



แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง

การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย

WI-LAB-094

แก้ไขครั้งที่ 00

ผู้จัดทำ

อัญชิษฐา

(นางสาวอัญชิษฐา โยธจันทร์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

อัญชิษฐา

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ


พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 1 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

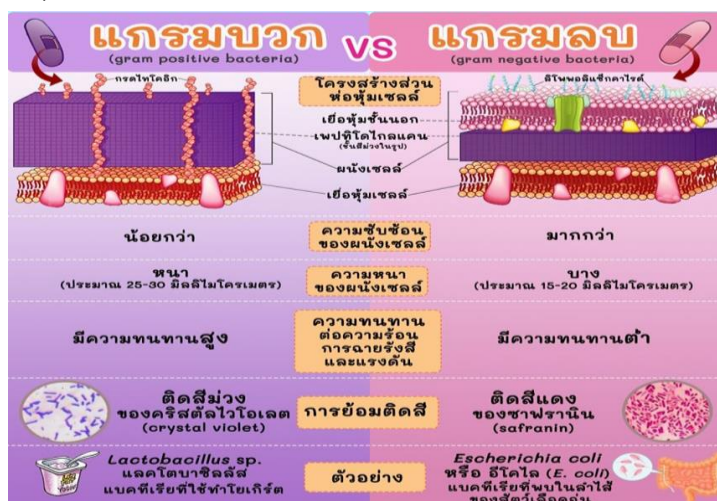
1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (Purpose of the examination)

เพื่อใช้เป็นวิธีการแยกแบคทีเรียทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โดยอาศัยรูปร่าง ขนาด ลักษณะเซลล์ติดสีแกรมใช้ในการวินิจฉัยสาเหตุการติดเชื้อเบื้องต้นอย่างรวดเร็วและใช้ในการประเมินคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ


2. หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ (Principle and method of the procedure used for examinations)

2.1 หลักการ

การย้อมสีแบคทีเรีย (Gram stain) เป็นวิธีที่สำคัญในศึกษาและจำแนกแบคทีเรีย ถูกคิดค้น โดย Han Christian Gram ในปี ค.ศ.1884 เป็นวิธีการใช้จำแนกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม จากความแตกต่างของโครงสร้างของผนังเซลล์ คือ แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) และ แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) การย้อมสีแบคทีเรียแบบแกรม นี้ เป็นการย้อมสีโดยที่ตัวเซลล์จะติดสีพื้นรอบจะไม่ติดสี และการย้อมแบบใช้สีมากกว่า 1 ชนิดหรือใช้สารอื่นร่วมด้วยในการย้อม เรียกว่า differential stain โดย Gram negative เป็นแบคทีเรียที่มีสาร Peptidoglycan เคลือบอยู่บนผิวแบบบางๆ จึงถูกล้างออกได้ง่าย โดย Alcohol acetone ดังนั้น สีที่ย้อมเซลล์ (dye iodine complex) จึงหลุดออกมาด้วย จึงทำให้ผนังเซลล์ติดสีชมพู ขณะที่แบคทีเรียกลุ่ม Gram positive มี peptidoglycan เคลือบอยู่บนผิวหนามากล้างออกไม่ได้ด้วย Alcohol acetone เซลล์จึงติดสีม่วงเข้มของ dye iodine complex (ดังภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างที่แตกต่างกันของแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 2 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

2.2 วิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ

2.2.1 เตรียมเชื้อลงบนแผ่น Slide : การเกลี่ยเชื้อ (smear) บนสไลด์ให้กระจายเป็นฟิล์มบางๆ ไม่ให้

หนาแน่นมากเกินไปและปล่อยให้แห้งในอากาศ (air dry)

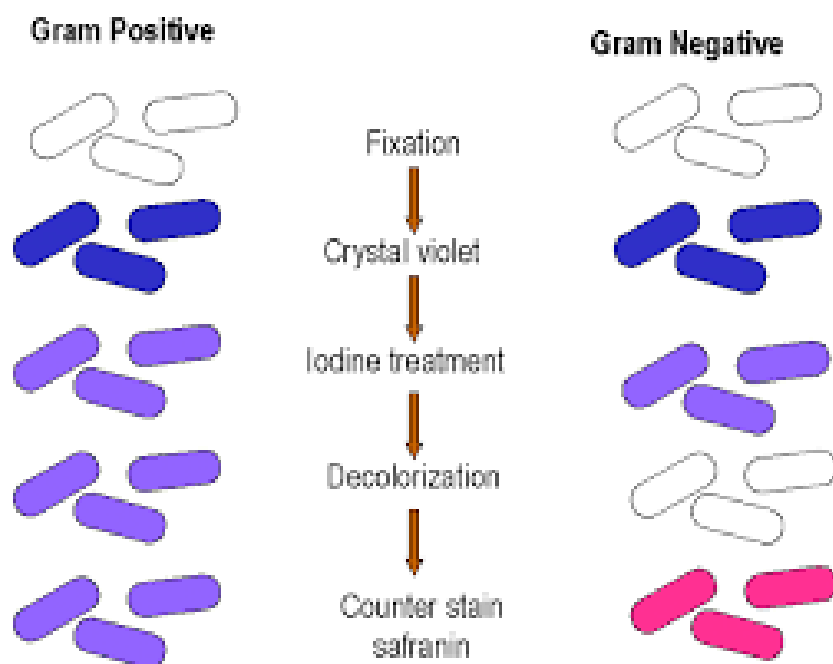
2.2.2 การตรึงเชื้อ (fix) : โดยการผ่านสไลด์ที่เกลี่ยเชื้อไว้แล้วไปบนเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้งซึ่งจะทำให้เชื้อติดแน่นกับสไลด์และไม่หลุดออกขณะย้อมสี


