

วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจ..HIV.....

รหัสเอกสารWI-LAB-I001.....

ผู้จัดทำ..... (.....นายเกษม.....แซ่ท้าว.....) ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	วันที่จัดทำ.....5..มกราคม..2569.....
ผู้ทบทวน..... (.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....) ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	วันที่ทบทวน.....5..มกราคม..2569.....
ผู้อนุมัติ..... (.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....) ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	วันที่อนุมัติ.....6..มกราคม..2569.....
สำเนาฉบับที่.....01.....	ผู้ถือครอง.....เทคนิคการแพทย์.....
แก้ไขครั้งที่.....00.....	วันที่เริ่มใช้.....2..ตุลาคม..2558.....
แก้ไขครั้งที่.....01.....	วันที่เริ่มใช้.....2..มกราคม..2566.....
แก้ไขครั้งที่.....02.....	วันที่เริ่มใช้.....6..มกราคม..2569.....
แก้ไขครั้งที่.....	วันที่เริ่มใช้.....
แก้ไขครั้งที่.....	วันที่เริ่มใช้.....

	วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 2 ของ 21
	เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	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: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 3 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

A1 : ชุดตรวจ HIV Determine™

เพื่อตรวจวิเคราะห์หา Free HIV-1 p24 antigen and Total antibody HIV-1/HIV2 ในตัวอย่าง serum, plasma, venous whole blood และ fingerstick whole blood โดยวิธี Immunochromatographic ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

A2 : ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาแอนติบอดีต่อ HIV1/2 ในตัวอย่าง serum, plasma, venous whole blood และ Fingerstick whole blood เป็นการทดสอบแบบรวดเร็วอาศัยหลักการทดสอบแบบ immunochromatographic ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

A3 : ชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาแอนติบอดีต่อ HIV1/2 ตัวอย่าง serum, plasma และ whole blood โดยอาศัยหลักการ immunochromatographic-solid phase colloidal gold ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

- 2.1 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้อ HIV
- 2.2 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองผู้ป่วยที่มาฝากครรภ์
- 2.3 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองผู้ป่วยก่อนผ่าตัด
- 2.4 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองผู้ป่วยรายบุคคล

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

- 3.1 ใบแนบเอกสารชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ Determine™ โดยบริษัท Abbott
- 3.2 ใบแนบเอกสารชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2 โดยบริษัท กวางโจว วอนโฟ ไบโอเทค จำกัด
- 3.3 ใบแนบเอกสารชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold) โดยบริษัท เซียงไฮ้ เคหัว ไบโอ-เอ็นจิเนียริง จำกัด
- 3.4 คู่มือการตรวจหาการติดเชื้อเอชไอวี สำหรับเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดทำสภาเทคนิคการแพทย์
- 3.5 แนวทางการตรวจวินิจฉัย รักษา และป้องกันการติดเชื้อเอชไอวี ประเทศไทย ปี 2563/

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

A1 คือ การทดสอบเบื้องต้น

A2 คือ การทดสอบเสริมวิธีที่ 1

A3 คือ การทดสอบเสริมวิธีที่ 2

HIV คำย่อ human immunodeficiency virus

AIDS คำย่อ Acquired Immunodeficiency Syndrome

5.หลักการ (Principle)

5.1 (A1) การตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ HIV Determine™ เป็นการตรวจพบเอชไอวีระยะแรก โดยอาศัยหลักการ immunochromatographic สำหรับตรวจเชิงคุณภาพของ free HIV-1 p24 antigen และ Total antibody HIV-1/HIV-2 เมื่อใส่ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจลงใน sample pad สิ่งส่งตรวจจะผสมรวมกับ biotinylated anti-p24 antibodies และ selenium colloid-conjugated coated with recombinant HIV-1, HIV-2 และ HIV-1 group O antigen, สารสังเคราะห์ HIV-2 peptide และ anti p24 mouse monoclonal antibody การผสมรวมกันจะไหลต่อเนื่องไปยัง solid phase ที่มีการเคลือบ HIV-1/HIV-2 group O antigen และสารสังเคราะห์ HIV-1/HIV-2 peptide ที่ช่อง antibody (Ab) มีการเคลือบ avidin ที่ช่อง antigen (Ag) **ถ้าในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมี antibodies ต่อ HIV-1 และ/หรือ HIV-2** จะไปจับกับ selenium colloid-conjugated coated with recombinant HIV-1, HIV-2 และ HIV-1 group O antigen และสารสังเคราะห์ HIV-2 peptide และมีการเคลือบ recombinant HIV-1/HIV-1 group O antigen และสารสังเคราะห์ HIV-1/HIV-2 peptide เกิดเป็นเส้นสีแดงที่ช่อง Ab **ถ้าตัวอย่างสิ่งส่งตรวจไม่มี antibodies ต่อ HIV-1 และ/หรือ HIV-2** selenium colloid-conjugated coated with recombinant HIV-1, HIV-2 จะไหลผ่าน ช่อง Ab และไม่เกิดเส้นสีแดงขึ้นที่ช่อง Ab **ถ้าตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมี free HIV-1 p24 antigen** แอนติเจนจะไปจับกับ biotinylated anti-p24 antibodies และ selenium colloid-conjugated coated with anti p24 mouse monoclonal antibody เกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่เคลือบอยู่กับ avidin เกิดเป็นเส้นสีที่ช่อง Ag **ถ้าตัวอย่างสิ่งส่งตรวจไม่มี free HIV-1 p24 antigen** biotinylated anti-p24 antibodies และ selenium colloid-conjugated จะไหลผ่านช่อง Ag และไม่มีเส้นสีแดงเกิดขึ้นที่ช่อง Ag เพื่อให้แน่ใจว่าการทดสอบมีความถูกต้องจะต้องดูที่ช่อง Control จะต้องมีการเกิดเส้นสีแดงขึ้นเสมอ

