล์มโลหิต การเกิดตะกอนสี เปรียบเทียบกับฟิล์มโลหิตที่ย้อมด้วยยิมฆ่าที่ใช้ในงานปกติ นอกจากนี้ยังได้ประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพของการย้อมติดสีฟิล์มโลหิตดีกว่าวิธีการย้อมแบบปกติและพบตะกอนสีน้อยมาก ผู้ใช้มีความพึงพอใจชุดย้อมสีสำเร็จรูปร้อยละ 50-64 และต้องการที่จะนำมาใช้แทนวิธีการย้อมแบบปกติถึงร้อยละ 85 อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ยังพบข้อบกพร่องในบางจุดของชุดย้อมสีสำเร็จรูปนี้ เช่น ถาดย้อมสีไม่เหมาะสม ซึ่งคณะผู้ศึกษาจะได้ปรับปรุงก่อนที่จะนำไปขยายผลต่อไป

คำรหัส: มาลาเรีย, สียิมฆ่า, ชุดย้อมสีสำเร็จรูป



## บทนำ

ขั้นตอนการตรวจรักษาโรคมalaria เรียกว่าประกอบด้วย การซักประวัติผู้ป่วย เจาะเลือดเพื่อตรวจหาเชื้อในกระแสเลือด ทำฟิล์มเลือดแล้วย้อมด้วยสียิมฆ่า จากนั้นตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ เมื่อตรวจพบเชื้อก็จะให้การรักษาหายขาดด้วยยารักษามalaria เรียกว่า การย้อมฟิล์มเลือดเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญต่อการวินิจฉัยโรคมalaria เรียกว่ามีคุณภาพ มีปัจจัยที่สำคัญที่เกี่ยวข้องคือคุณภาพของสียิมฆ่าที่ใช้ย้อม และบัฟเฟอร์ที่ใช้เป็นตัวเจือจางสียิมฆ่า สียิมฆ่าที่ใช้ในงานปกติของมาลาเรียคลินิกได้รับการเตรียมมาจากห้องปฏิบัติการของสำนักงานป้องกันควบคุมโรค หรือศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง ซึ่งการเตรียมต้องใช้เวลาอย่างน้อย 3 วันเพื่อให้ได้สีที่มีคุณภาพ ปัญหาที่ทำให้คุณภาพสีย้อมไม่ติดมักเกิด

จากการเก็บรักษา เช่น ปิดฝาไม่สนิททำให้เมธานอลซึ่งเป็นส่วนประกอบของสีระเหยไป หรือมีการปนเปื้อนของน้ำลงไป ในสต็อกของสียิมฆ่าเหล่านี้ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดตะกอนสี และคุณภาพของสีเสื่อม เป็นผลให้การติดสีขององค์ประกอบในฟิล์มเลือด เช่น ตัวเชื่อมมาลาเรีย เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด ผิดไปจากเดิม ทำให้การตรวจหาเชื้อมาลาเรียในฟิล์มเลือด ผิดพลาดไปได้ คณะผู้วิจัยจึงได้ประดิษฐ์ชุดย้อมสีสำเร็จรูปขึ้นเพื่อช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้น การศึกษาครั้งนี้เป็นการนำชุดย้อมสีสำเร็จรูปที่ได้พัฒนาขึ้นไปใช้จริงในภาคสนาม และประเมินผลชุดย้อมสีสำเร็จรูปในด้านคุณภาพของการย้อมและความพึงพอใจของผู้ใช้

## วิธีการศึกษา

### กลุ่มตัวอย่าง

จุลทัศน์กรของมาลาเรียคลินิกในสังกัดของสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2 - 12 จำนวน 100 แห่ง ดำเนินการระหว่างเดือนมกราคม 2546 - มิถุนายน 2546

### ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูป

ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูปประกอบด้วย กล่องสำหรับใส่อุปกรณ์ย้อมสี 1 ใบ ขวดแก้วสีขาขนาด 100 ซีซี สำหรับใส่สต็อกสียิมฆ่าจำนวน 2 ใบ ขวดพลาสติกสีขาวใสขนาดบรรจุ 50 ซีซี จำนวน 2 ใบ ขวดพลาสติกสีขาวใสขนาดบรรจุ 20 ซีซี จำนวน 2 ใบ ขวดพลาสติกฝาสีน้ำเงินขนาดบรรจุ 30 ซีซี จำนวน 2 ใบ บัฟเฟอร์ชนิดแคปซูลมี 2 ขนาด คือ ขนาด 0.05 กรัมบรรจุ 100 แคปซูล/ซอง และขนาด 0.02 กรัมบรรจุ 100 แคปซูล/ซอง กระดาษกรอง Whatman No. 2 รูปทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. บรรจุ 100 แผ่น/ซอง (รูปที่ 1)

