



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง การตรวจ Troponin T hs

WI-LAB-080

แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ

ร.ต.

(ศาสตราจารย์ ไชยพงศ์)

ผู้จัดการวิชาการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน

ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ

พ.อ.


(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

1 กุมภาพันธ์ 2566

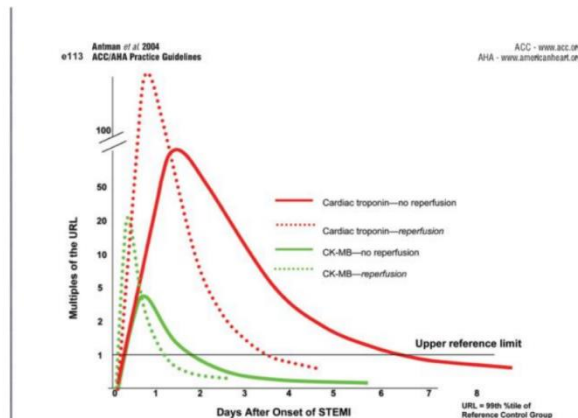
วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 1 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อหาปริมาณ Troponin T ซึ่งคุณภาพวิเคราะห์ (qualitative test) ในตัวอย่าง serum และ plasma โดยวิธี ECLIA (Electrochemiluminescent immunoassay ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas e 601 ร่วมกับน้ำยา Elecsys Troponin T hs
- 1.2 Troponin T เป็น cardiac marker ชนิดหนึ่ง ซึ่งการวินิจฉัยภาวะหัวใจขาดเลือดที่มีการเฉียบพลันตามคำจำกัดความสากลต้องมีการตรวจพบความผิดปกติ ของ cardiac biomarker ในเลือดเพื่อยืนยันว่ามี การตายของกล้ามเนื้อหัวใจ ในปัจจุบันการตรวจ cardiac biomarker ที่นิยมคือ cardiac troponin แต่ด้วยระยะเวลากว่าจะตรวจพบต้องอาศัยเวลานาน ดังแสดงในรูป



Marker	Initial Elevation	Peak Elevation	Return to Baseline
Myoglobin	1-4 h	6-7 h	18-24 h
CK-MB	4-12 h	10-24 h	48-72 h
Cardiac Trop I	3-12 h	10-24 h	3-10 d
Cardiac Trop T	3-12 h	12-48 h	5-14 d


จากข้อจำกัดข้างต้นในปัจจุบันจึงมีการศึกษาและพัฒนา cardiac biomarker คือ การตรวจ High sense troponin T (Troponin T hs) ในตัวอย่าง serum และ plasma เพื่อให้สามารถวินิจฉัยภาวะหัวใจขาดเลือดในผู้ป่วยที่มีอาการแน่นหน้าอกได้เร็วมากขึ้น

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

2.1 **หลักการ (Principle)** : น้ำยา Elecsys Troponin T ใช้หลักการ ECL/Sandwich ใช้เวลาในการทดสอบ 9 นาที โดยการใช้ Troponin T ที่อยู่ในสิ่งส่งตรวจ เป็นตัวเชื่อมระหว่าง Anti-troponin T-Ab-Ru(bpy)₃²⁺ และ Biotinylated monoclonal troponin T-specific antibody ซึ่งจะจับกับ microparticles ด้วย streptavidin-biotin interaction สัญญาณที่วัดได้จะแปรผันตามปริมาณ Troponin T ในสิ่งส่งตรวจ รายละเอียด ดังนี้

- ขั้นตอนที่ 1 : เติม Anti-troponin T-Ab-Ru(bpy)₃²⁺ และ Biotinylated monoclonal troponin T-specific antibody ลงไปก็จะเกิดเป็น sandwich กับ Troponin T ในสิ่งส่งตรวจ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 2 จาก 18	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

- ขั้นตอนที่ 2 : เมื่อเติม microparticles ที่เคลือบด้วย streptavidin ลงไป sandwich complex ที่มี Ru(bpy)₃²⁺ จะถูกตรึงไว้บน microparticles
- จากนั้นส่วนผสมจะถูกดูดเข้าไปที่ measuring cell ซึ่ง microparticles จะถูกดูดไว้ด้วยแม่เหล็ก สารที่ไม่เกี่ยวข้องจะถูกแยกออกด้วย ProCell เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่าน electrode จะทำให้เกิด chemiluminescent emission ซึ่งจะถูกวัดปริมาณโดย photomultiplier tube
- software ในเครื่อง cobas e 601 จะคำนวณผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีเทียบสัญญาณที่วัดได้จากปฏิกิริยาการตรวจวัดในสิ่งส่งตรวจกับ calibration curve ที่ได้จากการทำ Troponin T โดยอัตโนมัติ


2.2 วิธีการ(method) : ใช้วิธี electrochemiluminescence immunoassay “ECLIA”

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบ High sense troponin T (Troponin T hs) ต่อไปนี้อ้างอิงจากใบแทรกนํ้ายา Elecsys Troponin T hs STAT (PI-LAB-080) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตามแนวปฏิบัติ EP5-A2 ของ CLSI ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas e 601 ร่วมกับนํ้ายา Elecsys Troponin T hs STAT ได้ผลดังนี้

cobas e 601 and cobas e 602 analyzers						
Sample	Mean ng/L (pg/mL)	Repeatability		Intermediate precision (2 runs per day in duplicate each for 21 days) (n = 84)		ผลการ ตรวจสอบ
		SD ng/L (pg/mL)	CV %	SD ng/L (pg/mL)	CV %	
Human serum 1	10.2	0.38	3.7	0.41	4.0	Pass
Human serum 2	17.7	0.44	2.5	0.47	2.7	Pass
Human serum 3	42.5	0.76	1.8	0.90	2.1	Pass
Human serum 4	623	10.1	1.6	13.0	2.1	Pass
Human serum 5	4298	53.2	1.2	67.5	1.6	Pass
Human serum 6	9127	138	1.5	201	2.2	Pass
PreciControl TN1	27.2	0.41	1.5	0.50	1.9	Pass