2.2.3 หยดสีคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) : บนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ท่วม ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างสีออก

2.2.4 หยดสารละลายไอโอดีน (lugol's iodine) : บนรอยเกลี่ยของเชื้อ ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างสารละลายไอโอดีนออก โดยสารละลายไอโอดีนทำหน้าที่เป็น mordant ช่วยให้เซลล์ติดสีย้อมได้ดีขึ้น

2.2.5 ล้างสีออก (decolorize) : ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ทิ้งไว้ประมาณ 15 วินาที ล้างน้ำสะอาด ขั้นตอนการล้างน้ำนี้สำคัญมากเพราะเป็นการหยุดปฏิกิริยาการล้างสี

2.2.6 หยดสี safranin : บนรอยเกลี่ย ทิ้งไว้ประมาณ 15-30 วินาที ล้างน้ำและซับให้แห้ง ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 3 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

3. ข้อมูลจำเพาะด้านประสิทธิภาพ (Performance characteristics)

ไม่มี

4. ชนิดตัวอย่าง (Type of sample)


เลือด,เสมหะ,ปัสสาวะ,อุจจาระ,หนอง,สารคัดหลั่งในร่างกาย และน้ำต่างๆ

5. การเตรียมผู้ป่วย(Patient preparation)


การเก็บสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย พาหะ หรือผู้สัมผัสโรค ควรนำส่งห้องปฏิบัติการอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการและการแปลผลของการวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ ดังนั้นผู้ที่ทำการเก็บและนำส่งสิ่งส่งตรวจ ต้องทราบว่าจะเลือกเก็บตัวอย่างตรวจอย่างไร เมื่อไร ใส่ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ หรือ ใส่ภาชนะที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ หรืออาหารเก็บรักษาเชื้อชนิดไหนสำหรับที่จะส่งไปตรวจ

5.1 ชนิด ปริมาณ วิธีเก็บ ภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ การนำส่ง และการเก็บรักษา


สิ่งส่งตรวจ	ภาชนะสำหรับเก็บ	วิธีเก็บ	การนำส่ง	การเก็บรักษา
เสมหะ	ใช้ขวดปราศจากเชื้อที่มีปากกว้าง มีฝาปิดได้แน่น หรือใช้ภาชนะที่แห้งสะอาดที่ยังไม่เคยใช้มาก่อนเช่น ถ้วยกระดาษเคลือบซีฟิ่ง หรือถ้วยพลาสติก เป็นต้น ปิดฝาให้เรียบร้อย	การเก็บเสมหะสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวกับปอดหรือหลอดลม ควรเก็บในตอนเช้า หลังจากตื่นนอนใหม่ๆก่อนเก็บให้ทำความสะอาดช่องปากโดยการบ้วนปากด้วยน้ำสะอาดธรรมดา เพื่อลดจำนวนเชื้อประจำถิ่นให้น้อยลง ห้ามใช้น้ำยาบ้วนปากหรือน้ำยาฆ่าเชื้อใดๆ ให้ผู้ป่วยนอนในลักษณะที่ศีรษะและไหล่ต่ำกว่าทรวงอกเป็นเวลา 10 นาทีแล้วให้ขากหรือไอลึกๆ แรงๆ จนได้เนื้อเสมหะมิใช่น้ำลาย แล้วคายเสมหะนั้นลงในภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ	นำส่งทันที ไม่ควรเกิน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง	ถ้าจำเป็นต้องเก็บไว้เกิน 2 ชั่วโมง ให้เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมง

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 4 จาก หน้า 16
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562


