

ตัวชี้วัดที่ 3.39 ระดับความสำเร็จของการพัฒนาศักยภาพการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไซ้หนอนพยาธิใน
กากตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้ว

ระยะเวลาการดำเนินการ : รอบ 5 เดือนแรก ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 (ตุลาคม 2565 - กุมภาพันธ์ 2566)

กิจกรรม ขั้นตอนและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับตรวจวิเคราะห์หาไซ้หนอนพยาธิในน้ำทิ้งและกาก
ตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้ว

แบบฟอร์มมาตรฐานการปฏิบัติงาน (SOP)

ชื่อหน่วยงาน	คู่มือการปฏิบัติงานการขับเคลื่อนตัวชี้วัด
กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุข กรมอนามัย	ตัวชี้วัดที่ 3.39 ระดับความสำเร็จของการพัฒนาศักยภาพการตรวจ วิเคราะห์หาปริมาณไซ้หนอนพยาธิในกากตะกอนที่ผ่านระบบกำจัดสิ่ง ปฏิกูลแล้ว

1. วัตถุประสงค์ (Objectives)

ใช้เป็นมาตรฐานปฏิบัติงานทดสอบหาไซ้หนอนพยาธิในน้ำทิ้งและกากตะกอนที่ผ่านการกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้ว

2. ขอบเขต (Scope)

ตรวจปริมาณไซ้หนอนพยาธิที่พบในตัวอย่างน้ำทิ้งและกากตะกอนในระบบบำบัดสิ่งปฏิกูล

3. คำจำกัดความ (Definition)

“ไซ้หนอนพยาธิ” หมายความว่า ไซ้หนอนพยาธิที่มีชีวิต

“สิ่งปฏิกูล” หมายความว่า อุจจาระหรือปัสสาวะของคน หรือสิ่งอื่นใดที่ปนเปื้อนอุจจาระหรือปัสสาวะ

“การกำจัดสิ่งปฏิกูล” หมายความว่า การบำบัด การปรับปรุงหรือแปรสภาพสิ่งปฏิกูลให้ปราศจากมลภาวะ สภาพอันน่า
รังเกียจ หรือการก่อให้เกิดโรค เพื่อนำไปใช้ประโยชน์หรือทำลาย

“น้ำทิ้ง” หมายความว่า ส่วนที่เป็นของเหลวที่เหลือจากการกำจัดสิ่งปฏิกูล

“กากตะกอน” หมายความว่า ส่วนที่เป็นของแข็งซึ่งเหลือจากการกำจัดสิ่งปฏิกูล

4. ความรับผิดชอบ (Responsibilities)

เจ้าหน้าที่ทดสอบ รับผิดชอบที่ได้รับการขึ้นทะเบียนรหัสตัวอย่างเรียบร้อยแล้วตามระเบียบปฏิบัติการ เรื่อง การจัดการ
ตัวอย่างทดสอบ (SOP-RLDC-12) จากเจ้าหน้าที่รับตัวอย่าง โดยบันทึกรหัสตัวอย่างและรายละเอียดการตรวจวิเคราะห์ลงใน
แบบฟอร์มบันทึกการรับตัวอย่างน้ำทางจุลชีววิทยา (FM-MI-024)

5. ขั้นตอนการปฏิบัติ (Procedure)

การปฏิบัติงานจะแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 วิธีการตรวจอย่างง่ายหรือการตกตะกอนโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (Simple – Centrifugal sedimentation) โดยนำตัวอย่างน้ำทิ้งมาทำให้เข้มข้นด้วยการปั่นเหวี่ยง (Centrifugal Sedimentation) แล้วนำตะกอนที่ได้มาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ถ้าพบไขหนองพยาธิให้รายงานผลโดยไม่ต้องทำขั้นตอนต่อไป แต่หากไม่พบไขหนองพยาธิต้องทำการทดสอบต่อในขั้นตอนที่ 2 วิธีฟอร์มาลิน – เอทิล อะซิเตต เซตติเมนเตชั่น (Formalin – Ethyl acetate sedimentation) โดยการนำตะกอนที่เหลือมาจัดไขมันและสิ่งสกปรกอื่นๆ แล้วนำตะกอนที่ได้มาตรวจหาไขหนองพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ถ้าพบไขหนองพยาธิให้รายงานผลโดยไม่ต้องทำขั้นตอนต่อไป แต่หากไม่พบไขหนองพยาธิให้ทดสอบต่อไปในขั้นตอนที่ 3 วิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation) โดยใช้สารละลายที่มีความถ่วงจำเพาะที่เหมาะสม แล้วตรวจหาไขหนองพยาธิที่ลอยขึ้นมาด้วยกล้องจุลทรรศน์และรายงานผล มีรายละเอียดดังนี้