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 3 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

PreciControl TN2	2278	20.1	0.9	33.6	1.5	Pass
------------------	------	------	-----	------	-----	------

หมายเหตุ :-

- Repeatability = within-run precision เป็นการประเมินความคาดเคลื่อน (error) ในระยะ เวลา short-term imprecision ทำโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำๆ กันภายในเวลาเดียวกัน ทำภายในห้องปฏิบัติการเพียงแห่งเดียว ผู้วิเคราะห์เพียงคนเดียว เครื่องมือที่ใช้มีเพียงเครื่องเดียวและใช้วิธีวิเคราะห์ เดียว
- Intermediate precision = within-laboratory precision/between-run เป็นการประเมินความคาดเคลื่อน (error) ในระยะเวลา long-term imprecision ทำโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำๆ กัน เป็นเวลาติดต่อกันหลายวัน ผู้วิเคราะห์หลายคน และเครื่องมือหลายเครื่อง
- Device precision หรือ Total precision เป็นความคาดเคลื่อน (error) ที่ได้จากการคำนวณจากทั้ง repeatability (within-run precision) และ intermediated precision (between-run precision)
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

3.2 Measuring range

3 - 1000 ng/L or pg/mL (limit of blank) ถ้าค่าที่ได้ > 1000 ng/L สามารถส่งเจือจางอัตโนมัติด้วยเครื่องได้ ตามแนะนำคือเจือจาง 1:10

Limit of Blank = 3 ng/L (pg/mL)

Limit of Detection = 5 ng/L (pg/mL)


Limit of Quantitation = 13 ng/L (pg/mL)

3.3 Analytical Specificity

พบว่าน้ำยา Troponin T hs STAT ไม่แสดงปฏิกิริยา cross-reaction อย่างมีนัยยะสำคัญกับดังต่อไปนี้ คือ h-skeletal muscle troponin T 0.003%, h-cardiac troponin I 0.2%, h-skeletal muscle troponin I 0.003%, human troponin C < 0.001% โดยการทดสอบใช้สาร TnT ที่ความเข้มข้น 18 ng/L (pg/mL) และ 38 ng/L (pg/mL) ความเข้มข้นของ TnT ที่แสดงปฏิกิริยา cross-reaction คือ 500 ng/mL

3.4 Sensitivity และ specificity

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 4 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566


Sensitivity and specificity calculated with AMI defined according to WHO criteria

The optimal cut-off for the assessment of acute myocardial infarction by troponin T was previously calculated by ROC analysis at 0.1 µg/L (ng/mL) or 100 ng/L (pg/mL) in a study with an earlier test generation of the Elecsys Troponin T assay.⁶¹ Sensitivity and specificity in peak troponin T values with the Elecsys Troponin T hs assay were calculated at this ROC optimized AMI cutoff at 0.1 µg/L (ng/mL) or 100 ng/L (pg/mL).

Sensitivity %	N	95 % confidence interval (%)	Specificity %	N	95 % confidence interval (%)
99	78/79	93-100	98	420/428	96-99

The sensitivity and specificity at 0.1 ng/mL (100 pg/mL) were in addition calculated for the Elecsys Troponin T hs assay at different time intervals from admission to the hospital:

Time from admission (hours)	Sensitivity %	N	95 % confidence interval (%)	Specificity %	N	95 % confidence interval (%)
0	64	23/36	46-79	98	160/163	95-100
0-3	83	54/65	72-91	100	385/387	98-100
3-6	90	37/41	77-97	99	320/324	97-100
6-9	97	32/33	84-100	100	218/219	98-100
9-12	100	11/11	72-100	100	50/50	93-100
> 12	100	21/21	84-100	100	66/66	95-100

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 5 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Sensitivity and specificity calculated with AMI defined according to the ESC/ACCF/AHA/WHF guidelines

Patients with AMI were defined by routine cardiac troponin values above the 99th percentile/10 % CV criteria, and presence of chest pain or ECG changes. Sensitivity and specificity at peak troponin T, high sensitive values were calculated at the 99th percentile of 14 ng/L (pg/mL).


Sensitivity %	N	95 % confidence interval (%)	Specificity %	N	95 % confidence interval (%)
100	112/112	97-100	75	297/395	71-79

Sensitivity and specificity of the Elecsys Troponin T hs assay was calculated at different troponin T levels.