สิ่งส่งตรวจ	ลักษณะ สำหรับเก็บ	วิธีเก็บ	การนำส่ง	การเก็บรักษา
สิ่งส่งตรวจ จากคอ (Throat swab)	ใช้ขวดหรือหลอด ทดลองที่สะอาด ปราศจากเชื้อที่มีฝา หรือจุกปิดได้แน่น อาจหยดน้ำเกลือที่ ปราศจากเชื้อเพื่อ ไม่ให้ swab แห้ง	สำหรับผู้ป่วยที่มีการอักเสบภายใน ช่องปาก ลำคอ หรือบริเวณต่อม ทอนซิล ให้ผู้ป่วยอ้าปากกว้างๆ ใช้ ไม้กดลิ้น กดบริเวณกลางลิ้นไว้(ไม่ ควรกดที่โคนลิ้นเพราะจะทำให้ ผู้ป่วยเกิดการขย้อนและอาเจียน ได้) แล้วใช้ไม้ swab ปราศจากเชื้อ สอดเข้าไปป้ายต่อมทอนซิล 2 ข้าง และบริเวณที่อักเสบหรือมีหนอง ต้องระวังอย่าให้ถูกลิ้นหรือกระพุ้ง แก้ม แล้วใส่ไม้ swab ในขวดหรือ หลอดทดลองที่สะอาดปราศจาก เชื้อหรือ Stuart transport medium ให้ลึกถึงก้นขวด หักไม้ ส่วนที่ยาวเกินไปทิ้ง ปิดจุกให้แน่น	ให้นำส่ง ห้องปฏิบัติการ ทันทีหลังเก็บ ห้ามเก็บไว้ใน ตู้เย็น	ไม่ควรเก็บรักษาให้นำส่ง เพื่อทำการตรวจทันที Swab ที่อยู่ใน Stuart transport medium เก็บ ไว้ได้นาน 48-72 ชั่วโมง (ยกเว้น เชื้อ GC ไม่เกิน 24 ชม.)ที่อุณหภูมิห้อง แต่ ไม่ควรนำไปทำ direct examination
Nasal swab หรือ Naso- pharyngeal swab สำหรับโรคไ กรณ	ใช้กระดาษห่อ กระจกสไลด์แต่ละ แผ่น ส่วน nasal swab หรือ naso- pharyngeal swab ให้บรรจุในขวดหรือ หลอดทดลองที่ สะอาดปราศจากเชื้อ ที่มีฝาหรือจุกปิดได้ แน่น	ให้ทำ nasal swab หรือ naso- pharyngeal swab ป้ายบางๆ บน แผ่นกระจกสไลด์ 1-2 แผ่น สำหรับย้อมสีแกรม ลนไฟอ่อน 2- 3 ครั้งให้แห้ง(ถ้าจะส่ง เพาะเชื้อ ด้วยให้ทำ swab อีกครั้งด้วย swab อันใหม่ แล้วป้ายลงบนลง บน Bordet-Gengou medium ซึ่งใส่ยาเพนนิซิลินกันไม่ให้เชื้ออื่น ขึ้น แล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการ	ให้นำส่ง ห้องปฏิบัติการ ทันทีหลังเก็บ ห้ามเก็บไว้ใน ตู้เย็น	ไม่ควรเก็บรักษาให้นำส่ง เพื่อทำการตรวจทันที

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 5 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562


สิ่งส่งตรวจ	ภาชนะ สำหรับเก็บ	วิธีเก็บ	การนำส่ง	การเก็บรักษา
หนองจาก แผล (Pus)	ขวดหรือหลอดทดลอง สะอาดปราศจากเชื้อที่ มีฝาหรือจุกปิด	1.กรณีเป็นแผลเปิด ให้ใช้สำลีชุบ 70% alcohol หรือน้ำเกลือสะอาด ปราศจากเชื้อ เช็ดทำความสะอาด บริเวณผิวหนังภายนอก รอให้แห้ง ใช้เข็มสะกิดให้แผลเปิด แล้วใช้ไม้ swab ป้ายหนองบริเวณแผลใส่ใน ขวดหรือหลอดทดลองสะอาด ปราศจากเชื้อ หรือ Stuart transport medium ให้ลึกถึงก้น ขวด ปิดฝา ถ้าเป็นตุ่มหนองขนาด ใหญ่ อาจใช้เข็มและกระบอกฉีดยา เจาะดูดใส่ขวดที่สะอาดปราศจาก เชื้อแล้วนำส่งห้องปฏิบัติการ 2.ในกรณีแผลเปิด ให้เก็บโดยใช้ไม้ swab ป้ายหนองบริเวณแผล แล้ว ใส่ในภาชนะสำหรับเก็บ 3.ในผู้ชายที่สงสัยว่าเป็นหนองใน ชนิดเรื้อรัง อาจนวดต่อมลูกหมาก ก่อน เมื่อมีหนองไหลออกมาจึงป้าย ด้วย swab แล้วใส่ในภาชนะ สำหรับเก็บ	นำส่งทันที ไม่ ควรเกิน 2 ชั่วโมง ที่ อุณหภูมิห้อง	1.ถ้าเป็น swab ควรทำ การตรวจทันที 2.Swab ที่เก็บใน Stuart transport medium ให้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้ นาน 1-3 วัน 3.ถ้าเป็นหนองหรือ exudate ที่เก็บใส่ขวด หรืออยู่ในกระบอกฉีดยา อาจเก็บไว้ที่ RT ได้ไม่เกิน 2 ชม.
น้ำจากช่อง ต่างๆ ของ ร่างกาย (Body fluid)	ขวดหรือหลอดทดลอง สะอาดปราศจากเชื้อที่ มีฝาหรือจุกปิด	1.แพทย์จะเป็นผู้เจาะน้ำจากส่วน ต่างๆ ด้วยวิธี aseptic technique ใส่ลงในภาชนะที่เตรียมไว้	ส่งขวดบรรจุ น้ำจากช่อง ต่างๆ นั้นทั้ง ขวด หรือใช้ กระดาดห่อ กระຈກສໄລດ໌	สามารถเก็บไว้ที่ RT ได้ไม่ เกิน 2 ชม. ห้ามเก็บไว้ในตู้เย็น ถ้าเป็น swab ควรทำการ ตรวจทันที

	แผนกพยาบาลวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 6 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

สิ่งส่งตรวจ	ลักษณะ สำหรับเก็บ	วิธีเก็บ	การนำส่ง	การเก็บรักษา
ได้แก่ น้ำเจาะปอด น้ำในช่อง ท้อง น้ำจากข้อ เป็นต้น		2. สำหรับ swab จากตา ควรป้ายบนแผ่นกระจกสไลด์สำหรับย้อมสีแกรม 1-2 แผ่น (เนื่องจากน้ำตามี Lysozyme ซึ่งฆ่า bacteria ได้ ถ้าจะส่งเพาะเชื้อด้วยให้ทำการป้ายอีกครั้งด้วย swab อันใหม่ แล้วป้ายลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น blood agar plate หรือใส่ลงใน Stuart transport medium ปิดจุกแล้วรีบนำส่งห้องปฏิบัติการทันที ห้ามเก็บไว้ในตู้เย็น)	แต่ละแผ่นที่ป้ายน้ำจากช่องต่างๆ นั้น นำส่งห้องปฏิบัติการทันที	
น้ำไขสันหลัง (CSF)	ขวดหรือหลอดทดลองสะอาดปราศจากเชื้อที่มีฝาหรือจุกปิด	แพทย์จะเป็นผู้เจาะน้ำไขสันหลังด้วยวิธี aseptic technique ใส่ลงในภาชนะที่เตรียมไว้	นำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด	ห้ามแช่เย็น ให้เก็บไว้ที่ RT
ปัสสาวะ	ใช้ขวดปากกว้างที่สะอาดปราศจากเชื้อที่มีฝาปิดได้แน่น	ให้เก็บปัสสาวะโดยวิธี clean-voided midstream ในตอนเช้า โดยถ่ายปัสสาวะส่วนแรกทิ้งไป แล้วเก็บปัสสาวะช่วงกลาง(ส่วนท้ายก็ทิ้งไป) บรรจุใส่ขวดสะอาด ปราศจากเชื้อประมาณ 10-50 มล. จำนวน 1 ขวดการเปิดฝาภาชนะ ต้องไม่สัมผัสกับฝาด้านใน และต้องไม่สัมผัสกับผิวหนังด้านในของปัสสาวะ	ส่งขวดบรรจุปัสสาวะนั้นทั้งขวด นำส่งห้องปฏิบัติการทันที ถ้าต้องการเพาะเชื้อเพื่อนับจำนวน bacteria ด้วย ควรส่งให้เร็วที่สุด ไม่ควรรอนานเกิน 2 ชั่วโมง	

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 7 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

สิ่งส่งตรวจ	ลักษณะสำหรับเก็บ	วิธีเก็บ	การนำส่ง	การเก็บรักษา
			เพราะเชื้อ bacteria ที่ปนเปื้อนสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วในน้ำปัสสาวะทำให้ไม่สามารถแยกเชื้อก่อโรคได้	
สิ่งส่งตรวจชนิดอื่นๆ	ขวดหรือหลอดทดลองสะอาดปราศจากเชื้อที่มีฝาหรือจุกปิด	ใช้ไม้พันสำลีป้ายบางๆ ลงบนแผ่นกระจกสไลด์หรือ บรรจุใส่ขวดสะอาดปราศจากเชื้อ	นำส่งทั้งขวดที่บรรจุสิ่งส่งตรวจนั้นหรือใช้กระดาษห่อกระจกสไลด์แต่ละแผ่นที่ป้ายสิ่งส่งตรวจนั้นแล้วนำส่งห้องปฏิบัติการ	ห้ามแช่เย็น ให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 8 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562


5.2 การเตรียมสิ่งส่งตรวจ อาจมีการปั่นแยกในกรณี que สิ่งส่งตรวจเป็นของเหลวหรือน้ำจากช่องต่างๆ ได้แก่

- 5.2.1 การเตรียมสเมียร์สำหรับน้ำไขสันหลังให้เห น้ำไขสันหลังใส่ในหลอดแก้ว 10x60 มม. ที่ปราศจากเชื้อ ปั่น 1,000-1,500 รอบ/นาที นาน 10-15 นาที เทส่วนใสออก แล้วใช้ loop ที่ปราศจากเชื้อจุ่มส่วนที่นอนก้นหลอดบนกระจกสไลด์สะอาดปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้ว fix โดยผ่านเปลวไฟอ่อนๆ 2-3 ครั้ง
- 5.2.2 การเตรียมสเมียร์สำหรับน้ำจากช่องอื่นๆ ถ้าน้ำจากช่องต่างๆ ที่เจาะมา มีความหนืด ควรใช้ หลอดกาแฟดูดมาหยดใส่บนกระจกสไลด์สะอาด แล้วใช้สไลด์อีกแผ่นหนึ่งกดลงไปแล้วลากออกจากกัน จะได้ฟิล์มที่สม่ำเสมอ ปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้ว fix โดยผ่านเปลวไฟอ่อนๆ 2-3 ครั้ง แต่ถ้า น้ำที่เจาะได้ ไม่มีความหนืดให้ทำเช่นเดียวกับน้ำไขสันหลัง
- 5.2.3 การเตรียมสเมียร์สำหรับปัสสาวะนำปัสสาวะไม่ปั่นมาหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์สะอาด 2-4 หยด หรือประมาณ 100-200 ไมโครลิตร ใช้ pipette tip ผ่านเปลวไฟอ่อนๆ 2-3 ครั้ง
- 5.2.4 การเตรียมสเมียร์สำหรับเสมหะ ใช้ไม้ไผ่สำหรับเสียบลูกชิ้นหรือไม้จิ้มฟันโดยหักให้ปลายเป็นเส้น แล้วจิ้มเสมหะบริเวณที่มีลักษณะเป็นมูกข้น มีสีหรือปนเลือดมาทาบนแผ่นกระจกสไลด์ปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้ว fix โดยผ่านเปลวไฟอ่อนๆ 2-3 ครั้ง
- 5.2.5 การเตรียมสเมียร์สำหรับสิ่งส่งตรวจอื่นๆ นำสิ่งส่งตรวจมาทำสเมียร์บางๆ บนแผ่นกระจกสไลด์ ปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้ว fix โดยผ่านเปลวไฟอ่อนๆ 2-3 ครั้ง