5.1 การตรวจหาปริมาณไขหนองพยาธิในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้วให้ดำเนินการ ดังนี้

5.1.1 การตรวจด้วยวิธีการตรวจอย่างง่ายหรือการตกตะกอนโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (Simple – Centrifugal sedimentation)

- (1) เตรียมถ้วยตวงทรงกรวยขนาด 1,000 มิลลิลิตร และติดฉลากหมายเลขตัวอย่างลงบนถ้วย
- (2) เทตัวอย่างน้ำปริมาณ 1 ลิตร โดยกรองผ่านผ้าก๊อซ 2 ชั้น ลงในถ้วยตวงทรงกรวยที่เตรียมไว้
- (3) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 12 ชั่วโมง แล้วดำเนินการในขั้นตอน 5.1.1 (4) ต่อไป หรือปั่นเหวี่ยงที่ 1,000 จี (xg) เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ตกตะกอน แล้วข้ามไปดำเนินการในขั้นตอน 5.1.1 (8)
- (4) เมื่อครบเวลาดูดส่วนใสออก ให้เหลือของเหลวที่ก้นภาชนะ 200 มิลลิลิตร
- (5) ผสมน้ำกับตะกอนให้เข้ากันและชะตะกอนที่ติดข้างถ้วย จากนั้นเทใสในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
- (6) ฉีดสารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ไทรแทนเอกซ์-100 เพื่อชะตะกอนแล้วเทรวมกับตัวอย่างน้ำในบีกเกอร์
- (7) เทตัวอย่างน้ำจากบีกเกอร์ลงในหลอดพลาสติกก้นแหลมขนาด 50 มิลลิลิตรแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็ว 1,000 จี (xg) เป็นเวลา 15 นาที
- (8) ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง แล้วปั่นตัวอย่างน้ำซ้ำจนกว่าจะหมด
- (9) หลังจากปั่นรอบสุดท้าย ให้ดูดส่วนใสทิ้งจนเหลือส่วนใสประมาณ 3 เท่า ของปริมาตรตะกอน จากนั้นดูดส่วนผสมมาใส่รวมกันในหลอดพลาสติกก้นแหลมขนาด 15 มิลลิลิตร วัดปริมาตรส่วนผสมตะกอนเป็นหน่วยมิลลิลิตร (V1)
- (10) นำตัวอย่างมาตรวจหาไขหนองพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยมีรายละเอียด ดังนี้
 - ก. เตรียมกระจกสไลด์จำนวน 2 สไลด์และเขียนหมายเลขกำกับลงบนกระจกสไลด์
 - ข. หยดสารละลายน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 50 ไมโครลิตรลงบนกระจกสไลด์
 - ค. ใช้ปิเปตอัตโนมัติดูดตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร แล้วหยดลงบนกระจกสไลด์คนตัวอย่างกับน้ำเกลือให้เข้ากัน
 - ง. ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ขนาด 22x22 มิลลิเมตร
 - จ. นำสไลด์ไปตรวจหาไขหนองพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ทั้ง 2 สไลด์
 - หากกรณีไม่พบไขหนองพยาธิให้นำตัวอย่างที่เหลือมาทำ ตามขั้นตอน 5.1.2 ต่อไป
 - หากกรณีที่พบไขหนองพยาธิให้คำนวณหาจำนวนไขหนองพยาธิที่พบต่อน้ำ 1 ลิตร จากจำนวนไขหนองพยาธิที่นับได้และปริมาตรส่วนผสมตะกอนในขั้นตอน 5.1.1 (9) ในหน่วยมิลลิลิตร (V1) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{ปริมาณไขหนองพยาธิต่อน้ำ 1 ลิตร} = \text{จำนวนรวมของไขหนองพยาธิที่นับได้จาก 2 สไลด์} \times V1 \times 10$$

5.1.2 การตรวจด้วยวิธีฟอร์มาลิน – เอทิล อะซิเตต เซตติเมนเตชั่น (Formalin - Ethyl acetate sedimentation)