Troponin T hs pg/mL	Sensitivity %	LCI ^{b)} %	UCI ^{c)} %	Specificity %	LCI %	UCI %
30	98	93.7	99.5	93	90.0	95.1
50	95	88.8	97.5	98	96.1	99.0
70	84	76.0	89.6	99	98.2	99.9
100	75	66.2	82.1	99	98.2	99.9

b) LCI = lower confidence interval

c) UCI = upper confidence interval

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 6 จาก 18	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	


The sensitivity and specificity at the 99th percentile (Elecsys Troponin T hs assay)/10 % CV (Elecsys Troponin T assay, 4th gen.; 0.03 ng/mL) criteria were in addition calculated for different time intervals from admission to the hospital:

Time from admission (hours)	Test generation Troponin T	Sensitivity %	N	95 % confidence interval (%)	Specificity %	N	95 % confidence interval (%)
0	4th gen.	71	40/56	58-83	99	142/143	96-100
	Troponin T hs	93	52/56	83-98	76	109/143	68-83
0-3	4th gen.	81	75/93	71-88	99	356/359	98-100
	Troponin T hs	98	91/93	93-100	79	282/359	74-83
3-6	4th gen.	83	53/64	71-91	100	300/301	98-100
	Troponin T hs	100	64/64	94-100	77	232/301	72-82
6-9	4th gen.	86	42/49	73-94	99	201/203	97-100
	Troponin T hs	98	48/49	89-100	76	155/203	70-82
9-12	4th gen.	83	15/18	59-96	100	43/43	92-100
	Troponin T hs	94	17/18	73-100	72	31/43	56-85
> 12	4th gen.	83	25/30	65-94	98	56/57	91-100
	Troponin T hs	100	30/30	88-100	60	34/57	46-72

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

- 4.1 Serum จากหลอดเก็บมาตรฐาน ไม่ควรใช้หลอดที่มี separating gel เพราะ gel อาจมีการฟุ้งออกมาปนในส่วนของ serum
- 4.2 Plasma ใช้ : K2-EDTA, K3-EDTA, Li-heparin, and Na-heparin plasma ไม่ควรตรวจ plasma สลับไปมากับการตรวจด้วย serum
- 4.3 การตรวจ Troponin T hs แต่ละครั้ง เครื่อง cobas e 601 จะใช้ Normal sample volume 50 ไมโครลิตร
- 4.4 ความคงตัวของตัวอย่าง : สิ่งส่งตรวจมีความคงตัวที่ 2-8°C นาน 24 ชั่วโมง และ สิ่งส่งตรวจมีความคงตัวที่ -20°C นาน 12 เดือน
- 4.5 ข้อควรระวังเกี่ยวกับความคงทนของตัวอย่าง มีดังนี้

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 7 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 4.5.1 สิ่งส่งตรวจแช่แข็งแล้วละลายห้ามใช้ซ้ำ
- 4.5.2 ถ้าสิ่งส่งตรวจมีตะกอน ต้องปั่นแยกตะกอนก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์
- 4.5.3 ห้ามนำสิ่งส่งตรวจที่ผ่านขั้นตอนยี้ดอายุการเก็บด้วย Azide
- 4.5.4 ตัวอย่าง calibrator และ control ทุกชนิดต้องมีอุณหภูมิ 20-25°C ก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์
- 4.5.5 เพื่อป้องกันการระเหยของตัวอย่าง calibrator และ control ภายในเครื่อง ควรตรวจวิเคราะห์ภายใน 2 ชั่วโมง
- 4.5.6 ในกรณีที่ใช้ Primary tube เข้าเครื่อง ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิต tube อย่างเคร่งครัด

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

การตรวจ Troponin T hs ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง Troponin T hs (type of container and additives)


6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Troponin T hs ได้แก่

- 6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL ใช้ในงานประจำวัน สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกและแผนกฉุกเฉินที่ส่งตรวจหา Troponin T hs
- 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีแดง)ขนาดบรรจุ 3-4 mL ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 เท่านั้น
- 6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี K₂-EDTA K₃-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.2 เท่านั้น

6.2 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์

- 6.2.1 หลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นขนาด 13x75 mm. ในข้อ 6.1 ที่ปั่นแยก serum หรือ Plasma แล้ว
- 6.2.2 Hitachi cup เป็น sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (100 ไมโครลิตร)
- 6.2.3 Hitachi micro cup เป็น Sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume(50 ไมโครลิตร)
- 6.2.4 หลอดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง(Plain tube) ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (500 ไมโครลิตร)


เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 8 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

- 7.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ : ใช้เครื่อง cobas e 601 ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่อง cobas c 501, Control unit และ Core unit เป็นระบบวิเคราะห์ที่เรียกชื่อว่า cobas 6000 analyzer series ทุกส่วนเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Roche Diagnostic ประเทศเยอรมัน
- 7.2 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่น
- 7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา Elecsys Troponin T hs STAT เป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน (ready-to-use) บรรจุในรูปแบบ Reagent rackpack ติดฉลาก “Troponin T hs STAT ” ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 ชุดตรวจได้ 100 Tests
- 7.3.1 ความคงทนและวิธีการเก็บรักษา Troponin T hs STAT reagent rackpack
- 7.3.1.1 เก็บน้ำยาตั้งขวดขึ้นเสมอ เมื่อยังไม่เปิดใช้งาน
- 7.3.1.2 เก็บน้ำยาที่ 2-8 °C จะมีความคงตัวจนถึงวันสิ้นอายุที่ระบุไว้ข้างภาชนะบรรจุน้ำยา
- 7.3.1.3 หลังจากเปิดใช้แล้ว น้ำยามีความคงทนที่ 2-8 °C นาน 12 สัปดาห์
- 7.3.1.4 เมื่อน้ำยาอยู่ในเครื่อง cobas e 601 มีความคงทนนาน 4 สัปดาห์ ถ้าวางต่อเนื่องในเครื่อง cobas e 601 ที่ 20-25 °C ตลอดเวลา
- 7.3.2 สารเคมีใน Elecsys Troponin T STAT reagent rackpack มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้---
- Streptavidin-coated microparticles (transparent cap), 1 bottle, 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles, 0.72 mg/mL; preservative.
 - Anti-troponin T-Ab~biotin (gray cap), 1 bottle, 10 mL: Biotinylated monoclonal anti-troponin T-antibody (mouse) 1.5 mg/L; phosphate buffer 100 mmol/L, pH 6.0; preservative; inhibitors.
 - Anti-troponin T-Ab~Ru(bpy) 2+3 (black cap), 1 bottle, 10 mL: Monoclonal anti-troponin T-antibody (mouse) labeled with ruthenium complex 1.2 mg/L; phosphate buffer 100 mmol/L, pH 6.0; preservative.
- 7.4 สารมาตรฐาน :-
- 7.4.1 Elecsys Troponin T Calset ประกอบด้วย Troponin T ที่มีความเข้มข้น 2 ระดับ ในสถานะของ buffer/protein matrix ค่าความเข้มข้นที่แน่นอนของน้ำยาแต่ละรุ่นการผลิต (lot-specific) จะถูกใส่ข้อมูลไว้ในแถบรหัส (bar code)
- 7.4.2 ความคงทนและการเก็บรักษา calibrators
- 7.4.2.1 เก็บรักษา calibrator ใน snap-cap bottles(CalSet Vials) ให้ตั้งขวดขึ้นเสมอเพื่อป้องกัน calibrator solution เกาะที่ฝาปิด(snap-cap)
- 7.4.2.2 เก็บรักษาที่ 2-8 °C จะมีความคงตัวจนถึงวันสิ้นอายุที่ระบุไว้ข้างขวดบรรจุ calibrator
- 7.4.2.3 หลังจากเปิดใช้แล้ว มีความคงทนที่ 2-8 °C นาน 8 สัปดาห์

