

## วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสาร .....การตรวจ..Malaria..ด้วย..RDT..(Abbott..Bioline™).....

รหัสเอกสาร .....WI-LAB-H015.....

|                                                                                                                                                                                                                                          |                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <p>ผู้จัดทำ..........</p> <p style="text-align: center;">(.....นายฤชเวท.....แซ่ท้าว.....)</p> <p>ตำแหน่ง .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....</p>      | <p>วันที่จัดทำ.....5..มกราคม..2569.....</p>    |
| <p>ผู้ทบทวน..........</p> <p style="text-align: center;">(.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....)</p> <p>ตำแหน่ง .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....</p>     | <p>วันที่ทบทวน.....5..มกราคม..2569.....</p>    |
| <p>ผู้อนุมัติ..........</p> <p style="text-align: center;">(.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....)</p> <p>ตำแหน่ง .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....</p> | <p>วันที่อนุมัติ.....6..มกราคม..2569.....</p>  |
| <p>สำเนาฉบับที่.....01.....</p>                                                                                                                                                                                                          | <p>ผู้ถือครอง.....เทคนิคการแพทย์.....</p>      |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....00.....</p>                                                                                                                                                                                                         | <p>วันที่เริ่มใช้.....2..ตุลาคม..2558.....</p> |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....01.....</p>                                                                                                                                                                                                         | <p>วันที่เริ่มใช้.....2..มกราคม..2566.....</p> |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....02.....</p>                                                                                                                                                                                                         | <p>วันที่เริ่มใช้.....6..มกราคม..2569.....</p> |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....</p>                                                                                                                                                                                                                | <p>วันที่เริ่มใช้.....</p>                     |
| <p>แก้ไขครั้งที่.....</p>                                                                                                                                                                                                                | <p>วันที่เริ่มใช้.....</p>                     |

|                                                                                                   |                                                          |                                                           |                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
|                  | วิธีปฏิบัติงาน:<br><b>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)</b> | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 2 ของ 9       |
|                                                                                                   | เรื่อง : การตรวจ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™)      | เอกสารเลขที่ : <b>WI-LAB-H015</b>                         | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| ผู้จัดทำ : นายกฤษเวท แซ่ท้าว ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ วันที่ 5 มกราคม 2569                       |                                                          |                                                           |                    |
| ผู้รับรอง : นางสาวจิราพร ใจชื่น ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ วันที่ 5 มกราคม 2569                    |                                                          |                                                           |                    |
| ผู้อนุมัติ : นางสาวจิราพร ใจชื่น ตำแหน่ง หัวหน้างานเทคนิคการแพทย์ วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569 |                                                          |                                                           |                    |

#### รายการทบทวนและแก้ไข

| แก้ไขครั้งที่ | วันที่        | รายละเอียดการแก้ไข |
|---------------|---------------|--------------------|
| 00            | 1 ตุลาคม 2558 | - เริ่มจัดทำ       |
| 00            | 2 ตุลาคม 2558 | - ประกาศใช้        |
| 01            | 1 มกราคม 2566 | - ทบทวนเอกสาร      |
| 01            | 2 มกราคม 2566 | - ประกาศใช้        |
| 02            | 5 มกราคม 2569 | - ทบทวนเอกสาร      |
| 02            | 6 มกราคม 2569 | - ประกาศใช้        |
|               |               |                    |
|               |               |                    |
|               |               |                    |
|               |               |                    |

|                                                                  |                                                           |                    |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)                | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 3 ของ 9       |
| เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™) | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                                  |                                                           |                    |

## 1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™) ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

## 2.การนำไปใช้ (Application)

2.1 เพื่อใช้ในการตรวจคัดกรองวินิจฉัยเชื้อ Malaria

2.2 เพื่อช่วยในการตรวจคัดกรองวินิจฉัยเชื้อ Malaria ในพื้นที่ห่างไกลที่ไม่สามารถเอกซเรย์  
จุลทรรศน์และสีย้อม Malaria ไปตรวจได้

## 3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

3.1 เอกสารใบแนบชุดตรวจ Malaria โดยบริษัท Abbott Diagnostic Korea Inc.