- (1) นำตะกอนที่เหลือจากขั้นตอนที่ 5.1.1 (10) ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 1,000 จี (xg) เป็นเวลา 15 นาทีจากนั้นเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- (2) เติมน้ำละลายฟอร์มาลีน ซาลีน (Formal saline) 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าสาร (Vortex)
- (3) เติมน้ำเอทิลอะซิเตต (Ethylacetate) 2 มิลลิลิตร โดยใช้หลอดดูดพลาสติกที่มีกระเปาะ ปิดฝาให้สนิท จากนั้นเขย่าแรงๆ ประมาณ 30 ครั้ง เพื่อผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
- (4) นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 1,000 จี (xg) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไม้เขี่ยตะกอนที่อยู่บริเวณข้างหลอดซึ่งมีรอยต่อระหว่างชั้นเอทิล อะซิเตต (Ethyl acetate) และ ฟอร์มาลิน (Formalin) ให้หลุดออกแล้วเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- (5) เติมน้ำละลายน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตร 3 เท่า ของปริมาตรตะกอน ใช้ไม้กวนผสมน้ำเกลือและตะกอนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจดบันทึกปริมาตรส่วนผสมตะกอนเป็นหน่วยมิลลิลิตร (V2)
- (6) ตรวจสอบไขหนอนพยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตามขั้นตอน 5.1.1 (10) แล้วนำมาคำนวณตามสูตร
 - หากไม่พบไขหนอนพยาธิให้นำตะกอนที่เหลือจากขั้นตอน 5.1.2 (6) มาตรวจด้วยวิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation) ตามขั้นตอน 5.1.3 ต่อไป
 - หากพบไขหนอนพยาธิให้คำนวณหาจำนวนไขหนอนพยาธิที่พบต่อน้ำ 1 ลิตร จากจำนวนไขหนอนพยาธิที่นับได้และปริมาตรส่วนผสมตะกอนในขั้นตอน 5.1.2 (5) (V2) ในหน่วยมิลลิลิตร โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{ปริมาณไขหนอนพยาธิต่อน้ำ 1 ลิตร} = \text{จำนวนรวมของไขหนอนพยาธิที่นับได้จาก 2 สไลด์} \times V2 \times 10$$

5.1.3 การตรวจด้วยวิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation)

- (1) นำตัวอย่างตะกอนจากขั้นตอน 5.1.2 (6) มาทำขั้นตอนต่อไป
- (2) เทน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ใส่ลงในหลอดกันแหลม ให้ถึงระดับ 14 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท เขย่าหลอดแบบกลับไปมา (Invert) 5 ครั้ง เพื่อผสมตะกอนกับน้ำเกลือ
- (3) นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 1,000 จี (xg) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- (4) ทำขั้นตอน 5.1.3 (2) ถึง (3) ซ้ำอีก 1 ครั้ง เพื่อล้างตะกอนและกำจัดฟอร์มาลิน (formalin) และ เอทิล อะซิเตต (ethyl acetate) ออกให้หมด
- (5) เติมน้ำละลายน้ำเกลืออิมิตัวความถ่วงจำเพาะ 1.20 (ถ.พ. 1.20) หรือน้ำตาลอิมิตัวความถ่วงจำเพาะ 1.27 (ถ.พ. 1.27) ลงในหลอดกันแหลมให้ถึงระดับ 6 มิลลิลิตร ใช้ไม้กวนให้เข้ากันและเติมน้ำละลายให้ถึงขอบบนของหลอด
- (6) วางกระจกปิดสไลด์ขนาด 22x22 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น โดยนำแต่ละสไลด์มาวางไว้บนปากหลอด อย่าให้มีช่องว่างหรือฟองอากาศที่กระจกปิดสไลด์ รอ 15 นาที แล้วตรวจหาไขหนอนพยาธิที่ลอยขึ้นมาติดที่กระจกปิดสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
- (7) นำตัวอย่างมาตรวจหาไขหนอนพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์และรายงานผล
 - หากไม่พบไขหนอนพยาธิให้รายงานว่า “ไม่พบ” (Not found)
 - หากพบไขหนอนพยาธิให้คำนวณหาจำนวนไขหนอนพยาธิที่พบต่อน้ำ 1 ลิตร จากจำนวนไขหนอนพยาธิที่นับได้โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{ปริมาณไขหนอนพยาธิต่อน้ำ 1 ลิตร} = \text{จำนวนรวมของไขหนอนพยาธิที่นับได้จาก 2 สไลด์}$$

