



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง การตรวจ Dengue NS1 Antigen

WI-LAB-070

แก้ไขครั้งที่ 4

ผู้จัดทำ

ร.ต.

(ศาสตราจารย์ ไชยพงศ์)

ผู้จัดการวิชาการสาขามิคุ้มกันวิทยาคลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน

ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ


พ.อ.

(นิตร์มงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณณสีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 1 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

เพื่อตรวจหาแอนติเจน (Dengue NS1 antigens) ของเชื้อไข้เลือดออกใน serum หรือ plasma ของผู้ป่วยเพื่อให้แพทย์ใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อไข้เลือดออก (Dengue virus) ซึ่งการตรวจวิเคราะห์หาแอนติเจน (Dengue NS1 antigens) เป็นการตรวจกรองแบบง่ายและรวดเร็ว สำหรับการวินิจฉัยการติดเชื้อไข้เลือดออก (Dengue virus) ในผู้ป่วยที่แสดงอาการร่วมด้วย โดยอาศัยหลักการ อิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (Immunofluorescence assay)

2. หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ (principle and method of procedure used for examinations)

2.1 ชุดตรวจ STANDARD F Dengue NS1 Ag FIA เป็นการตรวจวิเคราะห์หาแอนติเจน (Dengue NS1 antigens) แบบรวดเร็วเชิงปริมาณ โดยใช้หลักการอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (Immunofluorescence assay) ซึ่งตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเป็น Whole blood (เลือดครบส่วน), plasma และ serum

2.2 STANDARD F NS1 Ag FIA มีบริเวณแถบทดสอบ (Test line) และบริเวณแถบควบคุม (Control region) โดยบริเวณแถบทดสอบจะถูกเคลือบด้วย anti-Dengue NS1 ตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปตามเมนเบรอน หากในตัวอย่างส่งตรวจมีแอนติเจน (Dengue NS1 antigens) ของเชื้อไข้เลือดออกจะเกิดปฏิกิริยากับ Europium ที่ตรึงไว้ด้วย monoclonal anti-Dengue NS1 ที่ Conjugate Pad แล้วสร้างตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้นบริเวณแถบทดสอบและส่งสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ ขึ้นโดยเครื่อง Standard F analyzer จะทำการวิเคราะห์ผลและแสดงผลไปยังหน้าจอต่อไป

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

ระบุไว้ในใบแทรกน้ายา SEROLOGICAL TESTING FOR ARBOVIRUSES STANDARD F Dengue FIA (PI-LAB-070) ดังนี้

Superior Sensitivity and Specificity

Comparison evaluation [Dengue NS1 Ag & IgM/IgG FIA] : STANDARD F vs. RDT

▣ Sensitivity & Specificity

Compared to the commercial RDT, the sensitivity of STANDARD F Dengue NS1 Ag FIA is much higher with 100% sensitivity.

	Commercialized RDT	Dengue NS1 Ag FIA	Dengue IgM/IgG FIA
Sensitivity	94% (122/130)	100% (130/130)	98% (42/43)
Specificity	100% (280/280)	100% (280/280)	99% (183/184)


▣ Limit of Detection (LOD)

The evaluation that was performed with immuno-chromatography test and STANDARD F Dengue NS1 Ag FIA using diluted dengue virus in serum. STANDARD F Dengue NS1 Ag FIA shows 4-8 times lower limit of detection than commercial RDT.

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด (Blood) ปริมาณที่ต้องการสำหรับหลอดเก็บเลือดขนาด 13x75 mm. ประมาณ 2- 4 mL ตามข้อกำหนดของแต่ละชนิดของหลอดบรรจุเลือด (ดูข้อ 6) ก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์ต้องปั่นแยกที่ความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 2 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่