3.2 ดารินทร์ อารีโยชัย, ประยุทธ สุดาพิทย์, ธรณิการ์ ทองอาด, อังคณา แซ่เจ็ง, รุ่งระวี  
ทิพย์มนตรี, รุ่งนิรันดร์ สุขอร่าม, ศิริพร ยงค์ชัยตระกูล, เจิดสุตา กาญจนสุวรรณ, สุรวดี กิจการ, ประภารัตน์  
พรหมเอี้ยง , อดุลย์ ฉายพงษ์ และอิสรา ศรีสะอาด. แนวทางเวชปฏิบัติการรักษาผู้ป่วยโรคไข้มาลาเรีย. สืบค้น  
16 ตุลาคม 2567. จาก

[https://malaria.ddc.moph.go.th/downloadfiles/Malaria\\_Manual/\[Guideline\]\\_Malaria\\_Treatment\\_2564\\_NTG.pdf](https://malaria.ddc.moph.go.th/downloadfiles/Malaria_Manual/[Guideline]_Malaria_Treatment_2564_NTG.pdf)

## 4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

โรคไข้มาลาเรียเป็นโรคติดเชื้อโปรโตซัวในกลุ่มพลาสโมเดียม (*Plasmodium* spp.) มี  
ยุงก้นปล่องเป็นพาหะนำโรค ผู้ป่วยจะมีไข้สูง หนาวสั่น ชีตลง เนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตก ถ้าเป็นชนิด  
รุนแรงอาจมีอาการไตวาย ตับอักเสบ ปอดผิดปกติ และอาจมีความผิดปกติทางสมองที่เรียกว่ามาลาเรียขึ้น  
สมอง

ปัจจุบันในประเทศไทยเชื้อที่พบส่วนใหญ่คือ *Plasmodium vivax* ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่แสดง  
อาการรุนแรง แต่สามารถเป็นๆ หายๆ จากเชื้อที่มีระยะหลบพักในตัว โดยเชื้อมาลาเรียที่ก่อโรคในคนมี 5  
ชนิด ได้แก่

1. *Plasmodium falciparum* เชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียมฟัลซิพารัม หรือ พีเอฟ (P.f.) เป็น  
เชื้อชนิดรุนแรง หากป่วยหนัก อาจมีอาการมาลาเรียขึ้นสมอง ถ้ารักษาไม่ทันอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้

2. *Plasmodium vivax* เชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียมไวแวกซ์ หรือ พีวี (P.v.) เป็นเชื้อชนิดไม่

|                                                                  |                                                           |                    |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)                | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 4 ของ 9       |
| เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™) | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                                  |                                                           |                    |

รุนแรง แต่ถ้าไม่ได้รับการรักษาให้หายขาด เชื้อสามารถอยู่ในร่างกายคนได้นานหลายปี จึงทำให้มีอาการของโรคไข้มาลาเรียเป็นๆ หายๆ

3. *Plasmodium malariae* เชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียมมาลาเรีย หรือ พีเอ็ม (P.m.)
4. *Plasmodium ovale* เชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียมโอวาเล หรือ พีโอ (P.o.)
5. *Plasmodium knowlesi* เชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียมโนโซ หรือ พีเค (P.k.) เป็นเชื้อมาลาเรียที่อยู่ในลิงแสม แล้วติดมาสู่คน

Rapid diagnostic test ค่าย่อ RDT

## 5.หลักการ (Principle)

สตริปเมมเบรนบรรจุด้วยชุดทดสอบ Malaria Ag P.f/Pan จะเคลือบด้วย mouse monoclonal antibody จำเพาะกับ HRP2 ของเชื้อ *P.falciparum* บนเส้นทดสอบบริเวณ P.f และ mouse monoclonal antibody จำเพาะกับ lactate dehydrogenase ของ *Plasmodium* species Pan (*P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* และ *P.ovale*) บนเส้นทดสอบบริเวณ Pan ส่วนผสมของ mouse monoclonal antibody จำเพาะกับ HRP2 ของ P.f และ mouse monoclonal antibody จำเพาะกับ pLDH ของ Pan ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจถ้ามีเชื้อ malaria Ag จะเกิดปฏิกิริยากับ colloid gold conjugate จะเคลื่อนที่ตามเมมเบรนโครมาโตกราฟี บนบริเวณทดสอบ (P.f และ Pan) และเกิดเป็นเส้นที่มองเห็นได้ของ antibody-antigen-antibody gold particle complex กับระดับของความจำเพาะและความไวสูง

## 6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

- 6.1 QP-LAB-001
- 6.2 QP-LAB-002
- 6.3 SD-LAB-21

## 7.ความปลอดภัย (Safety)

- 7.1 ปฏิบัติงานโดยนักเทคนิคการแพทย์
- 7.2 สวมถุงมือ เสื้อกาวน์ (gown) แว่นตา และหน้ากากอนามัย ป้องกันการปนเปื้อนขณะปฏิบัติงาน

|                                                                         |                                                                      |                           |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <p>วิธีปฏิบัติงาน:</p> <p>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)</p>            | <p>ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p> <p>โรงพยาบาลวังเจ้า</p> | <p>หน้า 5 ของ 9</p>       |
| <p>เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™)</p> | <p>เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015</p>                                    | <p>แก้ไขครั้งที่ : 02</p> |
| <p>วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569</p>                                  |                                                                      |                           |