5.2 การตรวจหาปริมาณไขหนอนพยาธิในกากตะกอนที่ผ่านการกำจัดสิ่งปฏิกูลแล้วให้ดำเนินการ ดังนี้

5.2.1 การตรวจด้วยวิธีการตรวจอย่างง่ายหรือการตกตะกอนโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (Simple – Centrifugal sedimentation)

- (1) เตรียมถ้วยตวงทรงกรวยขนาด 1,000 มิลลิลิตร และติดฉลากหมายเลขตัวอย่างลงบนถ้วย
- (2) ชั่งตัวอย่างตะกอนจำนวน 50 กรัม ใส่ลงในถ้วยตวงทรงกรวยที่เตรียมไว้
- (3) เติมน้ำกลั่น 175 มิลลิลิตร เพื่อผสมตัวอย่างตะกอน
- (4) เติมโซเดียมไฮโปคลอไรด์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (Sodium hypochlorite 5%) ปริมาตร 75 มิลลิลิตร
- (5) ใช้แท่งแก้วคนให้ตะกอนและสารละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน อย่างน้อย 30 นาที แล้วนำส่วนผสมดังกล่าวมากรองผ่านผ้าก๊อซ 2 ชั้น ซึ่งวางอยู่บนถ้วยตวงทรงกรวยขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- (6) เติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในภาชนะเดิม เพื่อชะตะกอนที่เหลืออยู่ในภาชนะ แล้วค่อยๆ เทผ่านผ้าก๊อซ 2 ชั้นเพื่อล้างตะกอน
- (7) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 12 ชั่วโมง หรือปั่นเหวี่ยงที่ 800 จี (xg) เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้ตกตะกอน
- (8) เมื่อครบเวลาคูดตะกอนให้เหลือของเหลวที่กั้นภาชนะในปริมาตรหนึ่งเท่าของปริมาตรตะกอน แล้วจดบันทึกปริมาตรส่วนผสมตะกอนเป็นหน่วยมิลลิลิตร (V1)
- (9) แก้วถ้วยตวงทรงกรวยเพื่อผสมน้ำกับตะกอนให้เข้ากันและชะตะกอนที่ติดข้างถ้วย จากนั้นเทใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
- (10) นำตัวอย่างมาตรวจหาไข่หนอนพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยมีรายละเอียด ดังขั้นตอน 5.1.1 (10)
 - หากกรณีไม่พบไข่หนอนพยาธิให้นำตะกอนที่เหลือในบีกเกอร์มาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีฟอร์มาลิน – เอทิลอะซิเตต เซตติเมนเตชัน (Formalin – Ethyl acetate sedimentation) ตามขั้นตอน 5.2.2 ต่อไป
 - หากกรณีที่พบไข่หนอนพยาธิ ให้คำนวณหาจำนวนไข่หนอนพยาธิที่พบต่อภาคตะกอน 1 กรัม จากจำนวนไข่หนอนพยาธิที่นับได้และปริมาตรส่วนผสมตะกอนในขั้นตอน 5.2.1 (8) ในหน่วยมิลลิลิตร (V1) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$\text{ปริมาณไข่หนอนพยาธิต่อภาคตะกอน 1 กรัม} = \text{จำนวนรวมของไข่หนอนพยาธิที่นับได้จาก 2 สไลด์} \times V1 \times 0.2$

5.2.2 การตรวจด้วยวิธีฟอร์มาลิน – เอทิล อะซิเตต เซตติเมนเตชัน (Formalin - Ethyl acetate sedimentation)

