|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ผู้จัดทำ :………………………….  (นางสาวนันทิยา ใหญ่ยงค์)  นักเทคนิคการแพทย์ | ผู้ทบทวน :…………………….  (นางวันเพ็ญ อุทัยพร)  นักเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดการวิชาการ | ผู้อนุมัติ :…………………….  (นางวชิราภรณ์ ทองเทศ)  ผู้จัดการคุณภาพหัวหน้างานชันสูตรสาธารณสุข |

**ประวัติการแก้ไข**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| วัน เดือน ปี  ที่ใช้ | แก้ไขครั้งที่ | หน้าที่แก้ไข | รายละเอียดการแก้ไข | ผู้แก้ไข | ผู้อนุมัติ |
| 3 เมษายน 2556 | 0 | - | เอกสารออกใหม่ | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

**การตรวจ widal weil-felix test**

**1.วัตถุประสงค์**

เพื่อใช้ในการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ Salmonella, Brucella และ Rickettsia

**2. หลักการ**

Bacterial Antigens อาศัยหลักการ Agglutination

**3. วิธีการตรวจ**

เป็นวิธีที่ใช้สำหรับตรวจหา ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ Salmonella, Brucella และ Rickettsia ชนิดตรวจกรอง และกึ่งหาปริมาณในซีรั่ม โดยอาศัยวิธีการตกตะกอน (Agglutination)

**4. เอกสารอ้างอิง**

เอกสารกำกับชุดตรวจ widal weil-felix test

**5. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

**-**

**6 .ความปลอดภัย**

สวมเสื้อคลุมทุกครั้งที่ปฏิบัติงานและสวมถุงมือทุกครั้งที่สัมผัสสิ่งส่งตรวจ

**7 . เครื่องมือ**

Serofuge

**8. น้ำยาและสารมาตรฐาน**

|  |  |
| --- | --- |
| **Reagent** | **Antigen** |
| *S.typhi H* | **d** flagella |
| *S.typhi O* | **1, 9, 12** somatic |
| **Reagent** | **Antigen** |
| *Proteus OX2* | somatic |
| *Proteus OX19* | somatic |
| *Proteus OXK* | somatic |

***องค์ประกอบของน้ำยา***

1) Bacterial antigens: เชื้อ Salmonellas, Brucellas และ Proteus ใน glycine buffer pH 8.2, Sodium azide 0.95 g/L

2) Controls: ซีรั่มจากสัตว์, Sodium azide 0.95 g/L

Antigen suspensions เป็นน้ำยาพร้อมใช้ ***ควรเขย่าขวดเบาๆก่อนใช้*** ควรเก็บน้ำยาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 ºC สามารถเก็บได้จนถึงวันหมดอายุ ***ห้ามแช่แข็ง*** (ถ้าพบว่ามีการจับกันเป็นก้อนแสดงว่าน้ำยาเสื่อม)

Controls เป็นน้ำยาพร้อมใช้

**9. วิธีดำเนินการ**

***9.1 วิธีการตกตะกอนบนแผ่นสไลด์ (Slide agglutination method)*** เพื่อคัดกรอง

1) ทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง (18-30 ºC) เมื่อมีอุณหภูมิต่ำความไว (Sensitivity) ของการทดสอบนี้จะลดลง

2) หยดสารควบคุม หรือ Control และตัวอย่าง 20 μL ลงไป *(ดู Note ข้อที่ 1 และ2)* ในแต่ละวงกลมบนสไลด์

3) เขย่าขวดแอนติเจน (Antigen vial) เบาๆก่อนใช้ หยดแอนติเจน 1 หยด (50 μL) ลงไปในแต่ละวงกลมบนสไลด์ที่มีตัวอย่างอยู่

4) ผสมแอนติเจนกับตัวอย่างให้เข้ากัน และกระจายทั่วพื้นที่วงกลม

5) วางสไลด์ลงบนเครื่องเขย่า (Mechanical rotator) ที่ 80-100 rpm. เป็นเวลา 1 นาที

***9.2 วิธีการตกตะกอนบนแผ่นสไลด์* *(Slide agglutination method)*** *หรือวิธีการเจือ*จางความเข้มข้นบนสไลด์ (Slide titration method) เพื่อหาความเข้มข้น

1) ใช้ Micropipette ดูดตัวอย่างที่ไม่ได้เจือจางปริมาณ 80, 40, 20, 10 และ 5 μl ใส่ลงในแต่ละวงกลมบนสไลด์ (วงกลมละ 1 ปริมาณ)

2) เขย่าขวดแอนติเจน (Antigen vial) เบา ๆ ก่อนใช้ หยดแอนติเจน 1 หยด (50 μL) ลงไปในแต่ละวงกลมบนสไลด์ที่มีตัวอย่างอยู่

3) ผสมแอนติเจนกับตัวอย่างให้เข้ากัน และกระจายทั่วพื้นที่วงกลม

4) วางสไลด์ลงบนเครื่องเขย่า (Mechanical rotator) ที่ 80-100 rpm. เป็นเวลา 1 นาที

**10. การนับละการคำนวณ**

**-**

**11. การควบคุมคุณภาพ**

**-** ทำ Control Positive และ Control Negative ทุกครั้งที่เปิด Lot ใหม่

**12. การรายงานผลและการแปลผล**

**ผลลบ :** ไม่มีการตกตะกอน

**ผลบวก**: มีการตกตะกอนแบบสมบูรณ์ หรือมากกว่า 50 %

1) Titers > 1/80 (O antibodies) และ > 1/160 (H antibodies) บ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อ *Salmonellas*

2) Titers > 1/80 บ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อ *Brucellas*

3) Titers OX19 > 1/80 และ OX19 > 1/80 บ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อ *Proteus*

**การแปลผล** “ปกติ” จากระดับของการตกตะกอนของเชื้อต่างๆ ขึ้นอยู่กับแต่ละสังคมหรือแต่ละประเทศ ห้องปฏิบัติการควรจะมีค่าอ้างอิง (Reference range) เป็นของตนเอง

**13. ค่าปกติ**

Negative < 120

**14. ข้อควรระวัง**

-