7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งลงในถังขยะติดเชื้อ

7.4 ชุดตรวจ Malaria ที่ผ่านการใช้งานในการตรวจวิเคราะห์แล้ว อาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ

7.5 ชุดทดสอบตรวจ Malaria ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ Malaria เท่านั้น

## 8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

8.1 ชุดทดสอบ Malaria โดย Abbott Bioline™

8.2 Assay diluent buffer

8.3 นาฬิกาจับเวลา

8.4 อุปกรณ์เจาะเลือด

## 9.สารมาตรฐาน (Standard)

-

## 10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

### 10.1 กรณีเจาะเลือดเจาะปลายนิ้ว

10.1.1 ตรวจสอบวันหมดอายุ



10.1.2 สวมใส่ถุงมือ ฉีกซองชุดทดสอบออกมาวางไว้บริเวณสะอาด



|                                                                         |                                                                      |                           |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <p>วิธีปฏิบัติงาน:</p> <p>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)</p>            | <p>ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p> <p>โรงพยาบาลวังเจ้า</p> | <p>หน้า 6 ของ 9</p>       |
| <p>เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™)</p> | <p>เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015</p>                                    | <p>แก้ไขครั้งที่ : 02</p> |
| <p>วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569</p>                                  |                                                                      |                           |

### 10.1.3 เขียนชื่อ-นามสกุล ผู้ป่วยติดกับชุดทดสอบ



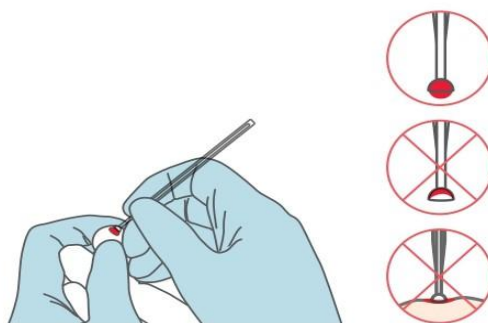
### 10.1.4 เช็ดแอลกอฮอล์ที่ปลายนิ้วที่จะเจาะปล่อยให้แห้ง



### 10.1.5 ใช้ Lancet เจาะที่ปลายนิ้ว

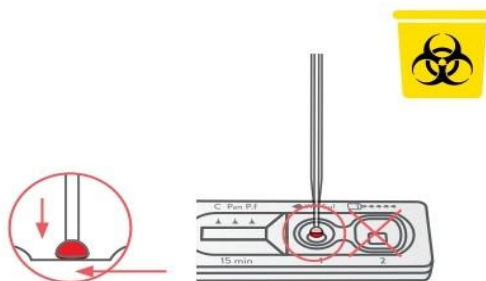


### 10.1.6 ใช้ Capillary pipette 5 µl แต่ละบริเวณปลายนิ้วที่เจาะ

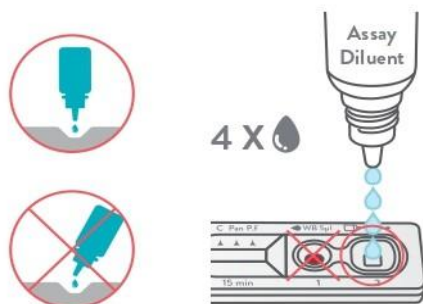


### 10.1.7 ใส่เลือดลงในหลุม specimen well

|                                                                         |                                                                      |                           |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <p>วิธีปฏิบัติงาน:</p> <p>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)</p>            | <p>ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p> <p>โรงพยาบาลวังเจ้า</p> | <p>หน้า 7 ของ 9</p>       |
| <p>เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™)</p> | <p>เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015</p>                                    | <p>แก้ไขครั้งที่ : 02</p> |
| <p>วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569</p>                                  |                                                                      |                           |



10.1.8 ใส่ Assay diluent buffer จำนวน 4 หยด ลงใน diluent well



10.1.9 จับเวลา 15 นาที แล้วอ่านผลการทดสอบห้ามอ่านผลหลังจาก 30 นาที เพราะให้ผลที่ผิดพลาด