5.2 (A2) การตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2 เป็นการทดสอบแบบรวดเร็ว อาศัยหลักการทดสอบแบบ immunochromatographic เพื่อใช้ตรวจแอนติบอดีต่อเอชไอวีในตัวอย่างสิ่งส่ง

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

ตรวจที่เป็นเลือด ซีรัมหรือพลาสมาในการตรวจวินิจฉัยเชื้อเอชไอวี ชุดตรวจจะมีลักษณะเป็นตลับ ทดสอบแล้วเสร็จในขั้นตอนเดียวซึ่งการตรวจแอนติบอดีต่อเอชไอวีจะใช้วิธีแบบ double sandwich antigen เมื่อสิ่งส่งตรวจลงในช่องตัวอย่างของตลับทดสอบ สิ่งส่งตรวจจะซึมลงในแผ่นซับ และมีการเคลื่อนที่ผ่านส่วนที่มี antigen dye conjugate ถ้าสิ่งส่งตรวจมีปริมาณแอนติบอดีต่อเอชไอวีมากกว่าหรือเท่ากับระดับที่ต่ำสุดที่ชุดทดสอบจะสามารถตรวจวัดได้ แอนติบอดีต่อเอชไอวีในสิ่งส่งตรวจที่จับกับ antigen dye conjugate ที่เคลื่อนที่ผ่านมาและจะจับกับแอนติเจนที่ตรึงอยู่บนแผ่นซับในบริเวณทดสอบ (test region) ปรากฏเป็นแถบสีในบริเวณทดสอบ อ่านผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่มีแอนติบอดีต่อเอชไอวีหรือมีปริมาณน้อยกว่าระดับต่ำสุดที่ชุดทดสอบจะสามารถตรวจวัดได้จะไม่ปรากฏแถบสีในบริเวณทดสอบ (test region) อ่านผลเป็นลบ และเพื่อเป็นการควบคุมกระบวนการทดสอบถ้าการทดสอบนั้นมีการปฏิบัติอย่างถูกต้องจะปรากฏแถบสีในบริเวณควบคุม (control region)

5.3 (A3) KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold) ใช้เทคโนโลยี immunochromatographic-solid phase colloidal gold เพื่อตรวจหาแอนติบอดี ต่อ HIV-1 หรือ HIV-2 เชิงคุณภาพ โดยใช้ gold conjugate HIV-1 gp160 และ gold conjugate HIV-2 gp36 เคลือบไว้ที่ conjugate Pad เส้น test line มี recombinant gp36 และ gp41 และเส้น control line มี monoclonal antibody ต่อ gp160 ตรึงอยู่บนผิวของ Nitrocellulose (NC) membrane เมื่อใส่ตำแหน่ง sample pad ตัวอย่างจะมีการเคลื่อนที่ผ่าน conjugate pad ไปละลายและผสมกับ colloidal gold-antigen complex และเคลื่อนที่ไปจนสุดแผ่น NC ถ้ามีแอนติบอดีต่อ HIV-1/HIV-2 ในปริมาณเพียงพอ จะปรากฏแถบสีม่วงอมแดงบน test line ให้เห็น ถ้าไม่มีแอนติบอดีต่อ HIV-1/HIV-2 หรือมีปริมาณแอนติบอดีในระดับต่ำมาก จะไม่มีแถบสีปรากฏบน test line

6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

- 6.1 QP-LAB-001
- 6.2 QP-LAB-002
- 6.3 QP-LAB-014

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

7.ความปลอดภัย (Safety)

- 7.1 ปฏิบัติงานโดยนักเทคนิคการแพทย์
- 7.2 สวมถุงมือ เสื้อกาวน์ (gown) แว่นตา และหน้ากากอนามัยป้องกันการปนเปื้อนขณะปฏิบัติงาน
- 7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ
- 7.4 ชุดตรวจ HIV ที่ผ่านการใช้งานในการตรวจวิเคราะห์แล้ว อาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ
- 7.5 ชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ HIV Determine™ ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ HIV ทางภูมิคุ้มกัน วิทยาลัยคลินิก เท่านั้น
- 7.6 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2 ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ HIV ทางภูมิคุ้มกันวิทยาลัยคลินิก เท่านั้น
- 7.7 ชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold) ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ HIV ทางภูมิคุ้มกันวิทยาลัยคลินิก เท่านั้น

