

การเปรียบเทียบผลการย้อม AFB จากเสมหะโดยตรงกับเสมหะเข้มข้นที่ผ่านการตกตะกอนในโรงพยาบาลตะโหนด และ โรงพยาบาลคลองหอยโข่ง

พิพัฒน์ ศรีบุญจักษณ์^{1*}, พรเพชร รักเกตุ², มาริษา อับดุลหะ², ราตรี กวีชากรตระกูล¹,
พิสมัย สายสุด¹, ปิชา เจริญศรี¹

บทคัดย่อ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อเรื้อรังที่สำคัญและยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขในประเทศไทย จากการคำนวณทางระบาดวิทยา ในรายงานขององค์การอนามัยโลก (WHO report 2008) คาดการณ์ว่า ประเทศไทยมีผู้ป่วยรายใหม่ปีละ 90,000 ราย (142 รายต่อประชากรแสนคน) และประมาณ 40,000 รายเป็นผู้ป่วยที่เสมหะบวกต่อการย้อม AFB (62 รายต่อประชากรแสนคน) ซึ่งสามารถแพร่กระจายเชื้อวัณโรคได้ การค้นหาผู้ป่วยกลุ่มนี้นิยมใช้การย้อมเสมหะ AFB ซึ่งเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายน้อย มีความจำเพาะสูงแม้ว่าจะมีความไวไม่มากนัก การศึกษารังนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการตรวจ AFB ของตัวอย่างเสมหะจากโรงพยาบาลตะโหนด จังหวัดพัทลุง และโรงพยาบาลคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา ที่เตรียมโดยนำเสมหะมาตรวจด้วยวิธีสเมียร์จากเสมหะโดยตรงเปรียบเทียบกับเสมหะที่ผ่านการตกตะกอนหลังการผสมด้วย clorox ซึ่งมีส่วนผสมของ sodium hypochlorite ร้อยละ 5.25 โดยผสมกับเสมหะในอัตราส่วน 1:1 ให้เข้ากันดี ประมาณ 5 นาทีแล้วปั่นในเครื่องปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที นำตะกอนเสมหะมาสเมียร์และนำเสมหะที่เตรียมทั้งสองวิธีมาย้อม AFB โดยวิธี Ziehl-Neelsen ผลการศึกษาพบว่าจากเสมหะ 240 ตัวอย่าง (โรงพยาบาลละ 120 ตัวอย่าง) ให้ผลบวกกับวิธีใช้ตะกอนเสมหะ 19 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 7.9) แตกต่างจากการย้อมเสมหะโดยตรงที่ให้ผลบวกเพียง 9 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 3.7) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

คำสำคัญ: การย้อม AFB, เสมหะ, เสมหะตกตะกอน

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

² นักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Comparison of direct smear and concentrated sputum samples for AFB staining in Thamod and Klonghoykong Hospitals

Pipat Sribenjalux^{1*}, Pornpech Rukket², Mareena Abdullah², Ratree Tavichakorntrakool¹,
Phitsamai Saisud¹, Nicha Charoensri¹

Abstract

Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease and an important public health problem in Thailand. According to the report of World Health Organization 2008, approximately 90,000 new cases (142/100,000) of TB and 40,000 cases (62/100,000) with sputum positive for AFB are reported annually in Thailand. The person with AFB positive sputum is a major source of TB spreading. Identification of the sputum positive for AFB is usually based on sputum AFB staining. Even though the test has a low sensitivity, it has high specificity and low cost, therefore it is widely used in general clinical laboratories. In this study, two hundred and forty sputum samples (120 samples each from Thamod hospital and Klonghoykong hospital) were compared for AFB staining results between the direct smear of sputum with those using the concentrated sputum smear. The concentrated sputum was prepared by adding sputum and clorox (5.25 % sodium hypochlorite), vortexing for 5 minutes and centrifugation for 15 minutes at 3,000 rpm. The AFB staining was performed according to the Ziehl-Neelsen method. The results revealed that the concentrated sputum samples were positive for AFB staining with a statistically significant higher percentage (19 samples, 7.9 %) than that of the direct smear sputum samples (9 samples, 3.7 %) ($P < 0.05$).