- (1) นำตะกอนที่เหลือจากขั้นตอนที่ 5.2.1 (10) เขย่าตะกอนให้เข้ากัน แล้วเทลงในหลอดพลาสติกกันแหลมขนาด 15 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด โดยเทจนเกือบเต็มหลอด ประมาณ 14 มิลลิลิตร
- (2) นำตัวอย่างตะกอนทั้ง 2 หลอด ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 800 จี (xg) เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- (3) เติมสารละลายฟอร์มาลีน ซาไลน์ (Formal saline) ลงในหลอดจนปริมาณสารละลาย ถึงระดับ 9 มิลลิลิตร แล้วใช้ไม้เขี่ยตะกอนที่ก้นหลอดให้แตกออก
- (4) เติมเอทิล อะซิเตต (Ethyl acetate) ลงในหลอด ให้ถึงระดับ 13 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท จากนั้นเขย่าแรง ๆ ประมาณ 30 ครั้ง เพื่อผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
- (5) นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 800 จี (xg) เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไม้เขี่ยตะกอนที่อยู่บริเวณข้างหลอด ซึ่งมีรอยต่อระหว่างชั้นเอทิล อะซิเตต (Ethyl acetate) และฟอร์มาลิน (Formalin) ให้หลุดออกแล้วเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- (6) เติมสารละลายน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3 เท่า ของปริมาตรตะกอน ใช้ไม้กวนผสมน้ำเกลือและตะกอนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจดบันทึกปริมาตรส่วนผสมตะกอนรวม 2 หลอด เป็นหน่วยมิลลิลิตร (V2)

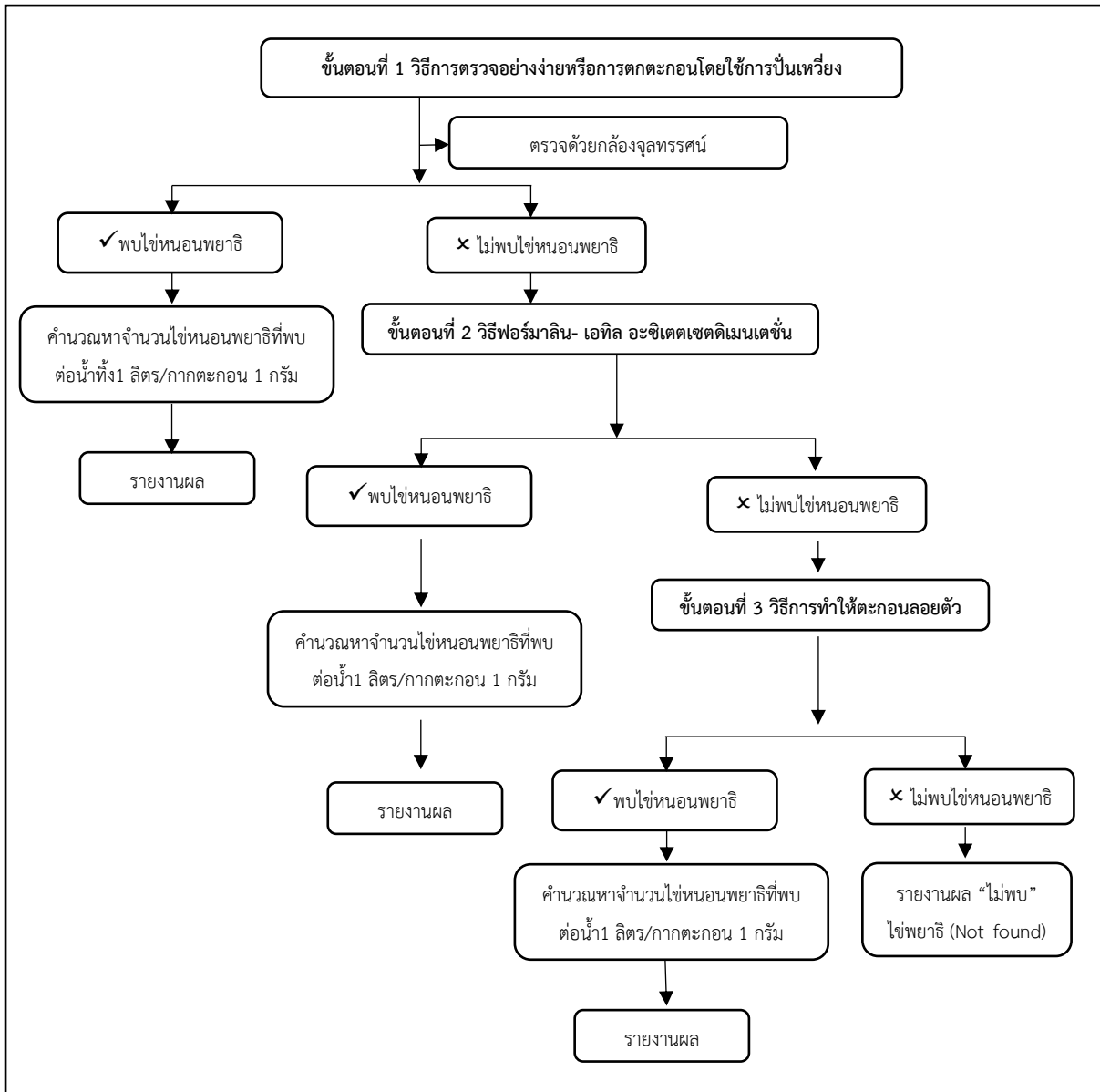
- (7) นำตัวอย่าง 5.2.2 (6) มาตรวจหาไข่หนอนพยาธิตามขั้นตอน 5.1.1 (10) โดยตรวจหาลดละ 2 สไลด์
- หากไม่พบไข่หนอนพยาธิให้นำตะกอนที่เหลือจากขั้นตอน 5.2.2 (6) มาตรวจด้วยวิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation) ตามขั้นตอน 5.2.3 ต่อไป
 - หากพบไข่หนอนพยาธิให้คำนวณหาจำนวนไข่หนอนพยาธิที่พบต่อกากตะกอน 1 กรัม จากจำนวนไข่หนอนพยาธิที่นับได้ปริมาตรส่วนผสมตะกอนในขั้นตอน 5.2.1 (8) (V1) และขั้นตอน 5.2.2 (6) (V2) ในหน่วย มิลลิลิตร โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{ปริมาณไข่หนอนพยาธิต่อกากตะกอน 1 กรัม} = \text{จำนวนรวมของไข่หนอนพยาธิที่นับได้จาก 4 สไลด์} \times V1 \times V2$$