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

- 8.1 ชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ HIV Determine™
- 8.2 ชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2
- 8.3 ชุดตรวจ HIV ด้วยชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)
- 8.4 นาฬิกาจับเวลา
- 8.5 Auto pipette
- 8.6 Pipette tip yellow
- 8.8 อุปกรณ์เจาะเลือด

9.สารมาตรฐาน (Standard)

-

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 7 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

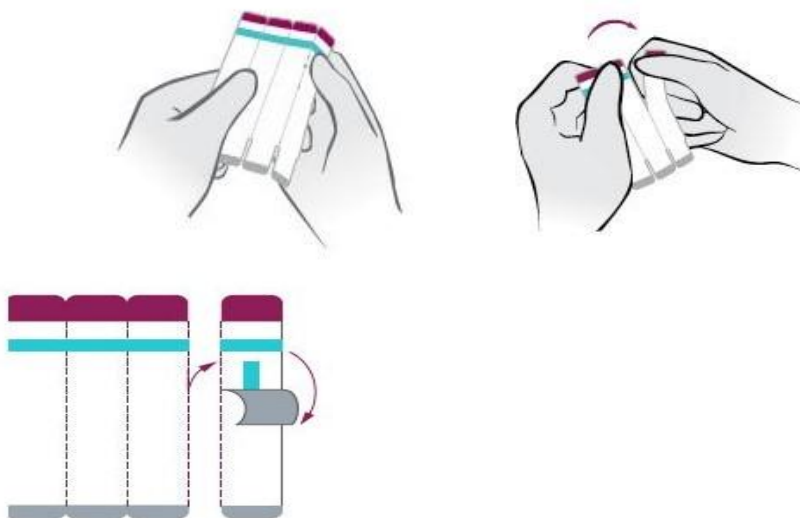
10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

A1 ชุดตรวจ HIV Determine™

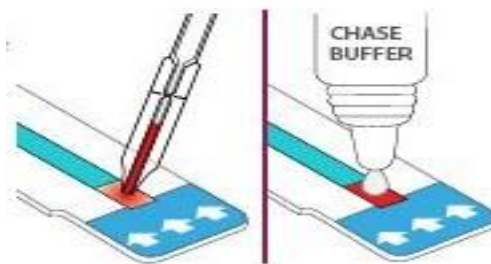
10.1 นำชุดตรวจ Chase buffer และสิ่งส่งตรวจมาวางไว้ให้ใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง (15-30 °C)

ก่อนจะทำการทดสอบ

10.2 โค้งงอไปตามรอยเจาะฉีกแถบหนึ่งจากด้านขวาแล้วถอดฝาครอบออก

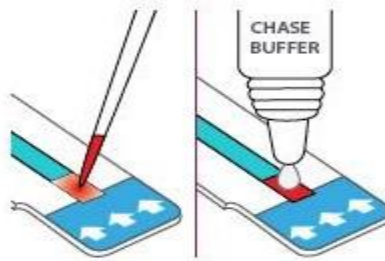


10.3 กรณีตัวอย่างเป็น Fingerstick whole blood ใช้ capillary tube ดูดตัวอย่างเลือดจากปลายนิ้ว 50 µl ใส่ลงใน sample pad รอประมาณ 1 นาที แล้วค่อยใส่ Chase buffer 1 หยด

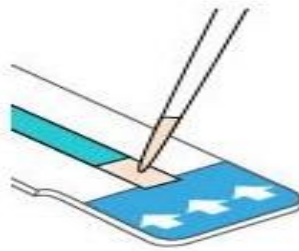


10.4 กรณีตัวอย่างเป็น whole blood ใช้ auto pipette ดูดตัวอย่าง 50 µl ใส่ลงใน sample pad รอประมาณ 1 นาที แล้วค่อยใส่ Chase buffer 1 หยด

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 8 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		



10.5 กรณีตัวอย่างเป็น serum หรือ plasma ใช้ auto pipette ดูดตัวอย่าง 50 μ L ใส่ลงใน sample pad



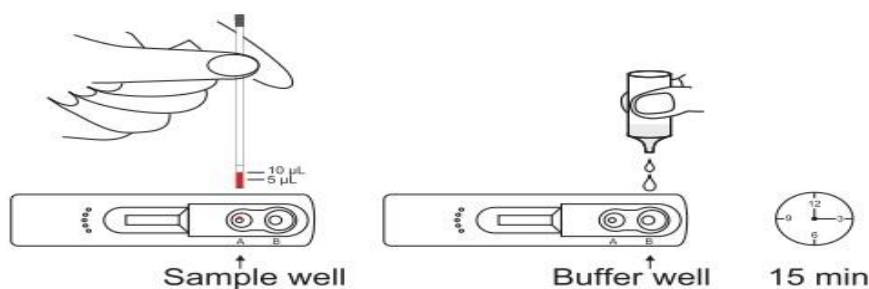
10.6 จับเวลา 20-40 นาที แล้วอ่านผลการทดสอบ

A2 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2

10.7 นำชุดตรวจ บัฟเฟอร์ และสิ่งส่งตรวจมาวางไว้ให้ใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง (10-30 $^{\circ}$ C)

