|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 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 | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

**การทดสอบ Antibody to Leptospirosis**

1. **วัตถุประสงค์**

เพื่อใช้เป็นหลักฐานตามระบบประกันคุณภาพและใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบสำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรค Leptospirosis ชนิด IgM/IgG ของห้องปฏิบัติการให้แก่ผู้ป่วยเป็นการทั่วไปและเพื่อให้แพทย์วินิจฉัยการติดเชื้อก่อโรค Leptospirosis

1. **หลักการ**

บนผิวของแผ่นไนโตรเซลลูโลสที่บริเวณทดสอบ (Test region) จะตรึงไว้ด้วยโปรตีนที่แสดงลักษณะแอนติเจนเด่นชัด (อิมมูโนโดมิแนนท์) ของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Leptospirosis ชนิด *Leptospira interogans* ไว้ ส่วนบริเวณควบคุม (Control region) จะเคลือบไว้ด้วยสารไบโอเคมิคอลที่มีคุณสมบัติจับได้ดีกับสารคอนจูเกต และบริเวณกระดาษซับโกลด์ (Gold pad) ซึ่งอยู่ระหว่างกระดาษซับสิ่งส่งตรวจกับแผ่นไนโตรเซลลูโลส จะฝังโปรตีนที่จำเพาะต่อแอนติบอดีต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Leptospirosis ที่เชื่อมกับคอลลอยด์ โกลด์เอาไว้

การตรวจวิเคราะห์เริ่มต้นด้วยการใส่ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจลงในช่องตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร กรณีที่เป็นซีรัมหรือพลาสมา และใช้สิ่งส่งตรวจ 20 ไมโครลิตรกรณีที่เป็นเลือดครบส่วน จากนั้นหยดน้ำยา Diluent 3-4 หยด ซึ่งจะช่วยให้การซึมผ่านเข้าสู่ตลับทดสอบและแถบทดสอบของสิ่งส่งตรวจสะดวกขึ้น สิ่งส่งตรวจจะถูกดูดซับจากช่องตัวอย่างของตลับทดสอบและเคลื่อนที่ผ่านขึ้นมาบริเวณที่มีโปรตีนที่จำเพาะต่อแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรค Leptospirosis ที่เชื่อมกับคอลลอยด์ โกลด์เอาไว้ แอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนสังเคราะห์นี้จะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน และเคลื่อนที่ไปตามแผ่นไนโตรเซลลูโลสด้วยการซึมผ่าน (โครมาโตกราฟี) สู่บริเวณทดสอบและบริเวณควบคุม ตามลำดับ

ปฏิกิริยาบวกชี้บ่งโดยการปรากฏแถบสี 2 แถบ ได้แก่ แถบชมพูแดงในบริเวณทดสอบ (Test line) 1 เส้น และแถบชมพูแดงในบริเวณควบคุมอีก (control line) 1 เส้น

ปฏิกิริยาลบชี้บ่งโดยการไม่ปรากฏแอนติบอดีชนิด IgM/IgG ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Leptospirosis พบแต่เพียงแถบชมพูแดงแถบเดียว ณ บริเวณควบคุมของแถบทดสอบ แถบควบคุมจะเป็นเครื่องชี้บ่งว่า การทดสอบทำได้ถูกวิธี

1. **วิธีการตรวจ**

เป็นวิธีที่ใช้สำหรับตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM/IgG ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Leptospirosis เพื่อการตรวจกรองแบบง่ายและรวดเร็ว โดยเป็นการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ขั้นตอนการตรวจทางด้านอิมมิโนเพียงขั้นตอนเดียว อาศัยหลักการ Immuno Chromatography test (ICT)

1. **เอกสารอ้างอิง**

1.เอกสารกำกับการใช้ชุดตรวจ SD BIOLINE Leptospira

2.เอกสารการรับรองมาตรฐานโดยองค์การอนามัยโลก(WHO) และ ISO13485:2003

3.เอกสารรับรองการตรวจสอบคุณภาพ QC Department

1. **คำนิยามและคำย่อ**

-

1. **เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

6.1 Serofuge (WI-LAB-Ins-006)

6.2 Internal quality control blood bank (WS-LAB-027)

1. **ความปลอดภัย**

ปฏิบัติตามหลัก universal precaution

8. **เครื่องมือเครื่องใช้**

อุปกรณ์จำเป็นอื่นๆ ที่มิได้มีให้มาพร้อมในชุดทดสอบ

- ไปเปตอัตโนมัติขนาด 10 และ 20 ไมโครลิตรพร้อมทิปแบบใช้แล้วทิ้ง

- นาฬิกาจับเวลา

9. **น้ำยาและสารมาตรฐาน**

ชุดตรวจ SD BIOLINE Leptospira ภายในประกอบด้วย

- ตลับทดสอบ SD BIOLINE Leptospira จำนวน 30 ชุดการทดสอบ

- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจาง (Assay diluent) 1 ขวด

**10. วิธีดำเนินการ**

1.การเตรียมการทดสอบ

1. อ่านคู่มือให้เข้าใจก่อนเริ่มการทดสอบ
2. นำตัวอย่างตรวจที่เก็บไว้ในตู้เย็นมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
3. หยิบแถบทดสอบออกจากซองอลูมิเนียมฟอยด์ตามจำนวนที่ต้องการ