- 4.2.1 Serum : เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือด (ที่ไม่ประกอบด้วย Heparin/ EDTA/Sodium citrate) ซึ่งหากไม่สามารถทดสอบ serum ได้ทันที ควรเก็บไว้ที่ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C สำหรับการเก็บที่มากกว่า 1 สัปดาห์ ควรมีการแช่แข็ง -40 °C และควรมีการนำตัวอย่างวางตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-30 °C ก่อนทำการทดสอบ
- 4.2.2 Plasma กำหนดให้ใช้ Li-heparin, K2-EDTA plasma and Sodium citrate plasma ซึ่งหากไม่สามารถทดสอบ plasma ได้ทันที ควรเก็บไว้ที่ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C สำหรับการเก็บที่มากกว่า 1 สัปดาห์ ควรมีการแช่แข็ง -40 °C และควรมีการนำตัวอย่างวางตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-30 °C ก่อนทำการทดสอบ
- 4.2.3 Whole blood (เลือดครบส่วน)
 - 4.2.3.1 Capillary whole blood ควรใช้วิธีเจาะเก็บจากเลือดปลายนิ้ว และควรทำการทดสอบทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง
 - 4.2.3.2 Venous whole blood เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือด (ที่ประกอบด้วย Heparin/ EDTA/ Sodium citrate) โดยวิธี venipuncture เก็บตัวอย่างเลือดไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ควรทดสอบภายใน 1-2 วัน หลังจากเก็บตัวอย่าง และห้ามทดสอบตัวอย่างที่ Hemolysis

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

ไม่มีการงดน้ำงดอาหาร

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

- 6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Dengue NS1 Ag ได้แก่
 - 6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีแดง) ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้ในงานประจำวัน สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอก ห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ
 - 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL, EDTA Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีม่วง) ขนาดบรรจุ 2-3 mL มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Dengue NS1 Ag ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 เท่านั้น

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 3 จาก 11 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566


6.2 ความคงตัวของระดับ Dengue NS1 Ag ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์	ตัวอย่างตรวจ	ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจ	ความคงตัวของ Dengue NS1 Ag		
			อุณหภูมิห้อง (RT)	2-8 °C	<-40 °C
ก. ตัวอย่างตรวจเริ่มต้น	Plasma เริ่มต้น	Li-Heparin Blood Collection tube	24 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
		EDTA Blood Collection tube	24 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
		Sodium citrate Blood Collection tube	24 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
	Serum เริ่มต้น	clot activator tube	24 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
	Whole blood เริ่มต้น	Capillary Whole blood	24 ชั่วโมง	1-2 วัน	ไม่ควรทำ
		Venous whole blood	24 ชั่วโมง	1-2 วัน	ไม่ควรทำ
ข. ตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากตัวอย่างตรวจเริ่มต้น(แยกออกจากส่วนที่เป็นตะกอนเม็ดเลือดโดยเร็วภายใน 3 ชั่วโมง)	Heparinized Plasma	Plain tube	24 ชั่วโมง	7 วัน	6 เดือน
	EDTA Plasma	Plain tube	24 ชั่วโมง	7 วัน	6 เดือน
	Sodium citrate Plasma	Plain tube	24 ชั่วโมง	7 วัน	6 เดือน
	Serum	Plain tube	24 ชั่วโมง	7 วัน	6 เดือน

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

- 7.1 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่น
- 7.2 ชุดทดสอบ Standard F NS1 Ag FIA ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน (ready-to-use) มีลักษณะโดย 1 กล่อง บรรจุ 25 Test เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-30°C จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้างกล่อง ประกอบด้วยอุปกรณ์และสารเคมี ดังนี้
 - 7.2.1 แลบทดสอบ (Test device)
 - 7.2.2 Assay diluent
 - 7.2.3 หลอดหยด 100 µl (Disposable dropper 100 µl)
 - 7.2.4 เอกสารกำกับการใช้ชุดตรวจ
- 7.3 สารควบคุมคุณภาพ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณส์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 4 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

7.3.1 ชุดน้ำยาควบคุมคุณภาพภายใน (IQC Dengue) สำหรับชุดตรวจ Standard F Dengue NS1 Ag เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการสนับสนุนจากบริษัทผู้จัดจำหน่ายชุดทดสอบ Standard F NS1 Ag FIA ใช้ตรวจวิเคราะห์ไปพร้อมกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยใน First case ของการเปิดกล่องใหม่ หรือ เดือนละ 1 ครั้ง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2°C to 8°C

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารเคมีอันตรายส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures; metrological traceability)

การทดสอบการสอบเทียบเป็นฟังก์ชันที่จำเป็นเพื่อให้มั่นใจในประสิทธิภาพที่ดีที่สุด โดยการทดสอบการสอบเทียบทำการทดสอบก็ต่อเมื่อ