### การประยุกต์ใช้ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูป

#### ขั้นตอนการย้อม

เติมน้ำในขวดผสมที่จะเตรียมสีขนาด 50 ซีซี โดยเติมน้ำลงไป 45 ซีซี หรือเติมน้ำในขวดผสมที่จะเตรียมสี 20 ซีซี โดยเติมน้ำลงไป 18 ซีซี ผงบัฟเฟอร์มี 2 ขนาด คือ



รูปที่ 1 ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูป

ขนาด 0.02 กรัม ใช้เตรียมบัฟเฟอร์ 18 ซีซี และขนาด 0.05 กรัม ใช้เตรียมบัฟเฟอร์ 45 ซีซี เทผงบัฟเฟอร์ใส่ขวดผสมแล้วเขย่าให้ผงบัฟเฟอร์ละลาย เตรียมสียิมฆ่าโดยเติมสต็อกยิมฆ่าลงในขวดเตรียมที่ได้เตรียมบัฟเฟอร์ไว้แล้ว 45 ซีซี ให้ครบ 50 ซีซี หรือเติมสต็อกยิมฆ่าให้ครบ 20 ซีซี ในขวดเตรียมสีขนาด 20 ซีซี ที่ได้เตรียมบัฟเฟอร์ไว้แล้ว 18 ซีซี ตรวจสอบกระดาษกรองที่บุฝาด้านในของขวดผสมก่อนปิดฝาขวดและเขย่าขวดเพื่อให้สต็อกยิมฆ่าละลายเข้ากับบัฟเฟอร์ให้ได้



**การย้อมฟิล์มเลือด**

ย้อมแบบคว่ำนาน 8-10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดและตากให้แห้ง การล้างสีออกจากฟิล์มเลือด ห้ามเทสีออกจากฟิล์มเลือดโดยตรง แต่ให้เทน้ำล้างสีออกจากฟิล์มเลือดแทน เพื่อป้องกันการเกิดตะกอนสีบนฟิล์มเลือดที่ย้อมแล้ว

**การประเมินคุณภาพและความพึงพอใจของผู้ใช้**

การประเมินคุณภาพและความพึงพอใจของผู้ใช้ ทำโดยสัมภาษณ์ผู้ใช้ตามแบบสอบถามที่ได้จัดทำขึ้น ประกอบด้วยคำถามจำนวน 10 ข้อ

**ผลการศึกษา**

ผลการประเมินคุณภาพและความพึงพอใจของจุลทัศน์กรต่อการใช้ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูปจำนวน 100 ตัวอย่าง ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผู้ใช้ประมาณมากกว่าร้อยละ 80 มีความเห็นว่าคุณภาพการติดสีของชุดย้อมสีสำเร็จรูปนี้สามารถย้อมสีได้สวยชัดเจนจนถึงสวยมากชัดเจนทั้งการย้อมสีไซโตพลาสซึม โครมาติน เม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง และมีตะกอนสีน้อย ร้อยละ

42 เห็นว่าชุดย้อมสีสำเร็จรูปนี้สะดวกมากกว่าการย้อมสีแบบเดิม ร้อยละ 41 เห็นว่ามีความสะดวกเทียบเท่ากับวิธีเดิม และร้อยละ 13 เห็นว่ามีความสะดวกน้อยกว่าวิธีเดิม สำหรับการประเมินความพึงพอใจ มากกว่าร้อยละ 50 มีความพึงพอใจที่จะใช้ชุดย้อมสีสำเร็จรูปนี้ และร้อยละ 85 เห็นว่าสามารถนำชุดย้อมสีสำเร็จรูปนี้มาใช้แทนวิธีการย้อมตามปกติได้

ตารางที่ 1 ผลการประเมินคุณภาพและความพึงพอใจของจุลทัศน์กรต่อการใช้ชุดย้อมสียิมฆ่าสำเร็จรูป