Keywords: AFB Staining, Sputum, Concentrated Sputum

¹ Centre for Research and development of Medical Diagnostic Laboratories,

² Fourth year students, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author : (e-mail: pipsri@kku.ac.th)

บทนำ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อเรื้อรังและเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ ปัจจุบันการติดเชื้อเอชไอวี เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่สุดของการป่วยเป็นวัณโรค เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* และบางครั้งเกิดจากการติดเชื้อ *M. bovis* เชื้อทั้ง 2 ชนิดเป็นสายพันธุ์หลักของ *M. tuberculosis complex* เรียกกันว่า Tubercle bacilli⁽¹⁾ เมื่อนำตัวอย่างเสมหะหรือตัวอย่างอื่นๆ ที่มีมัยโคแบคทีเรียมาตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ (หลังจากสเมียร์เสมหะย้อมด้วย carbol fuchsin และล้างด้วยสารละลายกรด) เชื้อ Tubercle bacilli และมัยโคแบคทีเรียต่างๆจะติดสีแดงทนต่อการล้างด้วยกรด เรียกว่า acid fast bacilli (AFB)⁽²⁾ จากรายงานขององค์การอนามัยโลกเมื่อปี ค.ศ. 2008 ประเทศไทยถูกจัดอยู่ในอันดับที่ 18 ในกลุ่ม 22 ประเทศที่มีปัญหาวัณโรคจากการคำนวณทางระบาดวิทยาในรายงาน คาดการณ์ว่าประเทศไทยน่าจะมีผู้ป่วยรายใหม่ทุกประเภท ปีละ 90,000 ราย (142 รายต่อประชากรแสนคน) และประมาณ 40,000 ราย เป็นผู้ป่วยที่เสมหะบวก (62 รายต่อประชากรแสนคน)⁽³⁾

โรงพยาบาลตะโหมด และโรงพยาบาลคลองหอยโข่ง เป็นโรงพยาบาลชุมชนในจังหวัดพัทลุงและจังหวัดสงขลา มีพื้นที่ติดต่อกัน เป็นโรงพยาบาลขนาด 30 เตียง มีนักเทคนิคการแพทย์ 1 คน สามารถให้บริการการตรวจย้อม AFB จากเสมหะผู้ป่วยแต่ยังไม่สามารถให้บริการเพาะเชื้อวัณโรคซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวสูงได้ เมื่อพิจารณาตามจำนวนประชากรและการคาดการณ์ตามองค์การอนามัยโลกควรจะพบผู้ป่วยเสมหะบวก 62 คนต่อประชากรแสนคน ดังนั้นทั้งสองโรงพยาบาลควรจะมียุทธศาสตร์การตรวจเสมหะบวกเท่ากับ 19 ราย และ 16 ราย ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลย้อนหลัง 3 ปี พบว่ามีบางปีพบผู้ป่วยเสมหะบวกต่ำกว่าคาดการณ์ ซึ่งอาจเกิดจากความไวของวิธีการตรวจเสมหะโดยการย้อม AFB ซึ่งมีความไวต่ำแต่มีความจำเพาะสูง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะโดยตรงกับเสมหะที่ผ่านการตกตะกอนด้วย clorox (ซึ่งเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีราคาถูกและมีใช้ตามโรงพยาบาลทั่วไป) ซึ่งคาดว่าวิธีหลัง น่าจะมีความไวในการตรวจเสมหะ AFB สูงกว่าวิธีแรก ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการให้บริการในงานประจำวันของโรงพยาบาลทั้งสองในการตรวจย้อม AFB จากเสมหะทั้งต่อผู้ป่วยโดยตรงและต่อการควบคุมการแพร่กระจายของวัณโรคปอดในพื้นที่