## 10.2 กรณีใช้ตัวอย่างเลือดจาก EDTA blood, heparin และ sodium citrate

10.2.1 ตรวจสอบวันหมดอายุ

10.2.2 สวมใส่ถุงมือ ฉีกซองชุดทดสอบออกมาวางไว้บริเวณสะอาด

10.2.3 เขียนชื่อ-นามสกุล ผู้ป่วยติดกับชุดทดสอบ

10.2.4 ใช้ Capillary pipette 5 µl แตะลงไปบนหลอดเลือดหรือใช้ auto pipette ดูดตัวอย่างเลือด 5 µl แล้วใส่ลงในหลุม specimen well

10.2.5 ใส่ Assay diluent buffer จำนวน 4 หยด ลงใน diluent well

10.2.6 จับเวลา 15 นาที แล้วอ่านผลการทดสอบ ห้ามอ่านผลหลังจาก 30 นาที เพราะให้ผลที่ผิดพลาด

|                                                                  |                                                           |                    |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)                | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 8 ของ 9       |
| เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™) | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                                  |                                                           |                    |

## 11.การคำนวณ (Calculation)

-

## 12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

### การควบคุมคุณภาพภายใน

- การควบคุมคุณภาพภายในของชุดทดสอบนี้ คือ การมีแถบสีม่วงแดงขึ้นตรงตำแหน่งแถบควบคุม (C) ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างตรวจได้มีการเคลื่อนที่อย่างสมบูรณ์ และเชื่อถือผลการทดสอบนี้ได้

- ตรวจสอบวันหมดอายุของชุดทดสอบ
- สอบเทียบนาฬิกาจับเวลา (Timer) อย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง
- ใช้ตัวอย่างเลือดที่พบเชื้อมาลาเรียบวกด้วย Thick&Thin film ทดสอบ
- ใช้ตัวอย่างเลือดที่ไม่พบเชื้อมาลาเรียลบด้วย Thick&Thin film ทดสอบ

### การควบคุมคุณภาพภายนอก

-

## 13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกลง Work sheet และลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

## 14. การรายงานผล (Report of analysis)

| LINE    | POSITIVE |                                   |                                                                  | NEGATIVE | INVALID |  |  |  |
|---------|----------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------|---------|--|--|--|
| Control |          |                                   |                                                                  |          |         |  |  |  |
| Pan     |          |                                   |                                                                  |          |         |  |  |  |
| P.f     |          |                                   |                                                                  |          |         |  |  |  |
|         | P.f      | Non-falciparum<br>(P.v, P.o, P.m) | P.f positive or mixed infection<br>of P.f and P.v or P.m or P.o. |          |         |  |  |  |

|                                                                  |                                                           |                    |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| วิธีปฏิบัติงาน:<br>วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)                | ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์<br>โรงพยาบาลวังเจ้า | หน้า 9 ของ 9       |
| เรื่อง : การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Malaria ด้วย RDT (Abbott Bioline™) | เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H015                                | แก้ไขครั้งที่ : 02 |
| วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569                                  |                                                           |                    |

Negative : ไม่พบเชื้อมาลาเรีย  
Positive P.f : พบเชื้อมาลาเรีย P.f  
Positive Pan : พบเชื้อมาลาเรีย Pan (P.v, P.m และ P.o)  
Positive P.f และ Pan : พบเชื้อมาลาเรีย P.f และ Pan (P.v, P.m และ P.o)  
Invalid : ไม่สามารถแปลผลได้

## 15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ Finger blood, EDTA blood, heparin blood และ sodium citrate blood

15.2 การรักษาคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ นำส่งตรวจภายใน 2 ชั่วโมง หลังจากเจาะเลือด หากไม่สามารถตรวจได้ทันทีให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C เก็บได้นาน 3 วัน ไม่ควรใช้ตัวอย่างเลือดที่เก็บนานเกิน 3 วันมาทดสอบเพราะว่าไม่จำเพาะต่อปฏิกิริยา

15.3 ผู้ป่วยที่ให้ผล RDT Positive จะแยกชนิดและนับจำนวนเชื้อ Malaria จะนำไปตรวจด้วย Thin film และ Thick film ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

15.4 ความไวและความจำเพาะ

| Reference method<br>(Microscopic examination) | Bioline™ Malaria Ag P.f/Pan |          |       |
|-----------------------------------------------|-----------------------------|----------|-------|
|                                               | Positive                    | Negative | Total |
| P.f Positive                                  | 367                         | 1        | 368   |
| Non- P.f Positive                             | 106                         | 5        | 111   |
| Negative                                      | 1                           | 199      | 200   |
| Sensitivity (95% CI)                          | 99.7% (98.5-100%)           |          |       |
| Sensitivity (95% CI)                          | 95.5% (89.9-98.1%)          |          |       |
| Specificity (95% CI)                          | 99.5% (97.2-99.9%)          |          |       |