5.3 การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจ : อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 20 – 40 องศาเซลเซียส

5.4 เงื่อนไขต่างๆ ที่ไม่ยอมรับสิ่งส่งตรวจ

- 5.4.1 ข้อมูลการนำส่งตรวจที่จำเป็นไม่ครบถ้วน/ไม่ถูกต้อง เช่น ไม่มีใบนำส่งหรือรายละเอียดของสิ่งส่งตรวจไม่ครบถ้วนหรือไม่มีรายละเอียดเลย ชื่อผู้ป่วยในใบนำส่งตรวจไม่ตรงกับในภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ
- 5.4.2 สิ่งส่งตรวจที่ได้จากการเก็บ-เก็บรักษาไม่ถูกวิธีการตรวจสอบด้วยตาเปล่าได้แก่
 - 5.4.2.1 ใช้ภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจไม่ถูกต้อง
 - 5.4.2.2 สิ่งส่งตรวจแห้ง ภาชนะที่ใช้บรรจุมีการรั่วซึม ปนเปื้อนจากสิ่งต่างๆ เช่น ผง แผลง
 - 5.4.2.3 เก็บได้สิ่งส่งตรวจไม่ตรงตามข้อกำหนด เช่น การเก็บเสมหะแต่ได้น้ำลาย, การเก็บปัสสาวะที่มีการปนเปื้อนเซลล์ที่หลุดร่วงมาจาก vagina หรือมีเลือดประจำเดือนปนมาด้วย
 - 5.4.2.4 การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจในภาชนะที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ , ระยะเวลาการนำส่ง , ชนิด เช่น ปัสสาวะที่นำส่งตรวจช้าหรือทิ้งไว้นานเกินไปจน bacteria หลายชนิดเจริญเติบโตบดบังเชื้อก่อโรค หรือเข้าใจผิดว่าเป็นเชื้อก่อโรค เป็นต้น

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 9 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

5.4.3. สิ่งส่งตรวจที่ได้จากการเก็บ-รักษาไม่ถูกวิธีจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ สิ่งส่งตรวจบางชนิดอาจไม่สามารถตรวจสอบความถูกต้องของการเก็บสิ่งส่งตรวจได้ด้วยตาเปล่าอย่างเดียว จึงต้องมีการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้แก่ เสมหะ และปัสสาวะ เป็นต้น

สิ่งส่งตรวจ	สิ่งที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์		ผลการตรวจรับสิ่งส่งตรวจ (คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ)
	Epithelial cell	WBC	
เสมหะ	มากกว่าหรือเท่ากับ 10 cells/LPF โดยดูจาก smear ที่ผ่านการย้อมแกรมแล้ว	ไม่เกิน 25 cells/LPF	ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ (ขอเก็บสิ่งส่งตรวจใหม่)
ปัสสาวะ	Squamous Epithelial cell มากกว่า 5 cells/HPF โดยการดูจากตะกอนปัสสาวะ ในขณะที่ตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ (U/A) ถ้าพบในผู้หญิงอาจเป็นเซลล์ ที่หลุดร่วงมาจากบริเวณปากช่อง คลอดหรือ vulva หรือปนเปื้อนมา จากตกขาว(leukorrhea)		ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ (ขอเก็บสิ่งส่งตรวจใหม่)

6. ชนิดของภาชนะและสารเติมแต่ง (Type of container and additives)


ใส่ภาชนะที่ปราศจากเชื้อ (Sterile container)

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (Required equipment and reagents)

ชุดน้ำยา gram stain ประกอบด้วยน้ำยา 4 อย่าง ดังนี้

7.1 สี Crystal violet

7.2 น้ำยา gram iodine

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณัฏฐ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 10 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

7.3 น้ำยา decolorize ได้แก่ 95% ethyl alcohol หรือ alcohol-acetone(1:1)

7.4 สี Safranin O

8. การควบคุมสภาวะแวดล้อมและความปลอดภัย (Environmental and safety controls)

8.1 สิ่งส่งตรวจส่วนใหญ่อาจมีการปนเปื้อนเชื้ออันตรายต่างๆ ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานควรสวมถุงมือทุกครั้งก่อน