รับผิดชอบได้

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา ตัวอย่างเสมหะผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยว่าเป็นวัณโรคและผู้ป่วยวัณโรคที่ติดตามผลการรักษาที่มาใช้บริการ ตรวจ sputum AFB ณ แผนกชันสูตร ให้ผู้ป่วยบ้วนปากด้วยน้ำประปา ไอลิกลงแล้วบ้วนเสมหะลงในขวดปราศจากเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างไม่น้อยกว่า 5 มล. (เก็บระหว่างเดือน มกราคม - พฤษภาคม 2553 โดยเก็บทุกรายเรียงลำดับไปจนครบ) แยกเป็น โรงพยาบาลตะโหมด จำนวน 120 ราย โรงพยาบาลคลองหอยโข่ง จำนวน 120 ราย รวม 240 ตัวอย่าง

2. วิธีการศึกษา

2.1 นำตัวอย่างเสมหะมาป้ายโดยตรงบนสไลด์เป็นวงรีขนาด 2 x 3 ซม. โดยให้เป็นวงเล็กๆ ต่อเนื่องกันเป็นรูปกันหอย⁽⁴⁾

2.2 นำเสมหะส่วนที่เหลือมาผสมด้วย clorox ที่มีส่วนผสมของ sodium hypochlorite ร้อยละ 5.25 โดยผสมลงในเสมหะ 5 มล. ด้วยอัตราส่วน 1:1

2.3 เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex ประมาณ 5 นาที แล้วนำมาปั่นในเครื่องปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาทีนาน 15 นาที เพื่อให้เชื้อวัณโรคในเสมหะตกตะกอน

2.4 เทน้ำส่วนใสทิ้ง แล้วนำตะกอนเสมหะมาสเมียร์บนกระจกสไลด์ เป็นวงรีให้อยู่ศูนย์กลางของแผ่นสไลด์ขนาด 2 x 3 ซม. โดยให้เป็นวงเล็กๆต่อเนื่องกันเป็นรูปกันหอยตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

2.5 fix สไลด์โดยนำแผ่นสไลด์ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้งๆละประมาณ 2-3 วินาทีแล้วนำแผ่นสไลด์ไปย้อมสีสำหรับการย้อมสีโดยวิธี Ziehl - Neelsen⁽¹⁾

2.6 นำสไลด์ที่ย้อม AFB มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยตรวจดูที่กำลังขยาย 1,000 เท่า จำนวน 300 field และรายงานผลการย้อมตามระบบของ International union against tuberculosis (IUAT)

ผลการศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบผลการย้อม AFB ตามวิธี Ziehl-Neelsen ระหว่างเสมหะโดยตรงกับเสมหะที่ผ่านการตกตะกอนในโรงพยาบาลตะโหมดและโรงพยาบาลคลองหอยโข่ง เพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้

ตัวอย่างเสมหะจากผู้ป่วยสงสัยวัณโรคปอดและผู้ป่วยวัณโรคปอดที่ติดตามผลการรักษาในโรงพยาบาลตะโหนดจำนวน 120 ราย และโรงพยาบาลคลองหอยโข่งจำนวน 120 ราย รวม 240 ราย พบให้ผลบวกจำนวน 9 รายโดยวิธีตรวจเสมหะโดยตรง และ 19 ราย โดยวิธีเสมหะจากตะกอนเสมหะ คิดเป็น ร้อยละ 3.75 และ ร้อยละ 7.92 ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้สรุปได้ว่าการเตรียมตัวอย่างเสมหะจากตะกอนเสมหะที่ผ่านการตกตะกอนให้ผลบวก AFB มากกว่าเสมหะที่

ตรวจโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ในจำนวนผู้ป่วย 19 ราย ที่ให้ผลการย้อม AFB บวก (ด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งหรือทั้งสองวิธี) แยกเป็นผู้ป่วยใหม่ 8 ราย ผู้ป่วยที่ติดตามผลการรักษา 11 ราย และเมื่อพิจารณาจำนวนเชื้อ AFB ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์ วิธีย้อมโดยใช้ตะกอนเสมหะสามารถตรวจพบตัวเชื้อได้มากกว่าการย้อมโดยใช้เสมหะโดยตรงดังแสดงใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจ AFB ในเสมหะโดยตรง และเสมหะตกตะกอน