คุณภาพการติดสีของฟิล์มเลือด	สวยมาก ชัดเจน	สวย ชัดเจน	พอใช้
1. การย้อมไซโตพลาสซึม	22 (22.02%)	57 (57.05%)	18 (18.18%)
2. การย้อมโครมาติน	15 (15.30%)	64 (64.30%)	17 (17.34%)
3. การย้อมเม็ดเลือดขาว	20 (20.20%)	60 (60.60%)	18 (18.18%)
4. การย้อมเม็ดเลือดแดง	17 (19.76%)	51 (59.30%)	12 (13.95%)
จำนวนตะกอนที่เกิดขึ้น	น้อย	ปานกลาง	มาก
5. ปริมาณตะกอนที่เกิดขึ้น	83 (83.83%)	14 (14.14%)	2 (2.02%)
ความสะดวกเมื่อเทียบกับวิธีเดิม	มากกว่า	ปานกลาง	น้อยกว่า
6. ความสะดวกของวิธีการ	42 (42.42%)	41 (41.41%)	13 (13.13%)
ความพึงพอใจเทียบกับวิธีเดิม	มากกว่า	ปานกลาง	เท่ากับวิธีปกติ
7. ความพึงพอใจ	53 (53.53%)	29 (29.29%)	8 (8.08%)
8. ความเหมาะสมที่จะใช้ในภาคสนาม	64 (64.64%)	13 (13.13%)	7 (7.07%)
9. ความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้แทนวิธีเดิม	85 (85.85%)	5 (5.05%)	7 (7.07%)
10. ค้นหาผู้ป่วยได้เพิ่มมากขึ้น	61 (61.61%)	19 (19.19%)	17 (17.17%)



## วิจารณ์ผลการศึกษา

การเตรียมสีย้อมฆ่าและบัฟเฟอร์แบบเดิมมีหลายขั้นตอน ต้องใช้เวลาค่อนข้างมาก ชุดย้อมสีสำเร็จรูปที่ได้พัฒนาขึ้นมาช่วยลดขั้นตอนการเตรียมสีและมีประสิทธิภาพดี เทียบเท่ากับวิธีการเตรียมสีฆ่ามาตรฐาน มีความสะดวกในการใช้งาน ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ได้ในงานภาคสนาม จากการศึกษาผู้ใช่มากถึงร้อยละ 86 เห็นด้วยกับการนำชุดย้อมสีสำเร็จรูปนี้มาใช้ในการพัฒนางานตรวจฟิล์มเลือดให้ได้มาตรฐานเดียวกันทั่วประเทศ การย้อมสีควรเป็นวิธีการเดียวกัน การย้อมสีด้วยชุดย้อมสีสำเร็จรูป

นี้จึงน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่ง

การประยุกต์ใช้ชุดย้อมสีย้อมฆ่าสำเร็จรูปในระยะแรก อาจพบปัญหาบ้าง เพราะยังใหม่สำหรับเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติที่ยังไม่คุ้นกับการปรับเปลี่ยนอุปกรณ์บางอย่าง ดังนั้นจึงควรมีการติดตามประเมินผลอย่างต่อเนื่องเพื่อทราบปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ชุดย้อมสีย้อมฆ่าสำเร็จรูป และหาวิธีแก้ไขให้ตรงกับความต้องการของผู้ใช้ในระดับมาลาเรียคลินิกและมาลาเรียคลินิกเคลื่อนที่

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบุคคลที่ช่วยให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จ ประกอบด้วย คุณเกษณี กลัดพ่วง นักวิชาการควบคุมโรค 6 เจ้าหน้าที่ศูนย์อ้างอิงทางห้องปฏิบัติการทุกท่าน หัวหน้ากลุ่มโรคติดต่อฯ โดยแมลง

หัวหน้าศูนย์ควบคุมโรคติดต่อฯ โดยแมลง และหัวหน้าหน่วยควบคุมโรคติดต่อฯ โดยแมลงของสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2-12

## เอกสารอ้างอิง

1. สิบสกุล สากลวารี. งานชันสูตรโรคมาลาเรียและโรคเท้าช้าง. กรุงเทพฯ ฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด ; 2543.
2. ศิริชัย พรรณธนะ. ปาราสิตวิทยาและการวินิจฉัยโรคเท้าช้างทางห้องปฏิบัติการ. กองโรคเท้าช้าง; 2540.
3. กองมาลาเรีย. คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย. กรุงเทพฯ ฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด; 2545.