ปฏิบัติการ ขณะเตรียมและ fix สเมียร์จะต้องปฏิบัติการใน ตู้ Biohazard

8.2 อุณหภูมิห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 20 – 40 องศาเซลเซียส

9. ขั้นตอนการสอบเทียบตรวจสอบ (Calibration procedures)

ไม่มี

10. ขั้นตอนของกระบวนการงาน(Procedural Steps)

วิธีปฏิบัติ (Test procedure) : ขั้นตอนการย้อมแกรม

10.1 นำกระจกสไลด์ที่ถูกป้ายสิ่งส่งตรวจลงไปแล้วมาวางไว้บน rack ย้อม (เป็นสไลด์ที่ได้จากขั้นตอนการ

เตรียมสิ่งส่งตรวจ ที่ผ่านการป้ายตัวอย่างตรวจทำ smear ที่บางอย่างสม่ำเสมอบนกระจกสไลด์สะอาด ปราศจากไขมัน ปลอ่ยให้แห้งแล้ว fix ด้วยความร้อนอ่อนๆ จากเปลวไฟของตะเกียงเพื่อให้สิ่งที่ป้ายติดแน่นกับสไลด์)

10.2 ย้อมด้วย Crystal violet นาน 1 นาที แล้วล้างสีออก


10.3 ย้อมซ้ำด้วย gram iodine นาน 1 นาที แล้วล้างสีออก

10.4 ล้างสีออก (decolorize) ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ทิ้งไว้ประมาณ 15 วินาที ล้างน้ำสะอาด (ขั้นตอนนี้ถ้าล้างด้วย decolorize นานกว่าเวลาที่ระบุมักจะทำให้การติดสีผิดคือทำให้ bacteria แกรมบวก ติดสีแดงกลายเป็น แกรมลบ)

10.5 ย้อมทับด้วย Safranin นาน 30 วินาที

10.6 ล้างด้วยน้ำประปาจนไม่มีสีซึมออกให้เห็น ซับด้วยกระดาษซับให้แห้ง

10.7 แล้วนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 11 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ(Quality Control Procedures)

เชื้อ Quality control ที่ต้องนำมาเตรียมเป็น IQC sample โดยเตรียม fix ไว้บนสไลด์แก้วเก็บไว้ได้แก่

11.1 Staphylococcus aureus ATCC 25923 สำหรับทำ IQC gram positive

Escherichia coli ATCC 25922 สำหรับทำ IQC gram negative

11.2 หรืออาจใช้ IQC sample ที่เตรียมและส่งมาโรงพยาบาลจังหวัดที่เป็นแม่ข่ายดูแลระบบคุณภาพ

ห้องปฏิบัติการ และให้บันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ IQC sample ลงใน บันทึกการตรวจคุณภาพสี Gram ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

11.3 ต้องย้อมสีแกรม อ่านผล และบันทึกผลวิเคราะห์ IQC sample ทุกครั้งที่เปลี่ยนกล่อง Lot ใหม่หรือแบ่งมาและสัปดาห์ละ 1 ครั้งเฉพาะในวันที่มีการใช้สีย้อมตัวอย่างผู้ป่วย

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

วงรอบการทำ EQA/PT sample

12.1 เข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สาขาจุลชีววิทยาคลินิก สำนักมาตรฐาน

ห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ความถี่ที่ต้องวิเคราะห์ EQA/PT sample พร้อมกับตัวอย่างตรวจของผู้ป่วยปีละ 3 ครั้ง


12.2 เมื่อผลประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด ให้บันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวนการทดสอบ(Interferences)

ไม่มี

14. หลักการของขั้นตอนคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งค่าความไม่แน่นอนของการวัดของการทดสอบเชิงปริมาณ (Principle of procedure for calculating result including,where relevant,the measurement uncertainty of measured quantity values)

ไม่มี

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 12 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

15. ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก (Biological reference intervals or clinical decision values)

การอ่านผลแกรมด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Macroscopic Examination)

15.1 การตรวจดูเซลล์จากร่างกาย ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว (PMN และ Mononuclear cell) และ เซลล์บุผนัง(epithelial cell) เป็นต้น เซลล์เหล่านี้ทั้งหมดจะติดสีแดงของ safranin การตรวจดูเซลล์จากร่างกาย มีวัตถุประสงค์ดังนี้

15.1.1 ตรวจดูคุณภาพของสิ่งส่งตรวจว่าเก็บได้ถูกต้องเพียงพอ เช่น ในเสมียร์ที่ย้อมแกรมซึ่งเตรียมจากเสมหะ การตรวจพบ WBC ไม่เกิน 25 cells/LPF และ/หรือพบ Epithelial cell ตั้งแต่ 10 cells/LPF ขึ้นไป แสดงว่าเป็นน้ำลายมิใช่เสมหะ ให้ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ และดำเนินการขอให้เก็บสิ่งส่งตรวจใหม่พร้อมทั้งให้คำแนะนำวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจที่ถูกต้องด้วยแต่ถ้าตรวจพบ ciliated epithelial cell แสดงว่าสิ่งส่งตรวจนั้นเป็นเสมหะจริงเป็นต้น