ผลการตรวจ (ระบบ IUAT)	เสมหะโดยตรง จำนวน (ร้อยละ)	เสมหะตกตะกอน จำนวน (ร้อยละ)
Negative	231 (96.2)	221 (92.0)
1 - 9 cells	5 (2.1)	3 (1.2)
1 +	1 (0.4)	10 (4.2)
2 +	3 (1.2)	3 (1.2)
3 +	0 (0)	3 (1.2)
รวม	240 (100)	240 (100)

$P < 0.05$ (McNemar test for the significant of changes)

ตารางที่ 2 แสดงประเภทผู้ป่วยและปริมาณเชื้อ AFB ที่ตรวจพบในเสมหะโดยตรงและเสมหะตกตะกอนในตัวอย่างที่ให้ผล AFB positive จำนวน 19 ตัวอย่าง

เสมหะโดยตรง	เสมหะตกตะกอน	จำนวนราย	ประเภทผู้ป่วย
Negative	2 cell	1	ใหม่
Negative	4 cells	1	ใหม่
Negative	6 cells	1	ใหม่
Negative	1 +	6	ติดตาม 4 ใหม่ 2
Negative	2 +	1	ติดตาม
2 cells	1 +	1	ใหม่
4 cells	1 +	2	ใหม่ 1, ติดตาม 1
4 cells	2 +	1	ใหม่
8 cells	1 +	1	ติดตาม
1 +	3 +	1	ติดตาม
2 +	2 +	1	ติดตาม
2 +	3 +	2	ติดตาม 2
รวม		19	ใหม่ 8, ติดตาม 11

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การวินิจฉัยวัณโรคเบื้องต้นยังคงต้องอาศัยการย้อมสี AFB และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นการตรวจที่นานาประเทศใช้โดยเฉพาะที่มีเศรษฐกิจยากจนและถือเป็นทางเลือกที่ดีในการวินิจฉัยผู้ที่ติดเชื้อวัณโรคในปอด เพราะเป็นวิธีที่ง่ายราคาถูก และมีความจำเพาะสูง ดังนั้นการตรวจเสมหะด้วยกล้องจุลทรรศน์จึงน่าจะมีประโยชน์มากในการต่อสู้กับวัณโรคในประเทศที่มีอุบัติการณ์ของโรคสูงและการตรวจเสมหะที่ไม่พบเชื้อถือว่ามีความสำคัญและจำเป็นที่จะต้องให้การตรวจที่มีความไวที่สูงมากยิ่งขึ้น เนื่องจากผู้ป่วยที่มีเชื้อ AFB ปริมาณน้อยในเสมหะก็สามารถแพร่เชื้อสู่ผู้อื่นได้

