

วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสาร .....การย้อมสี..Wright-Giemsa..Stain.....

รหัสเอกสาร .....WI-LAB-H014.....

|                                                                                                                                                                                                         |                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <p>ผู้จัดทำ.....</p> <p>(.....นายกฤษเวท.....แซ่ท้าว.....)</p> <p>ตำแหน่ง .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....</p>     | <p>วันที่จัดทำ.....5..มกราคม..2569.....</p>    |
| <p>ผู้ทบทวน.....</p> <p>(.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....)</p> <p>ตำแหน่ง .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....</p>     | <p>วันที่ทบทวน.....5..มกราคม..2569.....</p>    |
| <p>ผู้อนุมัติ.....</p> <p>(.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....)</p> <p>ตำแหน่ง .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....</p> | <p>วันที่อนุมัติ.....6..มกราคม..2569.....</p>  |
| <p>สำเนาฉบับที่.....01.....</p>                                                                                                                                                                         | <p>ผู้ถือครอง.....เทคนิคการแพทย์.....</p>      |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....00.....</p>                                                                                                                                                                        | <p>วันที่เริ่มใช้.....2..ตุลาคม..2558.....</p> |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....01.....</p>                                                                                                                                                                        | <p>วันที่เริ่มใช้.....2..มกราคม..2566.....</p> |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....02.....</p>                                                                                                                                                                        | <p>วันที่เริ่มใช้.....6..มกราคม..2569.....</p> |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....</p>                                                                                                                                                                               | <p>วันที่เริ่มใช้.....</p>                     |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....</p>                                                                                                                                                                               | <p>วันที่เริ่มใช้.....</p>                     |

|                                                                                                   |                                                          |                                                           |                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
|                  | วิธีปฏิบัติงาน:<br><b>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)</b> | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 2 ของ 6       |
|                                                                                                   | เรื่อง : การย้อมสี Wright-Giemsa Stain                   | เอกสารเลขที่ : <b>WI-LAB-H014</b>                         | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| ผู้จัดทำ : นายฤทธิเดช แซ่ท้าว ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ วันที่ 5 มกราคม 2569                      |                                                          |                                                           |                    |
| ผู้รับรอง : นางสาวจิราพร ใจชื่น ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ วันที่ 5 มกราคม 2569                    |                                                          |                                                           |                    |
| ผู้อนุมัติ : นางสาวจิราพร ใจชื่น ตำแหน่ง หัวหน้างานเทคนิคการแพทย์ วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569 |                                                          |                                                           |                    |

#### รายการทบทวนและแก้ไข

| แก้ไขครั้งที่ | วันที่        | รายละเอียดการแก้ไข |
|---------------|---------------|--------------------|
| 00            | 1 ตุลาคม 2558 | - เริ่มจัดทำ       |
| 00            | 2 ตุลาคม 2558 | - ประกาศใช้        |
| 01            | 1 มกราคม 2566 | - ทบทวนเอกสาร      |
| 01            | 2 มกราคม 2566 | - ประกาศใช้        |
| 02            | 5 มกราคม 2569 | - ทบทวนเอกสาร      |
| 02            | 6 มกราคม 2569 | - ประกาศใช้        |
|               |               |                    |
|               |               |                    |
|               |               |                    |
|               |               |                    |

|                                                   |                                                           |                    |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction) | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 3 ของ 6       |
| เรื่อง : การย้อมสี Wright-Giemsa Stain            | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H014                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                   |                                                           |                    |

## 1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการย้อมสี Wright-Giemsa stain ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