9.1 เมื่อใดก็ตามที่เปิดเครื่องตรวจวิเคราะห์

9.2 เมื่อติดตั้งเครื่องตรวจวิเคราะห์

9.3 เมื่อใดก็ตามที่ผลไม่สอดคล้องกับที่ผลที่คาดหวัง

9.4 เมื่อต้องการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์และลับทดสอบ

9.5 วิธีการทดสอบการสอบเทียบ

9.5.1 ทำการทดสอบการสอบเทียบ โดยเลือกเมนู 'Calibration' ใส่ Operator's ID ก่อนเริ่มการทดสอบ

9.5.2 เมื่อ 'Insert Device' ปรากฏขึ้นบนหน้าจอให้ใส่ CAL-1 ลงในช่องใส่ลับทดสอบของเครื่องตรวจวิเคราะห์ จากนั้นเครื่องตรวจวิเคราะห์จะจัดเรียงข้อมูลโดยอัตโนมัติ

9.5.3 เมื่อใส่ลับทดสอบลงในเครื่องตรวจวิเคราะห์ เครื่องตรวจวิเคราะห์จะตรวจสอบโดยอัตโนมัติว่าทำการทดสอบ CAL-1 แล้วหรือยัง นอกจากนี้เครื่องตรวจวิเคราะห์จะยังอ่านข้อมูลบนบาร์โค้ด และตรวจสอบลับทดสอบเพื่อความถูกต้อง ก่อนเริ่มการทดสอบ

9.5.4 ต่อไป ใส่ CAL-2 สำหรับการทดสอบ UV

9.5.5 ใส่ CAL-3 สำหรับการทดสอบ RGB-LED ตรวจสอบให้แน่ใจว่าใส่ CAL-2 และ CAL-3 ตามลำดับ ห้ามเปลี่ยนลำดับ

9.5.6 หากค่าที่วัดได้อยู่ในช่วงค่าปกติ ข้อความ "OK" จะปรากฏขึ้นบนหน้าจอ

9.5.7 ถ้าค่าที่วัดไม่ได้อยู่ในช่วงค่าปกติ ข้อความ 'EEE' จะปรากฏขึ้นบนหน้าจอ


ข้อควรระวังและคำเตือน ชุดทดสอบการสอบเทียบไม่สามารถแทนที่ได้ด้วยการทดสอบสารควบคุมคุณภาพ

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ น้ำยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์

10.1.1 ทำการศึกษาข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ในคู่มือไบแทรกน้ำยาก่อนทำการทดสอบ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณณสีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 5 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

- 10.1.2 ตรวจสอบวันหมดอายุของชุดทดสอบก่อนทำการทดสอบ
- 10.1.3 หยิบแถบทดสอบออกจากซองอลูมิเนียมฟอยด์ตามจำนวนที่ต้องการ
- 10.1.4 ควรทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง (15-30°C)
- 10.2 **ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ การใช้งานเครื่องในโหมด Standard Test**

10.2.1 กดปุ่ม Power ด้านข้างเพื่อเปิดเครื่อง Standard F 200 ให้พร้อมใช้งาน จากนั้นกดเลือกโหมด “Standard Test” ที่หน้าจอ

10.2.2 ใส่ข้อมูล Operator ID, Patient ID และ Order แล้วกด OK (หากไม่ใส่ข้อมูลข้างต้น สามารถกด “Direct” เพื่อข้ามไปสู่หน้าการทดสอบได้)

10.2.3 เครื่องจะแจ้งให้ Insert Device ให้ Label ข้อมูลที่ชุดตรวจ แล้วนำชุดตรวจเข้าสู่เครื่อง

10.2.4 เครื่องจะนำชุดตรวจเข้าตรวจสอบ Barcode และถ่ายรูปที่ Label ไว้แสดงขึ้นที่หน้าจอ หน้าจอจะแจ้งให้ Apply Sample จากนั้นเติมตัวอย่างที่เตรียมไว้

10.2.5 ดูดตัวอย่าง 100 µl โดยใช้ Autopipette ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว เติมตัวอย่างลงใน assay

diluent buffer tube ผสมตัวอย่างและ assay diluent buffer ให้เข้ากัน แล้วเติมตัวอย่างที่ผสมแล้ว 100 µl ลงในช่องตัวอย่าง และกดปุ่ม START