10.8 ฉีกซองฟอยล์ ตรงบริเวณรอยตัดแล้วนำถั้บทดสอบออกมา วางถั้บทดสอบบนพื้นเรียบ (ถั้บทดสอบต้องทดสอบภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากนำออกมาจากซองฟอยล์)

10.9 ใส่ตัวอย่างที่เป็น whole blood, serum และ plasma 10 μ L (ใช้หลอดดูดให้ถึงรอยเส้นแถบที่สอง) โดยปล่อยอย่างช้าๆ ลงไปในหลุมสำหรับตัวอย่างหยด (A) จากนั้นหยดสารละลายบัฟเฟอร์จำนวน 2 หยด ลงในหลุมสำหรับหยดบัฟเฟอร์ (B)



วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 9 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

10.10 ขณะชุดทดสอบเริ่มทำงาน จะสังเกตเห็นสีม่วงเคลื่อนที่ไปทางด้านช่องสำหรับอ่านผล ซึ่งอยู่ตรงกลางของตลับทดสอบ

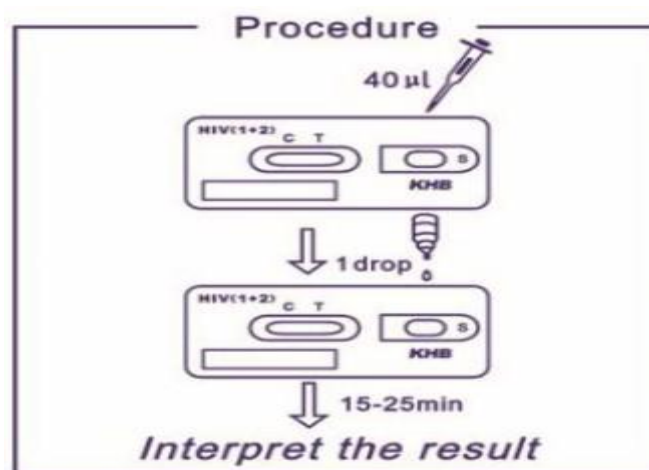
10.11 ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วอ่านผล ห้ามอ่านผลหลัง 30 นาที

A3 ชุดตรวจ KHB[®] Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)

10.12 นำชุดตรวจ sample diluent และสิ่งส่งตรวจมาวางไว้ที่ใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง (18-28 °C) ก่อนจะทำการทดสอบ ไม่ใช่ sample diluent ที่ต่างรุ่นการผลิตมาผสมกัน

10.13 ฉีกซอง นำตลับออกจากซองฟอยล์ และวางบนพื้นผิวที่แบนเรียบ

10.14 ดูดตัวอย่างทดสอบ (serum, plasma และ whole blood) 40 µl ลงในหลุมตัวอย่าง (S) เป็นขั้นตอนแรก จากนั้นค่อยหยด sample diluent 1 หยด ในแนวตั้งตามลงไปในหลุมเดิม โปรดหลีกเลี่ยงการสัมผัสโดยตรงระหว่างขวด sample diluent กับ หลุมตัวอย่าง (S)



10.15 วางตลับไว้ ที่อุณหภูมิห้อง (18-28 °C) และอ่านผล หลังผ่านไป 15 นาที แต่ไม่เกิน 25 นาที

11.การคำนวณ (Calculation)

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 10 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

การควบคุมคุณภาพภายใน

- การควบคุมคุณภาพภายในของชุดทดสอบนี้ คือ การมีแถบสีม่วงแดงขึ้นตรงตำแหน่งแถบควบคุม (C) ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างตรวจได้มีการเคลื่อนที่อย่างสมบูรณ์ และเชื่อถือผลการทดสอบนี้ได้
- มีการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ทั้ง control negative และ control positive เดือนละ 1 ครั้ง ของชุดตรวจ A1 ชุดตรวจ HIV Determine™, A2 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2 และ A3 ชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)

การควบคุมคุณภาพภายนอก

- เข้าร่วมทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ การตรวจเอชไอวีซีโรยี่แห่งชาติภาคเหนือ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ปีละ 3 ครั้ง

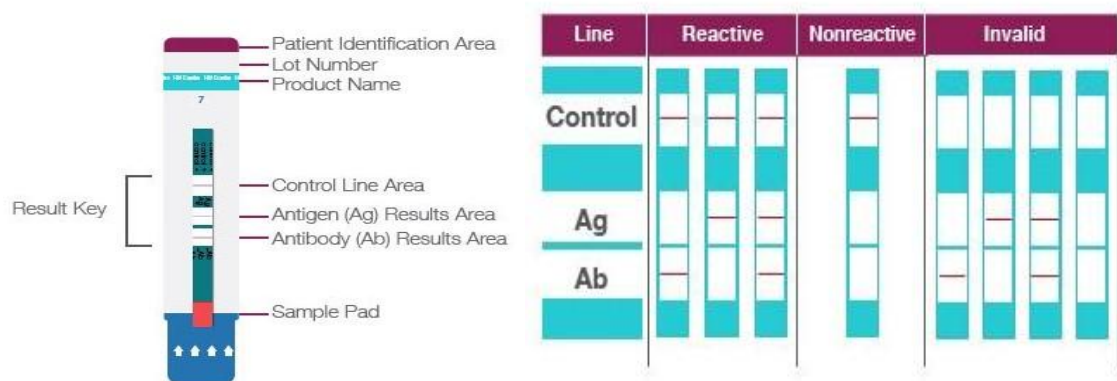
13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกผลลง F-LAB-02.I006 และลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 11 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