4.การทดสอบที่อุณหภูมิห้อง ควรทำตัวอย่างบวกและลบ (Positive and negative control)

ควบคู่ไปด้วย

2.การทดสอบ

1. ดูดสิ่งส่งตรวจด้วยปิเปตต์ที่มีทิปชนิดใช้ครั้งเดียว 10 ไมโครลิตร (20 ไมโครลิตร สำหรับเลือดครบส่วน) ลงในช่องใส่ตัวอย่าง (Sample port) แล้วทิ้งทิปที่ใช้แล้วเสมือนเป็นขยะติดเชื้อ
2. เติมน้ำยา Assay diluent 3-4 หยด ลงในหลุมตัวอย่างหลังจากเติมสิ่งส่งตรวจแล้ว
   1. อ่านผลการทดสอบเมื่อครบเวลา 15 - 20 นาที และหากแถบผลการทดสอบที่เกิดขึ้นมีสีจาง อ่านผลอีกครั้งเมื่อครบเวลา 30 นาที
3. การนับและคำนวณ
4. ความเชื่อถือได้ของการทดสอบ

เพื่อเป็นการยืนยันว่า การทดสอบได้ปฏิบัติอย่างถูกวิธีและผลการทดสอบนั้นยอมรับได้ เส้นควบคุม (Control line) ควรจะต้องปรากฏบนตลับทดสอบทุกตลับ

การไม่ปรากฏเส้นควบคุมภายใน (Internal Control line) พิจารณาว่าเป็นผลการทดสอบที่ไม่ยอมรับ และต้องทำการทดสอบซ้ำ

**ข้อสำคัญ**

เส้นการทดสอบ (Test line) ที่ปรากฏสีจางๆให้สันนิษฐานว่าผลการทดสอบเป็นบวก และควรทำการทดสอบเพิ่มเติมต่อไป

**11. การนับและคำนวณ**

-

**12. การควบคุมคุณภาพ**

1. Internal Quality Control

-บริเวณส่วนควบคุมหรือ Control (C) จะช่วยบอกสภาพว่า Strip (แถบทดสอบ) ใช้งานได้หรือไม่

2. External Quality Control

- ส่ง inter LAB ปีละ 1 ครั้ง

**13. การรายงานผล**

เกิดแถบสีชมพูขึ้น 1 แถบ ที่ control band อ่านผล Negative

เกิดแถบสีชมพูขึ้น 2 แถบ ที่ control band และ test band อ่านผล Positive

1. **ค่าปกติ**

Negative

1. **ข้อระวัง,ข้อจำกัด**

1.ขั้นตอนการทดสอบและแปลผลชุดตรวจ SD BIOLINE LEPTOSPIRA ระบุอย่างละเอียดอยู่ในคู่มือการใช้งานของชุดตรวจ

2.ชุดตรวจ SD BIOLINE LEPTOSPIRA เป็นการตรวจกรองชนิดหนึ่งหลังการสัมผัสเชื้อ ในระยะแรกแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรค Leptospirosis ชนิด IgG อาจใช้เวลาในการตอบสนองล่าช้า การไม่เกิดปฏิกิริยาด้วยชุดทดสอบนี้จึงไม่ควรสรุปว่า ผู้ป่วยไม่ได้สัมผัสเชื้อหรือไม่ได้ติดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Leptospirosis ชนิด *Leptospira interogans*

3.ชุดตรวจ SD BIOLINE LEPTOSPIRA มีจุดมุ่งหมายเพื่อทดสอบตัวอย่างที่ไม่มีการเจือจางเท่านั้น จึงไม่ควรเจือจางตัวอย่างก่อนการทดสอบ

4.ชุดตรวจ SD BIOLINE LEPTOSPIRA สามารถเก็บไว้ได้ที่ 2 - 30 องศาเซลเซียส

5.ใช้ชุดตรวจนี้เพื่อวินิจฉัยโรคภายนอกร่างกายเท่านั้น

6.ทิ้งสิ่งส่งตรวจ ตลับทดสอบและวัสดุอื่นๆ ที่ใช้แล้วให้ถูกต้องเสมือนเป็นขยะติดเชื้อ

7.ห้ามใช้น้ำยาและตลับทดสอบจากต่างรุ่นการผลิต

8.ห้ามใช้ตลับทดสอบที่หมดอายุแล้ว

9.กรณีที่สิ่งส่งตรวจเป็นเลือดครบส่วน หากไม่สามารถทำการทดสอบได้ทันทีสามารถเก็บรักษาสภาพไว้ที่ 2 - 8 องศาเซลเซียส ได้นาน 3 วัน

10.กรณีที่สิ่งส่งตรวจเป็นซีรัมหรือพลาสมา หากไม่สามารถทำการทดสอบได้ทันทีสามารถเก็บรักษาสภาพไว้ที่ 2 - 8 องศาเซลเซียส และถ้าต้องการเก็บให้ได้นานกว่า 1 สัปดาห์ ควรเก็บที่ -20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า

11.ก่อนทำการทดสอบควรนำตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 15 - 30 องศา

เซลเซียส