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 9 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

7.4.2.4 เมื่อนำออกมาจากตู้เย็นและวางอยู่ในเครื่อง cobas e 601 ที่ 20-25 °C แล้ว จะใช้ได้เพียงครั้งเดียว ให้ถือว่าหมดอายุทันทีหลังจากใช้งานแล้ว

7.5 สารควบคุมคุณภาพ : ใช้ Liquichek Cardiac Markers Plus Control Levels 1, 2

7.6 อุปกรณ์ประกอบการทดสอบ(Accessories for cobas e 601)


- 7.6.1 ProCell M (system buffer) มีสาร TPA ที่ใช้ในขั้นตอนการวัดในหลักการ ECL
- 7.6.2 CleanCell M (measuring cell cleaning solution) ใช้ล้าง measuring cell หลังการวัด
- 7.6.3 PC/CC-cups (prewarm ProCell M and CleanCell M before use)
- 7.6.4 ProbeWash M (cleaning solution for run finalization and rinsing during reagent change) ใช้ล้าง Reagent probe ในบางการทดสอบ เพื่อป้องกัน carry over
- 7.6.5 AssayTip/AssayCup combimagazine M
- 7.6.6 WasteLiner (Waste bags)
- 7.6.7 SysClean Adapter M
- 7.6.8 Elecsys SysClean
- 7.6.9 Deionized water
- 7.6.10 Elecsys 2010 Assay cup (reaction vessels)
- 7.6.11 Elecsys 2010 Assay Tip (pipette tip)
- 7.6.12 Hitachi cup สำหรับใส่ตัวอย่าง กรณีไม่สามารถใช้ Primary tube
- 7.6.13 Rack มี 5 ชนิด ได้แก่ Rack สีดำ สำหรับวาง calibrator, Rack สีขาว สำหรับวาง control, Rack สีเทา สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Routine, Rack สีแดง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น STAT และ Rack สีเขียว ใช้เพื่อบำรุงรักษาเครื่อง

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

- 8.1 ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น
- 8.2 ใช้ความระมัดระวังการปฏิบัติงานตามหลักสากล
- 8.3 ต้องสวมถุงมืออย่างขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่อาจปนเปื้อนในตัวอย่างตรวจ เช่น HIV, HBsAg เป็นต้น
- 8.4 ต้องสวมเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการหกเลอะเทอะของตัวอย่างตรวจและน้ำยาตรวจวิเคราะห์

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

- 9.1 ข้อกำหนดในการสอบเทียบ
 - 9.1.1 ทำการสอบเทียบน้ำยา Elecsys Troponin T STAT ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas e 601 เมื่อเปิดใช้งานน้ำยา Elecsys Troponin T STAT ครั้งแรก หรือน้ำยาเปลี่ยนรุ่นการผลิต(Lot) ใหม่ และทำการสอบเทียบซ้ำอีกครั้ง(Renewed-calibration) เมื่อ
 - ครบระยะเวลา 1 เดือน (28 วัน) เมื่อใช้น้ำยา lot. เดียวกัน
 - ครบระยะเวลา 7 วัน (เมื่อใช้น้ำยาขวดเดียวกันบนเครื่อง)
 เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 10 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- ตามความต้องการ เช่น มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไขปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่(re-calibration)

9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบต้องไม่หมดอายุ ประกอบด้วย

- 1) TNT-HSST Cal 1 (white cap), 2 bottles of 1 mL
- 2) TNT-HSST Cal 2 (black cap), 2 bottles of 1 mL

9.2 วิธีการสอบเทียบ

9.2.1 สารมาตรฐาน ใช้ Elecsys Troponin T CalSet ที่ยังไม่หมดอายุและทำการ scan barcode แล้วออกมาจากตู้เย็น ก่อนใช้ให้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 20 - 28 องศาเซลเซียส) ไม่น้อยกว่า 15 นาที กลับขวดไปมาเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างของสารมาตรฐานเป็นเนื้อเดียวกัน

9.2.2 calibrate น้ยา Troponin T STAT โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ calibration” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมเครื่องมือ น้ยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์

10.1.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์

10.1.1.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำ Daily begin เวลา 05.00 น.