14. การรายงานผล (Report of analysis)

A1 ชุดตรวจ HIV Determine™

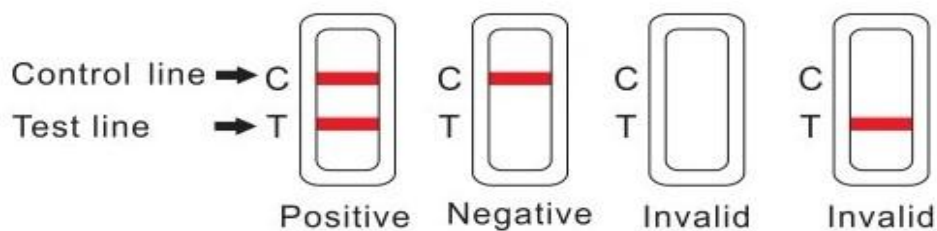


Non-reactive : ปรากฏแถบสีม่วงแดงบนแถบควบคุม (“C”) เพียงแถบเดียว

Reactive : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ บนแถบควบคุมและแถบทดสอบ Ab (“C” และ “Ab”) หรือ ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ บนแถบควบคุมและแถบทดสอบ Ag (“C” และ “Ag”) หรือ ปรากฏแถบสีม่วงแดง 3 แถบ บนแถบควบคุม แถบทดสอบ Ab และแถบทดสอบ Ag (“C” “Ab” และ “Ag”)

Invalid : ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดง บนแถบควบคุม (“C”)

A2 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2



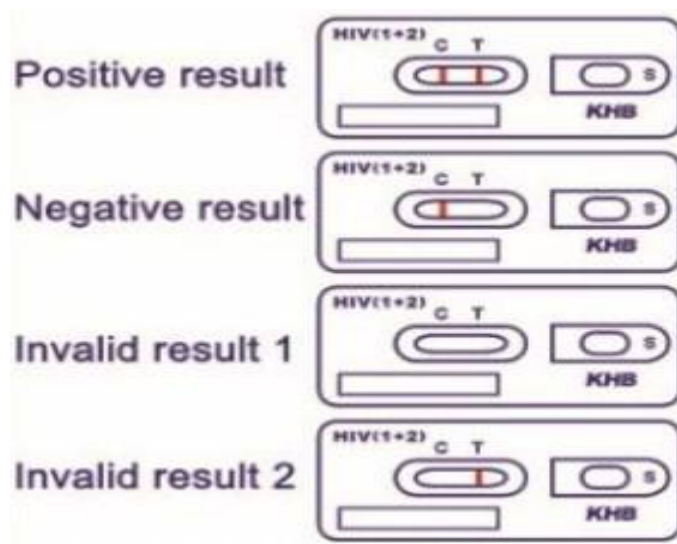
Negative (ผลลบ) : ปรากฏแถบสีแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control

Positive (ผลบวก) : ปรากฏแถบสีแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test

Invalid (แปลผลไม่ได้) : ไม่ปรากฏแถบสีแดงที่ Control band หรือ ไม่ปรากฏแถบสีแดงที่ Control band และ Test band

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 12 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

A3 ชุดตรวจ KHB[®] Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)



Negative (ผลลบ) : ปรากฏแถบสีแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control

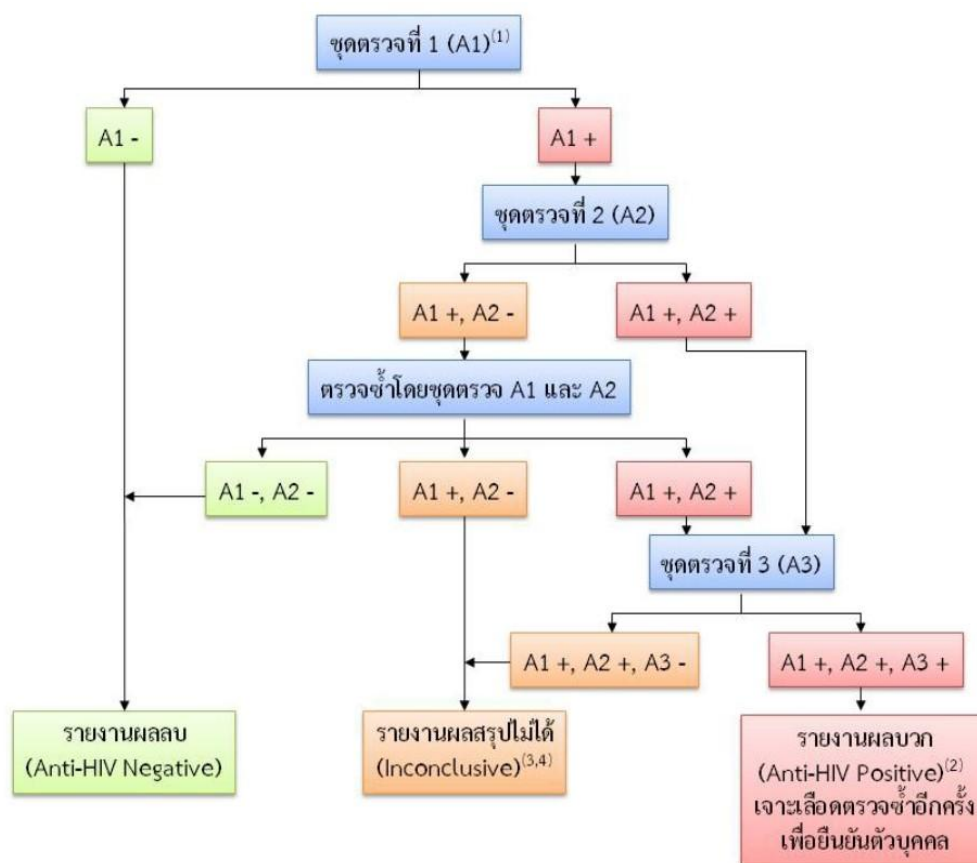
Positive (ผลบวก) : ปรากฏแถบสีแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test