10.2.6 เครื่องจะทำการวิเคราะห์ผลและรายงานผลอัตโนมัติภายใน 15 นาที ในกรณีตัวอย่าง Strong Positive เครื่องสามารถรายงานผลได้เลยตั้งแต่ 5 นาที

- 10.3 **ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ การใช้งานเครื่องในโหมด Read only**

10.3.1 Label ข้อมูลที่ชุดตรวจ จากนั้นทำการ pipette ตัวอย่างที่ผสมแล้ว 100 µl โดยใช้ Autopipette ที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว ลงในช่องตัวอย่าง

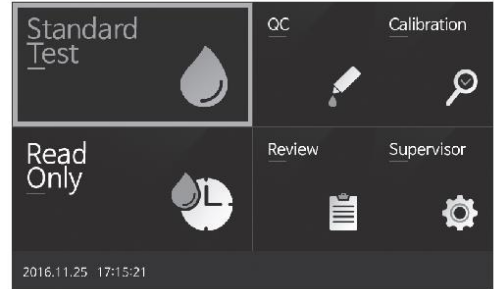
10.3.2 Incubate ชุดตรวจไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที แต่ไม่เกิน 20 นาที


10.3.3 เมื่อเครื่อง Standard F พร้อมใช้งานแล้วกดเลือกโหมด “Read only” ที่หน้าจอ

10.3.4 ใส่ข้อมูล Operator ID, Patient ID และ Order# แล้วกด OK (หากไม่ใส่ข้อมูลข้างต้น สามารถกด “Direct” เพื่อข้ามไปสู่หน้าการทดสอบได้)

10.3.5 เครื่องจะแจ้งให้ Insert Device ให้ Label ข้อมูลที่ชุดตรวจ เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำชุดตรวจเข้าสู่เครื่องทดสอบได้ จากนั้นเครื่องจะนำชุดตรวจเข้าตรวจสอบ Barcode และถ่ายรูปที่ Label ไว้แสดงขึ้นที่หน้าจอ

10.3.6 เครื่องจะทำการวิเคราะห์ผลและรายงานผลอัตโนมัติภายใน 10 วินาที




	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณณสีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 6 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

- 11.1 การควบคุมคุณภาพภายใน ทำ IQC ทุกครั้งที่มีการเปิดกล่องน้ำยากล่องใหม่หรือเดือนละครั้งหรือขึ้น Lot ใหม่ แล้วแต่อย่างใดอย่างหนึ่งถึงก่อน โดยใช้ น้ำยาควบคุมคุณภาพภายในสำหรับชุดตรวจ Standard F Dengue NS1 2 ระดับ คือ Dengue NS1 Ag Positive control และ Dengue NS1 Ag Negative control ก่อนทำการทดสอบกับ serum หรือ plasma ของผู้ป่วยหรืออาจทำไปพร้อมกันก็ได้
- 11.2 การควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอก (EQA) โดยเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ การตรวจ Dengue NS1 antigen, Dengue IgM และ Dengue IgG ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ปีละ 2 ครั้ง โดยครั้งละ 4 ตัวอย่าง รวมเป็น 8 ตัวอย่าง
- 11.3 การควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอก (EQA) โดยเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ การตรวจ Dengue NS1 antigen, Dengue IgM และ Dengue IgG โดย บริษัท เอ็มพี เมดกรุ๊ป จำกัด ปีละ 2 ครั้ง โดยครั้งละ 3 ตัวอย่าง รวมเป็น 6 ตัวอย่าง
- 11.4 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Dengue NS1 Ag มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งงดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่นำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025)

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

- 12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม โครงการเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาการติดเชื้อเดงกีและภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเดงกี เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ Dengue NS1 antigen ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย ห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านโรคเขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ความถี่ในการประเมินปีละ 2 ครั้ง
- 12.2 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม โครงการเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์ Dengue NS1 antigen ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย บริษัท เอ็มพี เมดกรุ๊ป จำกัด โดยมีความถี่ในการประเมินปีละ 2 ครั้ง
- 12.3 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หา Dengue NS1 antigen พร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงาน
- 12.4 เมื่อโปรแกรม โครงการเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาการติดเชื้อเดงกีและภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเดงกี ประเมินผลเสร็จแล้ว จะนำส่งกลับมาที่ห้องปฏิบัติการ ให้นำรายงานผลมาเก็บไว้ใช้ทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณณสีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 7 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