5.2.3 การตรวจด้วยวิธีการทำให้ตะกอนลอยตัว (Floatation)

- (1) นำตัวอย่างตะกอนทั้ง 2 หลอดจากขั้นตอน 5.2.2 (6) มาทำขั้นตอนต่อไป
- (2) เทน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ใส่ลงในหลอดก้นแหลม ให้ถึงระดับ 14 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท เขย่าหลอดแบบ กลับไปมา (Invert) 5 ครั้ง เพื่อผสมตะกอนกับน้ำเกลือ
- (3) บั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 800 จี (xg) เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเทส่วนใสด้านบนทิ้ง
- (4) ทำขั้นตอน 5.2.3 (2) ถึง (3) ซ้ำอีก 2 ครั้ง เพื่อล้างตะกอนและกำจัดฟอร์มาลิน (Formalin) และเอทิล อะซิเตต (Ethyl acetate) ออกให้หมด
- (5) เติมน้ำละลายน้ำเกลืออิมิตัวความถ่วงจำเพาะ 1.20 (ถ.พ. 1.20) หรือน้ำตาลอิมิตัวความถ่วงจำเพาะ 1.27 (ถ.พ. 1.27) ลงในหลอดก้นแหลมให้ถึงระดับ 6 มิลลิลิตร ใช้ไม้กวนให้เข้ากันและเติมน้ำละลายให้ถึงขอบบนของหลอด
- (6) วางกระจกปิดสไลด์ขนาด 22x22 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น โดยนำแต่ละสไลด์มาวางไว้บนปากหลอด อย่าให้มีช่องว่างหรือฟองอากาศที่กระจกปิดสไลด์ รอ 15 นาที แล้วตรวจหาไข่หนอนพยาธิที่ลอยขึ้นมาติดที่กระจกปิดสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
- (7) ทำขั้นตอน 5.2.3 (6) ซ้ำกับหลอดตัวอย่างที่เหลืออีก 1 หลอด
- (8) นำตัวอย่างมาตรวจหาไข่หนอนพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์และรายงานผล
 - หากไม่พบไข่หนอนพยาธิให้รายงานว่า “ไม่พบ” (Not found)
 - หากพบไข่หนอนพยาธิ ให้คำนวณหาจำนวนไข่หนอนพยาธิที่พบต่อกากตะกอน 1 กรัม จากจำนวนไข่หนอนพยาธิที่นับได้ ปริมาตรส่วนผสมตะกอนในขั้นตอน 5.2.1 (8) ในหน่วยมิลลิลิตร (V1) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{ปริมาณไข่หนอนพยาธิต่อกากตะกอน 1 กรัม} = \text{จำนวนรวมของไข่หนอนพยาธิที่นับได้จาก 4 สไลด์} \times V1$$



รูปภาพ แผนผังแสดงขั้นตอนการตรวจหาปริมาณไซโทนอนพยาธิในน้ำทิ้งและกากตะกอน