Invalid (แปลผลไม่ได้) : ไม่ปรากฏแถบสีแดงที่ Control band หรือ ไม่ปรากฏแถบสีแดงที่

Control band และ Test band

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 13 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

แนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ HIV ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำหรับผู้ใหญ่
และเด็กที่มีอายุ 24 เดือนขึ้นไป



หมายเหตุ

- (1) A1, A2 และ A3 หมายถึง ชุดทดสอบตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ HIV ชนิดที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับที่มีแอนติเจนที่ต่างชนิดกัน โดยชุดทดสอบที่ 1 ต้องมีความไวมากกว่าชุดทดสอบที่ 2 และ 3 และชุดทดสอบ 2 และ 3 ต้องมีความจำเพาะสูงขึ้น
- (2) ในกรณีผลบวกให้รายงานผลตรวจให้กับผู้เกี่ยวข้องและตรวจสอบหากพบว่าเป็นผู้ติดเชื้อรายใหม่หรือตรวจเป็นครั้งแรก (newly diagnosed) ควรแนะนำให้เจาะเลือดตัวอย่างที่ 2 เพื่อยืนยันตัวบุคคล โดยตรวจด้วยชุดทดสอบเดิมอย่างน้อย 1 วิธี
- (3) การรายงานผลตรวจเป็น สรุปผลไม่ได้ (inconclusive) ให้ติดตามตรวจซ้ำภายใน 2-4 สัปดาห์ โดยทดสอบใหม่ตามลำดับขั้นตอน A1, A2 และ A3 เช่นเดิม หากยังได้ผลสรุปผลไม่ได้เหมือนเดิมภายใน 1 เดือนให้รายงานผลลบและปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ อย่างไรก็ตามผู้ให้คำปรึกษาควรเน้นเรื่องการป้องกันการแพร่เชื้อแก่ผู้อื่นอย่างเคร่งครัดด้วย

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 14 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

- (4) ในกรณีที่ชุดตรวจแรกที่ใช้เป็นชุดตรวจชนิดที่ตรวจได้ทั้งแอนติเจนและหรือแอนติบอดีในเวลาเดียวกันและชุดตรวจที่ 2 หรือ 3 เป็นชุดตรวจที่ตรวจได้เฉพาะแอนติบอดีอย่างเดียว และผลการตรวจเป็นสรุปผลไม่ได้ให้ดำเนินการเจาะเลือดตรวจซ้ำเวลา 2 สัปดาห์ต่อมา และถ้าเป็นไปได้ควรส่งตัวอย่าง ตรวจเพิ่มเติมด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น NAT หรือ neutralization p24 assay เพื่อติดตามในช่วงระยะแฝง
- (5) ในกรณีที่ชุดตรวจ A1, A2 และ A3 ให้ผล Reactive ทั้ง 3 วิธี ให้ส่งตัวอย่างไปตรวจยืนยัน ที่ รพ.ตสม. ด้วยวิธี HIV Ag/Ab (CMIA)

วิธีการรายงานผลการตรวจหาการติดเชื้อ HIV

รูปแบบ	การทดสอบเบื้องต้น (A1)	การทดสอบเสริมวิธีที่ 1 (A2)	การทดสอบเสริมวิธีที่ 2 (A3)	ส่งตรวจยืนยัน รพ.ตสม.	การสรุปและ รายงานผล
	ชุดตรวจ HIV Determine™	ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2	ชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)	วิธี HIV Ag/Ab (CMIA)	
1	Non-Reactive	ไม่ต้องทำ	ไม่ต้องทำ	ไม่ต้องทำ	Negative
2	Reactive	Reactive	Reactive	Reactive	Positive
3	Reactive	Reactive	Non-Reactive	ไม่ต้องทำ	Inconclusive
4	Reactive	Non-Reactive	Non-Reactive	ไม่ต้องทำ	Inconclusive
5	Reactive	Non-Reactive	Reactive	ไม่ต้องทำ	Inconclusive