12.5 ผู้จัดการวิชาการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน Dengue NS1 antigen ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (Interferences)

- 13.1 ตัวอย่างที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Lithium Heparin, EDTA และ Sodium citrate ไม่รบกวนผลการทดสอบ
- 13.2 ผลการตรวจสามารถถูกรบกวนได้จากภาวะ Hemolysis, Lipemic, Icteric รวมไปถึงการมี Rheumatoid factor
- 13.3 ควรใช้อุปกรณ์แยกชุดกันในแต่ละสิ่งส่งตรวจเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและไม่รบกวนผลการตรวจวิเคราะห์
- 13.4 สารที่รบกวนการตรวจ Dengue NS1 antigen ซึ่งจะต้องมีปริมาณมากกว่าที่ระบุในตาราง ดังต่อไปนี้


We confirmed that STANDARD™ F Dengue NS1 Ag FIA does not be affected by the interference substances of the following range.

#	Interference substance	Concentration of substances
1	Acetamidophenol	20 mg/mL
2	Acetylsalicylic acid	20 mg/mL
3	Albuterol	20 mg/mL
4	Beclomethasone	10 ug/mL
5	Bilirubin	10 ug/mL
6	Budesonide	10 ug/mL
7	Chlorpheniramine	5 mg/mL
8	Dextromethorphan	10 mg/mL
9	Diphenhydramine	4 mg/mL
10	Flunisolide	500 ng/mL
11	Fluticasone	500 ng/mL
12	Guaiacol	30 mg/mL
13	Hemoglobin	10 ug/mL
14	Homeopathic Allergy Medicine	20 mg/mL
15	Ibuprofen	20 mg/mL
16	Mucin	10 mg/mL
17	Oxymetazoline	0.05 mg/mL
18	Phenylephrine	10 mg/mL
19	Ribavirin	1 ug/mL
20	Rimantadine	500 ng/mL
21	Synagis	4 ug/mL
22	Tobramycin	500 ng/mL
23	Triamcinolone	500 ng/mL

14. หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอนของการวัด (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)

ไม่มี

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายฤกษ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 8 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

15. ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก(biological reference intervals or clinical decision values)

ค่าอ้างอิงของคนที่ไม่ติดเชื้อหรือไม่เคยติดเชื้อ Dengue Virus ผลการตรวจ Dengue NS1 Ag คือ Negative (COI < 1.0)

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

การตรวจ Dengue NS1 Ag ซึ่งจะรายงานผลเป็นค่า Cut-off index (COI) ตรวจได้ตั้งแต่ 0.00 – 999.99

17. คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด (instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)


ชุดตรวจ Standard F NS1 Ag FIA จุดมุ่งหมายเพื่อทดสอบตัวอย่างที่ไม่มีการเจือจางเท่านั้น จึงไม่ควรเจือจางตัวอย่างก่อนการทดสอบ

18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)







ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

Result	COI (Cutoff index) value	Interpretation
Positive	COI \geq 1.0	Positive for Dengue NS1 Antigen
Negative	COI < 1.0	Negative for Dengue NS1 Antigen
Invalid	Not show the COI value	Retest should be performed

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 9 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

[Displays of STANDARD F200 Analyzer]

Test result	Window example	
Negative		
Positive		
Invalid		

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 ชุดทดสอบ Standard F NS1 Ag FIA


- 20.1.1 แลบทดสอบ (test device) เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- 20.1.2 บาร์โค้ดแลบทดสอบ (test device) ชำรุดหรือเลือนราง
- 20.1.3 Assay diluent เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- 20.1.4 เปลี่ยน lot ใหม่

20.2 เครื่องมือ (Analyzer)

- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration หรือ ไม่ทำ Calibration ตามวงรอบที่กำหนด
- หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ แล้วไม่ได้ calibration ใหม่
- ทำ maintenance check หรือทำ preventive maintenance เลยวงรอบหรือไม่ทำตามเงื่อนไขคำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด

20.3 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (Sample)

- ตัวอย่างมีการ Hemolysis, Lipemic, Icteric รวมไปถึงการมี Rheumatoid factor

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Dengue NS1 Antigen	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-070	หน้า 10 จาก 11 หน้า
แก้ไขครั้งที่ : 4	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

21. เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา Dengue NS1 Ag FIA (PI-LAB-070)
- 21.2 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.3 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)
- 21.4 Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control, World Health Organization, New Edition 2009.
- 21.5 คู่มือการใช้งานเครื่อง STANDARD F200

22. ภาคผนวก

- 22.1 ภาคผนวก 2 ใบแทรกน้ำยา ชุดน้ำยาควบคุมคุณภาพภายใน สำหรับชุดตรวจ Standard F Dengue NS1



ชุดน้ำยาควบคุมคุณภาพภายใน
สำหรับชุดตรวจ Standard F Dengue NS1

1. คำอธิบายชุดน้ำยา

ชุดน้ำยาควบคุมคุณภาพภายในสำหรับการตรวจหาเชื้อไข้เลือดออก ได้ผ่านกระบวนการตรวจยืนยันและหรือคัดกรองผลการทดสอบแล้ว ได้ถูกจัดเตรียมขึ้นและจัดเก็บตามกระบวนการที่เหมาะสมเพื่อให้ในการทดสอบคุณภาพภายในสำหรับชุดตรวจ Standard F Dengue NS1 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเสริมสร้างคุณภาพและความเชื่อมั่นในการรายงานผลการทดสอบ

2. ส่วนประกอบและอุปกรณ์ภายในชุดตรวจ

2.1 Positive control จำนวน 1 หลอด ปริมาตร 120 μ l

2.2 Negative control จำนวน 1 หลอด ปริมาตร 150 μ l

3. การเก็บรักษาชุดน้ำยาควบคุมคุณภาพภายใน

ควรเก็บรักษาชุดน้ำยาควบคุมคุณภาพภายในไว้ที่อุณหภูมิ (2-8 °C) หลังจากปรับน้ำยาเพื่อให้สามารถเก็บไว้ได้นาน

4. ข้อควรระวัง

4.1 เป็นชุดน้ำยาสำหรับ in vitro diagnostic เท่านั้น

4.2 ไม่กินอาหารและดื่มเครื่องดื่มในขณะที่ปฏิบัติการทดสอบ

4.3 สวมถุงมือและเครื่องป้องกันในขณะที่ปฏิบัติการทดสอบ

4.4 มีการทำความสะอาดด้วย disinfectant ที่เหมาะสม

4.5 ทำความสะอาดสิ่งของต่างๆ และทิ้งขยะติดเชื้อในถังขยะติดเชื้อ

4.6 ไม่ใช้ชุดตรวจหากของบรรจุมีรอยฉีกหรือขาดการแตกหรือรั่ว

4.7 ปฏิบัติตามขั้นตอนการทดสอบตามเอกสารกำกับการใช้ชุดตรวจเพื่อความถูกต้องของผลการทดสอบ

5. ขั้นตอนการปฏิบัติการทดสอบ

ปฏิบัติตามคู่มือกำกับการใช้งานชุดตรวจ Standard F Dengue NS1

6. การแปลผล

6.1 กรณี Negative control ต้องให้ผลการทดสอบเป็น Negative Result : ที่ค่า COI < 1

6.2 กรณี Positive control ต้องให้ผลการทดสอบเป็น Positive Result : ที่ค่า COI \geq 1



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-070 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Dengue NS1 Antigen

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
1 ต.ค. 60	0	ฉบับแรก	นายศาสตร์ศิลป์
1 ต.ค. 61	1	ทบทวนแล้วไม่มีการแก้ไข	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์
11 พ.ย. 62	2	ทบทวนแล้วไม่มีการแก้ไข	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์
11 พ.ย. 63	3	แก้ไขทั้งฉบับ	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์
1 ก.พ. 65	4	เพิ่มเติม ข้อ 12 ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยห้องปฏิบัติการเข้าร่วม โครงการเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์ Dengue NS1 antigen ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย บริษัท เอ็มพี เมดกรุ๊ป จำกัด โดยมีความถี่ในการประเมินปีละ 2 ครั้ง	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์