## 2.การนำไปใช้ (Application)

- 2.1 เพื่อใช้ย้อมสีดูรูปร่างเซลล์เม็ดเลือดที่ปกติและผิดปกติ เช่น เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด
- 2.2 เพื่อใช้ย้อมสีในเลือดนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว
- 2.3 เพื่อใช้ย้อมสีใน Body fluid นับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว
- 2.3 เพื่อใช้สีเชื้อ Malaria ในการแยกชนิดและนับจำนวนเชื้อ
- 2.4 เพื่อใช้ย้อมสีปรสิตที่ติดเชื่อในกระแสเลือด เช่น microfilaria เป็นต้น
- 2.5 เพื่อใช้ย้อมสีเชื้อราที่ก่อโรคฉวยโอกาสในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น Binary fission เป็นต้น
- 2.6 เพื่อใช้ย้อมสีดูเซลล์ผู้ป่วยที่สงสัยเป็นโรครีม เช่น Multinucleated giant cell เป็นต้น

## 3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

เอกสารใบแนบนํ้ายา ย้อมสี Wright-Giemsa stain

## 4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

-

## 5.หลักการ (Principle)

สีย้อม Wright-Giemsa Stain ใช้ในการย้อมฟิล์มเลือด (Staining Blood Film) เป็นสีที่ใช้สำหรับย้อมตรวจดูลักษณะ เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ และใช้ในการตรวจเชื้อมาลาเรีย ประกอบด้วยสีสำคัญ ได้แก่ สารละลาย Wright-Giemsa Fixative สี Wright-Giemsa Stain สารละลาย Wright-Giemsa Buffer สี Wright's Stain เมื่อย้อมสีแล้วทำให้ส่วนที่ติดสีน้ำเงินหรือม่วง เช่น ส่วนนิวเคลียสของเม็ดเลือดขาว เป็นต้น ส่วนของเม็ดเลือดที่มีสภาพเป็นต่าง เมื่อทำการย้อมแล้วจะจับกับส่วนที่เป็นกรดของสี (acid dyes) ทำให้ส่วนนั้นๆ ติดสีแดงชมพู เช่น granule ของเม็ด

|                                                   |                                                           |                    |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction) | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 4 ของ 6       |
| เรื่อง : การย้อมสี Wright-Giemsa Stain            | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H014                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                   |                                                           |                    |

เลือดขาวชนิด eosinophile ส่วนสีย้อม Giemsa stain จะย้อมเม็ดเลือดที่มีสภาพเป็นกรด ให้ถูกจับด้วยส่วนที่เป็นด่างของสี (basic dyes) ทำให้ส่วนนั้นติดสีน้ำเงินหรือม่วง เช่นส่วนนิวเคลียสของเม็ดเลือดขาว เป็นต้น ส่วนของเม็ดเลือดที่มีสภาพเป็นด่าง เมื่อทำการย้อมแล้วจะจับกับส่วนที่เป็นกรดของสี (acid dyes) ทำให้ส่วนนั้นๆติดสีแดง ชมพู เช่น granule ของเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophile เป็นต้นส่วนของสี Giemsa stain จะช่วยเสริมการติดสีของเม็ดเลือดแล้วยังช่วยย้อมเชื้อมาลาเรียให้เห็นชัดเจนมากขึ้น

## 6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

6.1 QP-LAB-001

6.2 QP-LAB-002

## 7.ความปลอดภัย (Safety)

7.1 ปฏิบัติงานโดยนักเทคนิคการแพทย์

7.2 สวมถุงมือ เสื้อกาวน์ (gown) แว่นตา และหน้ากากอนามัย ป้องกันการปนเปื้อนขณะ

ปฏิบัติงาน

7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งลงในถังขยะติดเชื้อ

7.4 Wright-Giemsa stain จัดเป็นสารเคมีอันตรายต่อสุขภาพ เมื่อสัมผัสทางผิวหนัง เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและบริเวณเนื้อเยื่อต่างๆ ถูกสัมผัสทางตา ก่อให้เกิดระคายเคืองในตาและตาแดง สุดตมมาก ก่อให้เกิดระคายเคืองต่อระบบหายใจ อาจทำให้เกิดอาการไอ เจ็บคอ และถ้ารับประทานจำนวนมาก ก่อให้เกิด คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย

## 8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

8.1 สีย้อม Wright-Giemsa stain

8.2 Fixative

8.3 Buffer

8.4 กล้องจุลทรรศน์

8.5 Auto pipette

8.6 Pipette yellow tip

8.7 สไลด์ฝ้า

|                                                   |                                                           |                    |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction) | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 5 ของ 6       |
| เรื่อง : การย้อมสี Wright-Giemsa Stain            | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H014                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                   |                                                           |                    |

## 9.สารมาตรฐาน (Standard)

-

## 10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

- 10.1 เขียนชื่อ-นามสกุล ผู้ป่วยลงบนแผ่นสไลด์
- 10.2 หยดเลือด 1 หยดแล้วทำการไลสไลต์ แล้วปล่อยให้แห้ง
- 10.3 Fix สไลด์ โดยจุ่มลงใน Fixative
- 10.4 นำแผ่นสไลด์ จุ่มแช่ลงในสี Wright-Giemsa stain นาน 1 นาที
- 10.5 นำแผ่นสไลด์ จุ่มแช่ลงใน Buffer นาน 1 นาที
- 10.6 เช็ดด้านหลังแผ่นสไลด์ให้สะอาด ปล่อยให้แห้งแล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

## 11.การคำนวณ (Calculation)

-

## 12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

### การควบคุมคุณภาพภายใน

- การควบคุมคุณภาพสีย้อม Wright-Giemsa stain สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ตรวจสอบคุณภาพของสีย้อมที่เตรียมไว้ โดยการตรวจสอบการติดสีของเซลล์ในการย้อมทุกสัปดาห์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุ (Objective) กำลังขยาย 100X สีย้อมที่ได้คุณภาพจะพบเซลล์ในสเมียร์เลือดลักษณะดังนี้

- 12.1 เซลล์เม็ดเลือดแดงติดสีชมพู แดง ฮีโมโกลบิน
- 12.2 เซลล์ชนิด นิวโทรฟิล พบนิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม ไซโทพลาซึมติดสีชมพูอมม่วง มีแกรนูลละเอียดติดสีชมพูปนม่วง
- 12.3 เซลล์ชนิด อีโอสิโนฟิล พบนิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม พบแกรนูลขนาดใหญ่ติดสีส้มแดง
- 12.4 เซลล์ชนิด เบโซฟิล พบแกรนูลขนาดใหญ่ติดสีน้ำเงินปนดำเต็มเซลล์จึงมองไม่เห็นนิวเคลียส

|                                                   |                                                           |                    |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction) | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 6 ของ 6       |
| เรื่อง : การย้อมสี Wright-Giemsa Stain            | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H014                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                   |                                                           |                    |

- 12.5 เซลล์ชนิด ลิมโฟไซต์ พบนิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโทพลาสซึมติดสีฟ้าอ่อนหรือ  
จาง
- 12.6 เซลล์ชนิด โมโนไซต์ พบนิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโทพลาสซึมติดสีฟ้าอมเทา
- 12.7 เกล็ดเลือดติดสีชมพู

#### การควบคุมคุณภาพภายนอก

-

### 13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

### 14. การรายงานผล (Report of analysis)

-

### 15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ EDTA Blood, Body fluid for differential, Tissue smear และ Tzanck smear

15.2 การรักษาคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ EDTA Blood นำส่งตรวจภายใน 2 ชั่วโมง หลังจาก  
เจาะเลือด หากไม่สามารถตรวจได้ทันทีให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C เก็บได้นาน 7 วัน Body fluid for  
differential, Tissue smear และ Tzanck smear นำส่งตรวจทันทีภายใน 2 ชั่วโมง  
ย้อม Slide CBC ทุกครั้งเมื่อ

- ค่า WBC count > 20,000 cells/ $\mu$ L
- ค่า Platelet count น้อยกว่าหรือมากกว่าค่าปกติ (ดูกราฟประกอบ)
- ค่า Differential Monocyte > 10 %
- ค่า MCV น้อยกว่าหรือมากกว่าค่าปกติ (ดูกราฟประกอบ)