หมายเหตุ : การรายงานผลสรุปผลไม่ได้ (inconclusive) ให้ติดตามผู้มารับบริการตรวจซ้ำภายหลัง 2 สัปดาห์ และ/หรือ 1 เดือน และ 3 เดือนตามลำดับ โดยทดสอบใหม่ตามลำดับขั้นตอน A1, A2 และ A3 เช่นเดิม หากผล ตรวจเป็นสรุปผลไม่ได้เหมือนเดิมภายหลัง 3 เดือน ให้รายงานผลลบ และปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 15 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

(1) ผลการตรวจและรายงานต่างๆ ต้องรักษาไว้เป็นความลับ

(2) วิธีการรายงาน

(2.1) รายงานผลเป็นลบ (anti-HIV negative) เมื่อผลการตรวจโดยชุดตรวจแรกเป็นไม่มีปฏิกิริยา (non-reactive)

(2.2) รายงานผลเป็นบวก (anti-HIV positive) เมื่อผลการตรวจทั้ง 3 ชุดตรวจในการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการเดียวกันและผลการส่งตรวจยืนยันที่ รพ.ตสม. ด้วยวิธี HIV Ag/Ab (CMIA) ให้ผลมีปฏิกิริยา (reactive) ตรงกัน

(2.3) รายงานผลเป็นสรุปผลไม่ได้ (inconclusive)

- เมื่อผลการตรวจขัดแย้งในชุดตรวจ 2 หรือ 3 ที่ตรวจเฉพาะแอนติบอดีอย่างเดียว (HIV Ab) ในการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการเดียวกัน และให้ติดตามผู้มารับบริการมาเจาะเลือดตรวจซ้ำในเวลา 2-4 สัปดาห์ ถ้าผลยังคงเป็นเช่นเดิมเมื่อตรวจที่ 1 เดือน ให้สรุปว่าผลเป็นลบ

- แต่ถ้าผลขัดแย้งกันในกรณีเริ่มจากชุดตรวจที่ทดสอบได้ทั้งแอนติเจนและ/หรือแอนติบอดีในเวลาเดียวกัน (HIV Ag/Ab) เป็นชุดแรก และได้ผลเหมือนเดิมหลังจากทดสอบซ้ำแล้ว ให้ติดตามผู้มารับบริการ มาเจาะเลือดตรวจซ้ำในเวลา 2 สัปดาห์ ถ้าได้ผลขัดแย้งเหมือนเดิม พิจารณาตอบเป็นผลลบได้

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจและการรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ

	A1 ชุดตรวจ HIV Determine™	A2 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2	A3 ชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)
สิ่งส่งตรวจ	-serum - fingerstick whole blood (EDTA capillary tube) -plasma, venous whole blood anticoagulant (EDTA)	-serum - fingerstick whole blood - plasma, venous whole blood anticoagulant (EDTA, heparin, citrate)	-serum - plasma, venous whole blood anticoagulant (EDTA, heparin, citrate)

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 16 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

การรักษา สภาพสิ่ง ส่งตรวจ	-serum และ plasma เก็บได้นาน 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ถ้าต้องการเก็บให้นานมากกว่า 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C - fingerstick whole blood (EDTA capillary tube) ให้ทดสอบอย่างรวดเร็วหลังจากเจาะเลือด - venous whole blood เก็บได้นาน 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ไม่ควรแช่แข็ง	-serum และ plasma เก็บได้นาน 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ถ้าต้องการเก็บให้นานมากกว่า 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C - fingerstick whole blood (EDTA capillary tube) ให้ทดสอบอย่างรวดเร็วหลังจากเจาะเลือด - venous whole blood เก็บได้นาน 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ไม่ควรแช่แข็ง	serum และ plasma เก็บได้นาน 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ถ้าต้องการเก็บให้นานมากกว่า 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ -18 °C - venous whole blood เก็บได้นาน 8 ชั่วโมง ไว้ที่อุณหภูมิ 18-24 °C หรือ เก็บได้นาน 7 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C ไม่ควรแช่แข็ง
---------------------------------	---	---	--

15.2 การตรวจหา antigen และ antibody ของชุดตรวจ

A1 ชุดตรวจ Determine™	A2 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2	A3 ชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal
- HIV-1 p24 antigen - HIV-1 recombinant protein gp41 และ synthetic peptide gp41 - HIV-2 protein gp36 และ synthetic peptide gp36	HIV-1 gp41, HIV-2 gp36	HIV-1 gp160, HIV-2 gp36

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 17 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

15.3 ความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ

A1 ชุดตรวจ HIV Determine™

ความไวของชุดตรวจ HIV Determine™ ตัวอย่าง HIV antibody positive

Type	Number of specimens tested	Reactive by Determine HIV early Detect	Sensitivity
HIV-1	422	422	100.0%
HIV-1 non B subtype*	56	56	100.0%
HIV-1 group O	4	4	100.0%
HIV-2	100	100	100.0%
HIV**	100	100	100.0%
Total	682	682	100.0%