10.1.1.2 ลงชื่อเข้า(Operator ID) และรหัสผ่าน>Password) เพื่อเข้าใช้งานระบบ (logon)เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas 6000

10.1.1.3 ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ยา Auxiliary ได้แก่ ProCell M, CleanCell M และ PleClean M ซึ่งทำได้ทั้งในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby และ Operation ถ้าน้ยาในขวดที่ใช้งานอยู่หมด จะมีไฟกระพริบเหนือขวด ให้ใส่น้ยาขวดใหม่เข้าไปแทน แล้วกดปุ่มไฟที่กระพริบอยู่เหนือขวดน้ยาที่เปลี่ยนเพื่อ update ข้อมูลปริมาณน้ยาในเครื่อง สำหรับน้ยา PleClean M ขวดใหม่ที่ใส่เข้าไปแทนขวดทั้งหมด ให้คลายเกลียวฝาน้ยาเล็กน้อย


10.1.1.4 ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ยา Probe Wash M ทำได้ในขณะเครื่องอยู่ในสถานะ Standby เท่านั้น

10.1.1.5 เติม combi Rack (Assay Tip และ Assay Cup และทิ้งส่วนที่หมดแล้ว ซึ่งทำได้ทั้งในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby และ Operation ตอนไฟแสดงสถานะที่อยู่ด้านบนเป็นไฟติดนิ่งเท่านั้น

10.1.1.6 เปลี่ยน Solid waste containe ซึ่งทำได้ทั้งในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby และ Operation ตอนไฟแสดงสถานะที่อยู่ด้านบนเป็นไฟติดนิ่งเท่านั้น

10.1.2 วิธีการเตรียมน้ยาวิเคราะห์ (reagent preparation)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 11 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 10.1.2.1 นำ Troponin T hs STAT reagent rackpack ออกจากตู้เย็น ตั้งทิ้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง เปิดฝาน้ำยาและตรวจสอบว่าไม่มีฟองอากาศในน้ำยาทั้งสามขวด แล้วจึงปิดฝาโดยไม่ต้องกดให้แน่น
- 10.1.2.2 เชียนวันเปิดใช้บน Troponin T hs STAT reagent rackpack ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB-187)
- 10.1.2.3 เมื่อเครื่องอยู่ในสถานะ Stand by ให้เปิดฝา Reagent disk ออก แล้ววาง Troponin T hs STAT reagent rackpack ลงใน reagent disk โดยหันขวดสีขาวอยู่ชิดขอบนอก
- 10.1.2.4 เมื่อเติมน้ำยาครบแล้วให้ปิดฝา Reagent disk เครื่องจะ Register น้ำยาโดยอัตโนมัติ ระหว่างที่เครื่อง register น้ำยายังไม่เสร็จ ห้ามเปิดฝา Reagent disk หรือดึง magazine drawer ออกมาโดยเด็ดขาด

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- 10.1.3.1 สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- 10.1.3.2 สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวนการทดสอบ
- 10.1.3.3 เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจ Serum/Plasma แล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองอากาศหรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และส่วนที่เป็น Serum/Plasma ควรมีปริมาตรอย่างน้อย 500 μ L

10.2 ถ้ายังไม่มี การสอบเทียบน้ำยา Troponin T hs STAT Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.

10.3 ถ้ายังไม่มี การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น ให้ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 11.

10.4 นำตัวอย่างผู้ป่วยเข้าเครื่อง cobas e 601 ผ่าน core unit ของเครื่อง cobas 6000 analyzer series โดยสามารถใช้ Primary tube ขนาด 13x75 mm. ที่มีตัวอย่างไม่น้อยกว่า 500 ไมโครลิตร (sample dead volume 500 μ L) วางบน Rack สีเทา(กรณีไม่เร่งด่วน)หรือ Rack สีแดง(กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 μ L) ใส่ใน Sample cup (Hitachi cup) วางบน Rack

10.5 สั่งทำการตรวจวิเคราะห์และเรียกดูผลตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065) โดยเครื่อง cobas e 601 จะทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบอัตโนมัติ ตาม test-specific parameters ที่กำหนดไว้ใน reagent barcode


10.6 รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ (อยู่ในช่วง 3-10,000 ng/L or pg/mL)

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

ให้อ้างอิงรายละเอียดจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างเชื่อมั่นในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 12 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

11.1.1 Internal Quality Control ที่ใช้ PreciControl Troponin ประกอบด้วย Control Levels 1 และ Control Levels 2 ค่าความเข้มข้นที่แน่นอนของน้ำยาแต่ละรุ่นการผลิต (lot-specific) ผลการควบคุมคุณภาพต้องอยู่ในช่วงที่กำหนด ผลการทดสอบของผู้ป่วยจึงจะเชื่อถือได้

11.1.2 การเตรียมตัวอย่าง Internal quality control

11.1.2.1 สารควบคุมคุณภาพ PreciControl Troponin มีลักษณะเป็น lyophilized ก่อนการเตรียมตัวอย่างให้นำ PC TN1 และ PC TN2 ออกมาจากตู้เย็น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 20-28 องศาเซลเซียส) ไม่น้อยกว่า 15 นาที

11.1.2.2 ใช้ Volumetric pipette ขนาด 2 มิลลิลิตร ดูดน้ำกลั่นจำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วใช้กระดาษชำระเช็ดน้ำกลั่นที่เกาะติดปลายด้านนอกของ Volumetric pipette แล้วค่อย ๆ เปิดจุกของขวด Control ระวังผงแห้งของตัวอย่าง Control หก แล้วปล่อยน้ำกลั่นลงข้างขวดของ Control จนครบ 3 มิลลิลิตร ปิดฝาจุกของ control ตั้งทิ้งไว้หนึ่ง ๆ ประมาณ 50 นาที