การศึกษานี้พบว่าในโรงพยาบาลตะโหนดและในโรงพยาบาลคลองหอยโข่งพบเสมหะผลบวกโดยวิธีตรวจจากเสมหะโดยตรง 9 รายและผลบวกโดยวิธีเสมียร์จากตะกอนเสมหะ 19 ราย จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 240 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.75 และ 7.92 ตามลำดับ พบว่าเสมหะที่ผ่านการตกตะกอนให้ผลบวก AFB มากกว่าเสมหะที่ตรวจโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาผู้ป่วยทั้ง 240 รายที่เก็บเสมหะทำการศึกษาพบว่าเป็นผู้ป่วยใหม่ที่มารับการตรวจวินิจฉัยจำนวน 208 ราย และผู้ป่วยที่ติดตามผลการรักษาจำนวน 32 ราย การย้อม AFB โดยใช้เสมหะตกตะกอน สามารถพบผู้ป่วยที่ให้ผลเสมหะ AFB บวกแยกเป็นผู้ป่วยใหม่เพิ่มขึ้น 5 ราย และผู้ป่วยที่ติดตามผลการรักษาเพิ่มขึ้น 5 ราย จากการย้อมโดยใช้เสมหะปกติ แสดงให้เห็นว่าการย้อม AFB โดยใช้เสมหะตกตะกอนมีประโยชน์ในการค้นหาผู้ป่วยเสมหะ AFB บวกได้เพิ่มเป็นร้อยละ 211 จากการย้อมเสมหะปกติ (จากให้ผลบวก 9 รายเป็น 19 ราย) ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการรักษาและควบคุมป้องกันการแพร่กระจายของวัณโรคปอด ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของวรรณีย์ ทองมา และคณะ⁽⁵⁾ ที่พบว่าจำนวนเสมหะ 1,130 ราย สามารถตรวจพบเชื้อวัณโรคด้วยวิธีตรวจจากเสมหะโดยตรงและเสมียร์เสมหะที่ผ่านการตกตะกอนร้อยละ 5.7 และ 7.2 ตามลำดับและสอดคล้องกับการศึกษาของ ศักรินทร์ จันทรวงศ์⁽⁶⁾ ที่ศึกษาเปรียบเทียบในการตรวจหาเชื้อวัณโรคผู้ติดเชื้อ HIV ในจังหวัดเชียงใหม่พบว่าจำนวนเสมหะ 378 ตัวอย่าง ให้ผลบวกด้วยวิธีเสมียร์จากเสมหะโดยตรงกับเสมียร์จากเสมหะที่ผ่านการตกตะกอนร้อยละ 1.1 และ 4.8

ตามลำดับ

ในการศึกษานี้ไม่ได้ใช้การเพาะเชื้อเป็นวิธีอ้างอิง เนื่องจากการศึกษานี้ต้องการเปรียบเทียบลักษณะการตรวจหาเชื้อวัณโรคที่มีอยู่จริงในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลชุมชนที่ใช้วิธีการตรวจย้อมเสมหะผู้ป่วยใหม่และผู้ป่วยที่ติดตามผลการรักษาซึ่งผลจากการศึกษานี้และการศึกษาก่อนหน้าพบว่าการเตรียมเสมียร์ด้วยวิธีนำเสมหะมาผ่านการตกตะกอนจะสามารถตรวจพบเชื้อวัณโรคได้มากกว่าด้วยวิธีการเตรียมเสมหะโดยตรง แต่เนื่องจากวิธีนี้ยังไม่ได้ถูกกำหนดให้เป็นวิธีปฏิบัติตามแผนงานการควบคุมวัณโรคแห่งชาติ อย่างไรก็ตามในการตรวจหากกลุ่มผู้ต้องสงสัยที่สัมผัสวัณโรคและผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงลักษณะตัวอย่างเสมหะที่เก็บได้มักจะได้น้ำลายทำให้โอกาสในการตรวจพบเชื่อน้อย⁽⁷⁾ ดังนั้นการกำหนดเกณฑ์ในการเตรียมเสมียร์ก็อาจจะเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อวัณโรคที่สามารถนำไปปฏิบัติได้จริง โดยเลือกทำเฉพาะรายที่เข้าเกณฑ์กำหนดซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของวรรณีย์ ทองมา⁽⁵⁾ ที่พบว่าถ้าสิ่งส่งตรวจมีลักษณะเป็นน้ำลายวิธี concentration สามารถตรวจพบเชื้อวัณโรคได้มากกว่าวิธี direct