*Subtype : A, C, D, F, G, H, J, K, and CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB, CRF05-DF, CRF09-A/U, CRF11-cpx

**เก็บตัวอย่างจากยุโรป

ความจำเพาะของชุดตรวจ HIV Determine™ ตัวอย่าง HIV Early detect

Population	Number of tested specimen	Determine HIV Early Detect					
		Ab bar		Ag bar		Combined Ab and Ag bar	
		Reactive	Non-reactive	Reactive	Non-reactive	Reactive	Non-reactive
Seronegative Specimen*	1749	0	1749	2	1747	2	1747
Hospitalized Specimen	218	1	217	2	216	3	215

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 18 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

Pregnancy women	206	0	206	0	206	0	206
Potentially cross-reactive specimen**	296	0	296	2	294	2	294
Total	2469	1	2468	6	2463	7	2462
Specificity (%)	99.96%		99.76%		99.72%		

*การเก็บตัวอย่างรวมทั้งใน ยุโรป (300), USA (1299), และ Africa (150)

** สถานะของโรคอื่นที่ไม่ใช่ HIV สารที่อาจรบกวนได้ : Rheumatoid factor, ANA, SLE, high cholesterol, high total protein, high IgM, human anti mouse IgG, โรคติดเชื้ออื่นๆ : HBV, HCV, HTLV I or II, Toxo IgG, syphilis, HSV 1 / 2 และ EBV, ผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีนไขหวัดใหญ่และผู้ป่วยฟอกไต

ความไวของแอนติบอดีในตัวอย่าง whole blood (venipuncture and fingerstick), serum และ plasma ชุดตรวจ HIV Determine™

No. of matched specimens tested	Type of specimen and No. of Reactive by Determine HIV Early Detect (Ab detect)				Correlation between matrices
	serum	plasma	Venous whole blood	Fingerstick whole blood*	
25	25	25	25	NT	100.0%
25	25	25	25	25	100.0%

*EDTA capillary tube

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 19 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

ความจำเพาะในตัวอย่าง whole blood (venipuncture and fingerstick), serum และ plasma ด้วยชุดตรวจ HIV Determine™

No. of matched specimens tested	Type of specimen and No. of Non-reactive by Determine HIV Early Detect				Correlation between matrices
	serum	plasma	Venous whole blood	Fingerstick whole blood*	
25	25	25	25	NT	100.0%
25	25	25	25	25	100.0%

*EDTA capillary tube

A2 ชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2

ความไวของชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2 ตัวอย่างของ HIV-1 Positive

Specimen type	No. of specimen	False negative	Sensitivity	95% Confidence interval
serum	456	0	100%	(99.18, 100)
plasma	620	0	100%	(99.38, 100)
venous whole blood	100	0	100%	(96.30, 100)
Total	1176	0	100%	(99.67, 100)

ความไวของชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2 ตัวอย่างของ HIV-2 Positive

Specimen type	No. of specimen	False negative	Sensitivity	95% Confidence interval
plasma	100	0	100%	(96.30, 100)

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 20 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

ความจำเพาะของชุดตรวจ Wondfo One Step HIV1/2

Specimen type	No. of specimen	False negative	Sensitivity	95% Confidence interval
serum	331	0	100%	(98.85, 100)
plasma	1904	0	100%	(99.70, 100)
venous whole blood	500	0	100%	(99.24, 100)
Total	2735	0	100%	(99.79, 100)

A3 ชุดตรวจ KHB[®] Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold)

ความไวของชุดตรวจ KHB[®] Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold) ใน

ตัวอย่าง HIV-1 และ HIV-2 antibody Positive

Population	KHB Diagnostic Kit for HIV (1+2) Antibody (colloidal Gold)			
	No. of specimens tested	Positive	Negative	Sensitivity
HIV-1 Ab positive	360	360	0	100%
Non-B subtype HIV-1 Ab Positive	40	40	0	100%
HIV-2 Ab Positive	100	100	0	100.0%
HIV Ab Positive	250	250	0	100.0%
Total	750	750	0	100.0%

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 21 ของ 21
เรื่อง : การตรวจ HIV	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I001	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

ความไวของชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold) ในตัวอย่าง HIV-1 antibody Positive whole blood และ plasma

Population	KHB Diagnostic Kit for HIV (1+2) Antibody (colloidal			
	No. of specimens	Positive	Negative	Sensitivity
HIV-1 Ab positive whole blood	100	100	0	100%
HIV-1 Ab positive plasma	100	100	0	100%

ความจำเพาะของชุดตรวจ KHB® Diagnostic kit for HIV (1+2) antibody (colloidal gold) ในตัวอย่าง serum, plasma และ whole blood

Population	KHB Diagnostic Kit for HIV (1+2) Antibody (colloidal Gold)			
	No. of specimens tested	Positive	Negative	Sensitivity
Blood donor	2500	2500	0	100.0%
Whole blood donation	500	500	0	100.0%
Hospitalized patient	200	200	0	100.0%
Pregnancy women	200	200	0	100.0%
Total	3400	3400	0	100.0%