11.1.2.3 เมื่อครบเวลาให้กลับขวดไปมาเบา ๆ 20 ครั้งเพื่อให้ตัวอย่างของ Control เป็นเนื้อเดียวกัน สังเกตดูว่าผงของ Control ละลายหมด

11.1.2.4 ให้ดูดตัวอย่างดังกล่าวประมาณ 0.4 มิลลิลิตรใส่ Hitachi cup ที่ติดฉลากหรือเขียนที่ข้าง Hitachi cup เพื่อซั้งแล้วนำไปเก็บไว้ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น

11.1.2.5 เมื่อวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยให้นำสิ่งส่งตรวจดังกล่าวมาวิเคราะห์ก่อนหรือระหว่างการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยทุกวันที่มีการวิเคราะห์

11.1.2.6 ควรทำการควบคุมคุณภาพอย่างน้อยทุก ๆ 24 ชั่วโมง เมื่อมีการใช้น้ำยา

11.2 วิธีการควบคุมคุณภาพ

11.2.1 ให้นำ PreciControl Troponin ประกอบด้วย PC TN1 (Levels 1) และ PC TN2 (Levels 2) ออกมาจากตู้แช่แข็งตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 20 - 28 องศาเซลเซียส) ไม่น้อยกว่า 40 นาที กลับขวดไปมาเบา ๆ เพื่อให้ตัวอย่างของสารควบคุมคุณภาพเป็นเนื้อเดียวกันก่อนการนำเข้าเครื่อง

11.2.2 สั่งให้เครื่องทำ control โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ Control” ในคู่มือปฏิบัติงาน Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)


11.2.3 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ Troponin T hs ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ (control rule) จึงกำหนดระดับและกฎเกณฑ์ของการติดตามเพื่อควบคุมคุณภาพการทดสอบ Troponin T hs ดังต่อไปนี้

11.2.3.1 ระดับจับตามอง(warning Limit) : โดยใช้กฎ $\pm 2SD$

11.2.3.2 ระดับที่ต้องปฏิบัติการแก้ไข(Action Limit) : โดยใช้กฎ $\pm 3SD$, 22S

11.2.3.3 Shift and Trend :-

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 13 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- Shift หมายถึง การที่ผล QC ตกอยู่เหนือหรือใต้ mean 6 ค่าติดต่อกัน แม้ว่าค่าจะยังคงอยู่ภายใน $\pm 1SD$ หรือ $\pm 2SD$ อาจเกิดจากเปลี่ยนชุดตรวจ Lot ใหม่ที่แตกต่างจากเดิม มีการปรับแก้เครื่องมือ หรือเปลี่ยน calibrator เป็นต้น
- Trend หมายถึง ความผิดปกติมีลักษณะค่อยเป็นค่อยไป พบค่า QC ค่อยๆ ลดลงหรือเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 6 ค่า ติดต่อกัน ซึ่งอาจเกิดจากการเสื่อมของเครื่องมือหรือชุดตรวจ เป็นต้น

11.2.3.4 การติดตามความเปลี่ยนแปลงโดยคำนวณข้อมูลสะสม : ได้แก่

- ค่า Mean ของข้อมูลสะสมมีการเปลี่ยนแปลง อาจสูงขึ้นหรือต่ำกว่าเดิม ซึ่งกระทบต่อ Accuracy อาจเกิดจาก การปรับแต่งเครื่องมือ เปลี่ยน Lot ชุดตรวจหรือ calibrator หรือ Kit control
- SD, CV ของข้อมูลสะสมเปลี่ยนแปลง อาจกว้างขึ้นหรือแคบลงกว่าเดิม บ่งชี้ว่า ความแม่นยำ ของระบบวิเคราะห์เปลี่ยนไปจากเดิม อาจเกิดจาก เครื่องมือเสื่อม เปลี่ยนบุคลากรใหม่ เครื่องมือหรือชุดตรวจไม่เหมือนเดิม


11.2.4 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Troponin T hs มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งงดผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่นำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025)

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดและเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ ดังนี้

- 12.1 ให้ห้องปฏิบัติการสมัครเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ โปรแกรมประเมินคุณภาพวิเคราะห์สารบ่งชี้โรคหัวใจไดโนองค์รภายนอก (EQA : CM) เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ Troponin T hs ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย หจก. อีคิวเอ เซ็นเตอร์ ความถี่ในการประเมิน 6 รอบ/ปี จำนวนตัวอย่าง 2 ตัวอย่างต่อรอบ
- 12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า Troponin T hs โดยการตรวจพร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวัน ไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้ในแบบรายงานผล
- 12.3 บันทึกส่งรายงานผลทาง Email : eqareport@gmail.com
- 12.4 เมื่อโปรแกรมการทดสอบความชำนาญการตรวจ Troponin T hs ประเมินผลเสร็จแล้ว จะรายงานผลกลับมาที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ทบทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

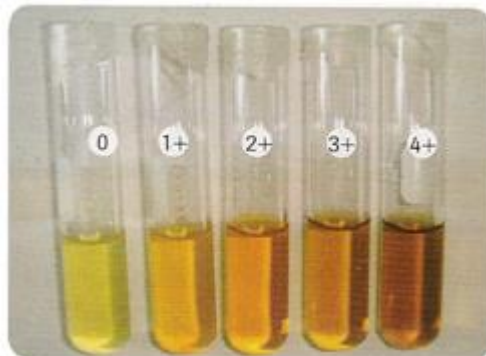
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 14 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