15.1.2 ประเมินสาเหตุหรือระยะของการติดเชื้อ เช่น การตรวจพบ PMN จำนวนมาก มักแสดงให้เห็นว่ามีการติดเชื้อ bacteria และเป็นการติดเชื้อในระยะแรกด้วย แต่ถ้าพบเซลล์พวก mononuclear cell ส่วนมากมักเป็นการติดเชื้อไวรัส วัณโรค เชื้อราหรือเป็นการติดเชื้อ bacteria แบบเรื้อรัง

15.2 การตรวจดู Bacteria เมื่อนำเสมียร์ที่ผ่านการย้อมแกรมมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ให้ตรวจดูการติดสีแกรม, รูปร่าง(morphology) และกรณีพบการเรียงตัวที่มีลักษณะเฉพาะชัดเจนอาจเพิ่มการอ่านผลลักษณะการเรียงตัว(arrangement) ด้วยได้ ลักษณะที่พบจากการดูเสมียร์มีดังนี้

15.2.1 การติดสี ถ้าเป็น Gram positive จะติดสีม่วง ส่วน Gram negative จะติดสีแดง

15.2.2 ลักษณะรูปร่างพบได้หลายแบบตาม Genus/Species ของ bacteria เช่น

15.2.2.1 Cocci

15.2.2.2 Diplococci

15.2.2.3 Coccobacilli

15.2.2.4 Bacilli


15.2.2.5 Bacilli with pleomorphic appearance

15.2.2.6 Bacilli with terminal spore

15.2.2.7 Bacilli with subterminal spore

15.2.2.8 Bacilli with central spore

15.2.2.9 Bacilli with subterminal and central spore

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 13 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

15.2.2.10 Bacilli with metachromatic granule

15.2.2.11 Bacilli with bipolar staining

15.2.3 การเรียงตัว ที่พบบ่อย เช่น

15.2.3.1 Bacteria อยู่เดี่ยวและกลุ่ม รายงานเป็น Single and Cluster

15.2.3.2 Bacteria อยู่เป็นคู่และเรียงเป็นสายสั้น รายงานเป็น in pair and short chain

15.2.3.3 Bacteria อยู่ไม่เป็นระเบียบ รายงานเป็น irregular arrangement

15.2.3.4 Bacteria เรียงตัวคล้ายอักษรจีน รายงานเป็น in Chinese letter or palisades

15.2.4 ตัวอย่างการอ่านผลการติดสี ลักษณะรูปร่าง และการเรียงตัว ที่พบบ่อย เช่น

15.2.4.1 Gram positive cocci in pair and short chain

15.2.4.2 Gram positive bacilli with round terminal spore

15.2.4.3 Gram negative pleomorphic bacilli with capsule

15.2.4.4 Gram negative diplococci (kidney shape)

15.2.4.5 Gram positive diplococci (lancet shape)

15.2.4.6 Gram negative bacilli with bipolar staining


15.2.4.7 Gram positive cocci in single, pair and cluster

16. ช่วงค่ารายงานผลการทดสอบ (Reportable interval of examination results)

การรายงาน ให้รายงานจำนวน Bacteria การติดสีแกรม-รูปร่างลักษณะ-การเรียงตัว และจำนวนเซลล์จากร่างกาย โดยอาศัยหลักดังนี้

16.1 รูปแบบการรายงานจำนวน

จำนวน	ความหมาย
Rare	มีเซลล์จากร่างกายหรือ Bacteria น้อยกว่า 1 cell/oil field
Few	มีเซลล์จากร่างกายหรือ Bacteria 1 - 5 cells/oil field
Moderate	มีเซลล์จากร่างกายหรือ Bacteria 5 - 30 cells/oil field
Numerous	มีเซลล์จากร่างกายหรือ Bacteria มากกว่า 30 cells/oil field

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 14 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

16.2 ตัวอย่างการรายงานผลแกรมจาก pus smear


Number-Gram-Morphology-Arrangement	PMN	Mononuclear cell	Epithelial cell
Numerous gram negative bacilli Moderate gram negative diplococci(kidney shape)	Numerous	Few	Rare

16.3 ตัวอย่างการรายงานผลแกรมจาก Sputum smear

Specimen	Number-Gram-Morphology-Arrangement	PMN	Mononuclear cell	Epithelial cell
Pus	Moderate gram negative diplococci (kidney shape)	Numerous	Few	
Sputum	- Numerous gram negative bacilli - Moderate gram positive diplococci(lancet shape)	Numerous (> 25 cells/LPF)	Few	Rare (< 10 cells/LPF)

เฉพาะการรายงานผลแกรมหรือ AFB stain จาก Sputum smear ต้องบอกคุณภาพของ Sputum ด้วยว่าเก็บมาอย่างถูกต้อง โดยรายงานเพิ่มเติมบริเวณข้างล่างของจำนวนเซลล์จากร่างกายได้แก่ PMN, Mononuclear cell และ Epithelial cell โดยมีรูปแบบการรายงาน คือ ถ้าเป็น PMN และ Mononuclear cell ให้รายงาน (> 25 cells/LPF) ส่วน Epithelial cell ให้รายงาน (< 10 cells/LPF) ถ้าเก็บ sputum มาอย่างไม่ถูกต้องให้รายงานตรงข้ามกัน เช่น PMN < 25 cells/LPF , Epithelial cell > 10 cells/LPF