ในการศึกษานี้ใช้น้ำยา clorox ที่มีส่วนผสมของ sodium hypochlorite ร้อยละ 5.25 โดยผสมลงในเสมหะปริมาตรเท่าตัว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Farina P และคณะ⁽⁸⁾ ที่ศึกษาการเพิ่มความไวการตรวจหาเชื้อวัณโรคในเสมหะโดยตรงโดยเปรียบเทียบการใช้สารเคมี 3 ชนิด ได้แก่ N-acetyl-L- cysteine, chitin และ sodium hypochlorite เพื่อย่อย mucus พบว่าการใช้ sodium hypochlorite ให้ผลความไวและความจำเพาะ ร้อยละ 78 และร้อยละ 96 ตามลำดับ ต่ำกว่าการใช้ N-acetyl-L-cysteine และ chitin เพียงเล็กน้อย ส่วนวิธี direct smear ให้ผลความไวและความจำเพาะร้อยละ 46 และ 90 ตามลำดับ แต่เนื่องจาก sodium hypochlorite หรือ clorox เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีใช้ประจำอยู่ในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ในโรงพยาบาลทั่วไป การศึกษานี้จึงนำ clorox มาศึกษาโดยทดลองใช้สัดส่วน 1:1 กับเสมหะ นอกจากนี้การใช้ sodium hypochlorite ร้อยละ 5.25 ยังสามารถฆ่าเชื้อโรคในเสมหะได้ดีและหากทำด้วยความระมัดระวังก็จะมีอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานแต่อย่างใด⁽⁹⁾ ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะนำไปเพาะเชื้อไม่ได้เนื่องจากเชื้อวัณโรคจะตาย สรุปผลจากการศึกษานี้พบว่าการศึกษาตรวจหาเชื้อวัณโรคโดยวิธีตรวจจาก

เสมอโดยตรงมีโอกาสในการตรวจพบเชื้อวัณโรคได้น้อยกว่าวิธีสมัยใหม่ที่เตรียมจากเสมหะที่ผ่านการตกตะกอน ดังนั้นหากห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลชุมชนซึ่งมีข้อจำกัดในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคปอดนำการตกตะกอนเสมหะมาใช้ในการตรวจย้อม AFB จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจพบ AFB ในเสมหะได้มากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. พัทธน์ ศรีเบญจลักษณ์. *Mycobacterium*. ใน: พัทธน์ ศรีเบญจลักษณ์, อรุณลักษณ์ ลูกลิตานนท์ (บรรณาธิการ) *แบคทีเรียวิทยาคลินิก. กลุ่มวิชาจุลชีววิทยาคลินิก, คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2552; 304-45.*
2. อนุชา ศิริมาลัยสุวรรณ. มัยโคแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดวัณโรค. *เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2549; 4: 149-56.*
3. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ. *ไทยติดโผประเทศผู้ป่วยวัณโรคสูงอันดับที่ 18. 20/02/2553. Available from: URL: http:// www. thaihealth.or.th/node/7079*
4. Training manual for fluorescence-based AFB microscopy. Module 7 Smear preparation and fluorescence-based staining method. WHO- CDC- RIT-IUATLD-APHL in 2004. Available from: URL: http://www.finddiagnostics.org/export/sites/default/programs/tb/documents/LED_training_manual.pdf.
5. วรณีย์ ทองมา, ประดิษฐ์ เจริญลาภ. การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยวิธี Concentration และวิธี Direct. 12/10/2553. Available from: URL: <http://medserv.thaigov.net/cyber/journal/chest/a34.htm>
6. ศักรินทร์ จันทรวงศ์, อังคณา พลภักดี, วันเพ็ญ จันทร์เอี่ยม. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อวัณโรคผู้ติดเชื้อ HIV ในจังหวัดเชียงใหม่. 12/10/2553. Available from: URL: http://www.kmddc.go.th/Library/research/research_1%20HIV%20chengmai.pdf
7. การควบคุมคุณภาพภายในและความสำคัญของการตรวจวิเคราะห์ AFB Stain. 12/11/2553. Available from: URL: http://www.amtt.org/index.php?components=amtt_file&file=12
8. Farnia P, Mohammadi F, Zarifi Z, Tabatabaee DJ, Ganavi J, et al. Improving Sensitivity of direct microscopy for detection of acid-fast bacilli in sputum: use of chitin in mucus digestion. *J Clin Microb 2002; 40: 508-11.*
9. กระทรวงสาธารณสุข. *แนวทางการดำเนินงานควบคุมวัณโรคแห่งชาติ. ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 2551; 25-33.*