12.5 ผู้จัดการวิชาการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลประเมินการทดสอบความชำนาญการตรวจ Troponin T hs ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกันในรูปแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

13.1 Serum/Plasma ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ Troponin T hs (อยู่ใน +/-20% recovery)

ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา	ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	bilirubin < 25 mg/dL	4+
Hemolysis	hemoglobin < 0.1 g/dL	1+
Lipemic (Intralipid)	Intralipid < 1500 mg/dL	4+
biotin	biotin < 20 ng/mL	



ซีรัมเหลือง (Icteric serum)

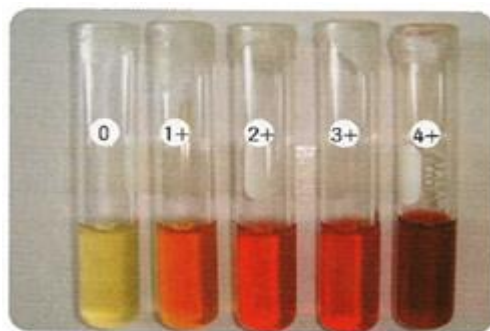
Bilirubin concentration

1+ = 2.5 mg/L = 0.25 mg/dL

2+ = 5.0 mg/L = 0.50 mg/dL

3+ = 10.0 mg/L = 1.00 mg/dL

4+ = 20.0 mg/L = 2.00 mg/dL



ซีรัมที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolysed serum)

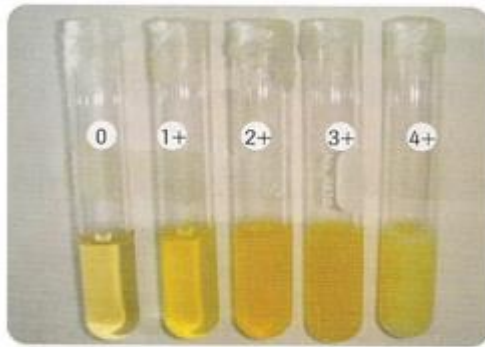
Hemoglobin concentration

1+ = 0.9 g/L = 90 mg/dL

2+ = 1.8 g/L = 180 mg/dL

3+ = 3.5 g/L = 350 mg/dL

4+ = 6.7 g/L = 670 mg/dL

ซีรัมขุ่นมีไขมัน (Turbid serum)

Absorbance 660 นาโนเมตร


1+ = 0.4

2+ = 0.8

3+ = 1.0

4+ = 1.2

- 13.2 คนไข้ที่ได้รับการรักษาโดยรับ biotin ในขนาดสูง (> 5 mg/day) จะสามารถเจาะเลือดตรวจได้ หลังจากได้รับยาครั้งสุดท้าย ไม่น้อยกว่า 8 ชั่วโมง
- 13.3 rheumatoid factor ไม่เกิน 1500 IU/mL ไม่รบกวนการทดสอบ
- 13.4 ไม่เกิด high dose hook effect เมื่อ Troponin T น้อยกว่า 100000 ng/L (pg/mL)
- 14 หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอนของการวัด (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)
- 14.1 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์คำนวณตามเอกสารที่แนบมากับชุดน้ำยา โดยการคำนวณดังกล่าว เกิดขึ้นจากคอมพิวเตอร์ซอฟต์แวร์ในเครื่องตรวจอัตโนมัติ cobas e 601
- 14.2 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด -
- 15 ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก (biological reference intervals or clinical decision values)
- ตามข้อกำหนดเดิมของ WHO ในการบ่งชี้ภาวะ AMI จะใช้ cut-off ที่ Troponin T เท่ากับ 0.1 ug/L (ng/mL) หรือก็คือ 100 ng/L (pg/mL) และค่าจำกัดความของ AMI จากข้อกำหนดของ WHO ได้ระบุไว้ให้พิจารณาตามแนวเวชปฏิบัติสากล ESC/ACCF/AHA/WHF ซึ่งแนะนำการวินิจฉัยภาวะ AMI โดยการดู rise and/or fall ของ cardiac troponin โดยพิจารณา cutoff value ณ 99th percentile
- 16 ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)
- ขอบเขตของการตรวจวิเคราะห์ อยู่ในช่วง 3 - 10,000 ng/L or pg/mL
- 17 คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด (instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)
- Dilution ควรทำการเจือจางเมื่อสิ่งส่งตรวจมี Troponin T สูงกว่า 10,000 ng/L (pg/mL) โดยทำการเจือจางด้วย Diluent Universal 1 : 10

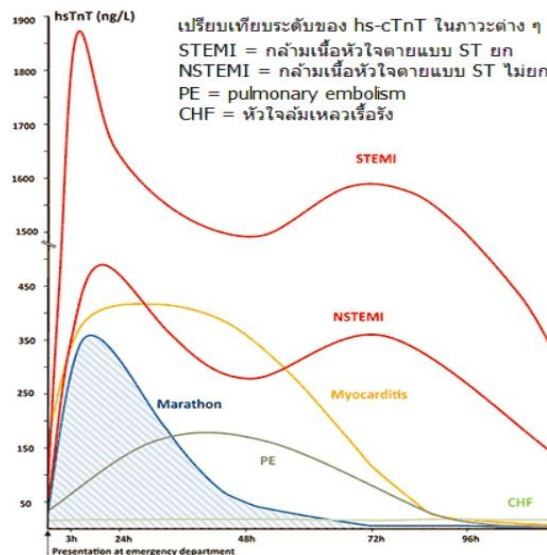
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 16 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