16.4 บันทึกผลที่ใช้รายงานลงในแบบบันทึกการดูสไลด์สำหรับตรวจหาเชื้อจุลชีพและใน LIS แล้วพิมพ์ใบรายงานผลจาก LIS เพื่อส่งมอบให้ผู้รับผลงาน

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 15 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11พฤศจิกายน 2562

17. คำแนะนำ สำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด (Instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)

กรณีสิ่งส่งตรวจที่เก็บมาไม่มีคุณภาพ เช่นต้องการตรวจเสมหะแต่เก็บได้แต่น้ำลาย จะแนะนำคนไข้เก็บส่งตรวจมาส่งใหม่อีกครั้งเพื่อผลการตรวจจะได้มีคุณภาพมากยิ่งขึ้น

18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม (Alert /Critical values, Where appropriate)

รายงานแพทย์ด่วนเมื่อตรวจพบเชื้อจุลชีพในเลือดและใน Sterile site เช่น CSF เป็นต้น

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (Laboratory clinical interpretation)

แปลผลจากการดูสไลด์สำหรับตรวจหาเชื้อจุลชีพพร้อมกับผลLabตัวอื่นๆและอาการทางคลินิก

20. แหล่งที่มาของค่าความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (Potential sources of variation)

20.1 ถ้าไม่ปฏิบัติตามวิธีการย้อมโดยเคร่งครัด อาจทำให้ผลการย้อมติดสีผิดพลาด เช่น

20.1.1 การ Decolorize นานเกินไป จนทำให้bacteria ติดแกรมลบหมด และการ Decolorize น้อยเกินไป จนทำให้bacteria ติดแกรมบวกหมด

20.1.2 slide สกปรกสไลด์ที่ใช้ต้องสะอาดปราศจากไขมัน


20.1.3 เตรียมสเมียร์หนาเกินไปจะทำให้ Decolorize ยาก และทำให้แบคทีเรียติดสีผิด การทำ smear ต้องทำให้ได้ film ที่บางสม่ำเสมอ

20.1.4 ใช้ความร้อนมากเกินไปในการ fix smear หรือ การ fix สไลด์ขณะที่ตัวอย่างตรวจยังไม่แห้งดี เพราะจะทำให้เซลล์แบคทีเรียพอง ทำให้รูปร่างผิดไปจากเดิม

20.1.5 การย้อมสีต้องใส่สีให้ท่วมสไลด์ อย่าปล่อยให้สีแห้ง เพราะจะทำให้เกิดมีตะกอนสีทำให้สไลด์ไม่สวยและอ่านผลยาก

20.1.6 การเติม 5% NaHCO₃ 5 หยดเป็น Buffer ตามลงไป crystal violet จะช่วยให้ anaerobic bacteria ติดสีถูกต้องยิ่งขึ้น

20.2 คุณสมบัติของเชื้อในการติดสีขึ้นกับชนิดเชื้อ สภาวะเพาะเชื้อ เชื้อที่มีอายุมากจะมีแนวโน้มที่จะถูก ล้างสี crystal violet ออกด้วยน้ำยา decolorize ได้ง่าย

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-094	หน้า 16 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 00	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

20.3 ไม่ควรย้อมสไลด์ครั้งละมากๆ

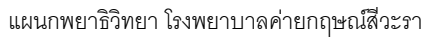
20.4 เชื้อแกรมบวกที่ย้อมติดสีผิดเป็นแกรมลบได้ เนื่องจากการใช้ antibiotic ในผู้ป่วย ทำให้ส่วนประกอบของ cell wall ผิดไป เชื้ออายุมากไป หรือมี autolytic enzyme ซึ่งมีผลต่อ cell wall ทำให้ crystal violet ถูกชะออกง่าย เมื่อ decolorize

20.5 Bacteria ส่วนมากมักติดสีแกรมบวกได้ดี เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง และจะติดสีแกรมลบเมื่อเพาะเชื้อบนอาหารเหลว จึงทำให้สับสนได้ง่าย ในกรณีเช่นนี้ควรย้อม bacteria ที่เป็น young culture คือ ประมาณ 4 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรียที่แบ่งตัวช้า และ 1 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรียที่แบ่งตัวเร็ว จะได้ผลตรงตามความเป็นจริงมากขึ้น

20.6 เมื่อผลการย้อมแกรมได้ผลไม่ชัดเจน อาจต้องใช้ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการวิธีอื่นๆ เช่นการเพาะเชื้อ และการแยกชนิดของเชื้อ

21. เอกสารอ้างอิง (References)

- 21.1 คู่มือการตรวจทางจุลชีววิทยาคลินิก, กองมาตรฐานชั้นสูงตรสารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์การศาสนา. กรุงเทพมหานคร. 2529
- 21.2 การตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นทางจุลชีววิทยาคลินิก, สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. บริษัท ไอ.คิว. บุ๊คเซ็นเตอร์ จำกัด. 2541



ชื่อเอกสาร.....WI-LAB-094 : วิธีปฏิบัติงานเรื่อง การย้อมสีแกรมเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย

[illegible]