18 ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือนที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

Troponin T hs > 40 ng/L

19 การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

Cardiac Troponin T (cTnT) พบในกล้ามเนื้อหัวใจ เมื่อหัวใจได้รับบาดเจ็บระดับของ Cardiac Troponin T จะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 3-12 ชั่วโมง และกลับสู่ปกติได้ภายใน 7-14 วัน การเพิ่มขึ้นของระดับ Cardiac Troponin T สามารถพบได้ในผู้ป่วยโรคไตวายฉับพลันและเรื้อรัง (chronic kidney disease, CKD) ที่ไม่มีอาการของกลุ่มโรคหลอดเลือดหัวใจและกล้ามเนื้อหัวใจ ซึ่งในปัจจุบันมีแนวโน้มที่จะพบผู้ป่วยที่เป็นกลุ่มเสี่ยงของภาวะหลอดเลือดหัวใจกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดร่วมกับภาวะไตวายเรื้อรังมากขึ้น การตรวจวิเคราะห์ระดับของ Cardiac Troponin T เพียงอย่างเดียวจึงอาจไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัยภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันได้




20 แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)

- 20.1.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- 20.1.2 เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน A-HCV II cassette อันใหม่
- 20.1.3 มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ
- 20.1.4 เก็บรักษา A-HCV II cassette โดยไม่ตั้งให้ตรงอาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด (การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง (freeze-thaw) ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก (ควรใช้ Purified Water Diluents หรือเอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 17 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator

- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นาน หรือนำ Calibrator ที่เหลือซึ่งผ่านการใช้แล้วมาใช้สอบเทียบซ้ำอีก
- เปลี่ยน lot ใหม่
- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม


20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration (การทำ Re-calibration ไม่ควรเกิน 28 วัน สำหรับน้ำยา A-HCV II Lot เดิม และ ไม่เกิน 7 วัน สำหรับน้ำยาที่ใช้งานอยู่กล่องเดิม)
- Measurement syringe รั่ว/เสื่อม
- หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ หรือเปลี่ยนอะไหล่ใหม่ เช่น source Lamp, reagent probe, sample probe แล้วไม่ได้ calibration ใหม่
- ทำ maintenance check หรือทำ preventive maintenance เลยวงรอบหรือไม่ทำตามเงื่อนไข คำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด

20.4 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (Sample)

- ตัวอย่างมีการ clot ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องวิเคราะห์
- ตัวอย่างมีการระเหยเนื่องจากตั้งทิ้งไว้นานเกินไปก่อนถูก sample probe ดูดไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ Hitachi cup/Hitachi micro cup
- Icterus : Bilirubin 25 mg/dL
- Hemolysis : Hemoglobin 100 mg/dL (ไม่แนะนำ ำให้ตรวจสิ่งส่งตรวจที่มี hemolysis ที่มองเห็น ได้ ด้วยตาเปล่า)
- Lipemia : Intralipid 1500 mg/dL
- Biotin: 50 ng/mL
- Rheumatoid factors: 2000 U/mL
- ห้ามใช้ oxalate/fluoride ใส่ในสิ่งส่งตรวจ เนื่องจากจะทำให้ค่าที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง
- ผลการตรวจอาจถูกรบกวนในผู้ที่ได้รับการรักษาด้วย monoclonal mouse antibodies เนื่องจากการทดสอบมีส่วนประกอบของ monoclonal mouse antibodies

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Troponin T hs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-080	หน้า 18 จาก 18
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- ผลการตรวจอาจถูกรบกวนจากผู้ที่มี antibodies ต่อ ruthenium และ streptavidin ที่สูงมากๆ (แต่พบกรณีนี้ได้น้อย)

21 เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา Anti-HCV (PI-LAB-065)
- 21.2 คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)
- 21.3 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.4 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22 ภาคผนวก

- 22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกน้ำยา Troponin T hs STAT (PI-LAB-065)
- 22.2 คู่มือการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก มหาวิทยาลัยมหิดล



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร..... WI-LAB-080 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Troponin T hs

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
1 พ.ย.63	0	ฉบับแรก	ร.ต. ศาสตร์ศิลป์
1 ต.ค. 64	1	เปลี่ยนสารควบคุมคุณภาพจาก Liquichek Cardiac Markers Plus Control (BIO-RAD) เป็น PreciControl Troponin PC TN1 และ PC TN2	ร.ต. ศาสตร์ศิลป์
1 ก.พ. 66	2	เพิ่มเติมแหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation) - Icterus : Bilirubin 25 mg/dL - Hemolysis : Hemoglobin 100 mg/dL (ไม่แนะนำ ำให้ตรวจสิ่งส่งตรวจที่มี hemolysis ที่มองเห็นได้ ด้วยตาเปล่า) - Lipemia : Intralipid 1500 mg/dL - Biotin: 50 ng/mL - Rheumatoid factors: 2000 U/mL - ห้ามใช้ oxalate/fluoride ในสิ่งส่งตรวจ เนื่องจากจะทำให้ค่าที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง - ผลการตรวจอาจถูกรบกวนในผู้ที่ได้รับการรักษาด้วย monoclonal mouse antibodies เนื่องจากการทดสอบมีส่วนประกอบของ monoclonal mouse antibodies - ผลการตรวจอาจถูกรบกวนจากผู้ที่มี antibodies ต่อ ruthenium และ streptavidin ที่สูงมากๆ (แต่พบกรณีนี้ได้น้อย)	ร.ต. ศาสตร์ศิลป์

