

วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจ..Anti-HCV..โดยชุดตรวจ..Flowflex™..ACON®.....

รหัสเอกสารWI-LAB-I008.....

ผู้จัดทำ.......... (.....นายกฤษเวท.....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 7
	เรื่อง : การตรวจ Anti-HCV โดยชุดตรวจ Flowflex™ ACON®	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I008	แก้ไขครั้งที่ : 02
ผู้จัดทำ : นายฤทธิเดช 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 7
เรื่อง : การตรวจ Anti-HCV โดยชุดตรวจ Flowflex™ ACON®	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจ Anti-HCV ด้วยชุดตรวจ Flowflex™ ACON® โดยวิธีหลักการ Immunochromatographic assay ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

- 2.1 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี
- 2.2 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองผู้ป่วยรายบุคคล
- 2.3 เพื่อใช้ตรวจกลุ่มประชากรที่มีโอกาสสัมผัสเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี
- 2.4 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองสุขภาพประจำปี

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

ใบแนบเอกสารชุดตรวจ Anti-HCV ด้วยชุดตรวจ Flowflex™ ACON® โดยบริษัท ACON Biotech (Hangzhou) Co.,Ltd.

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

Hepatitis C virus (HCV) จัดอยู่ใน Family *Flaviviridae*, genus *Hepacivirus* รูปทรงกลม (spherical) ขนาด 30 - 60 nm มี envelope หุ้มรอบการเพาะเลี้ยงเชื้อ HCV ทำได้ยากอาจเพาะเลี้ยงในเวลา สั้นๆ ได้โดยใช้ primary hepatocyte culture หรือ human T lymphocyte cell line หรือ human B lymphocyte cell line สารพันธุกรรมของ HCV เป็น RNA สายเดี่ยว, positive strand, ขนาดยีนโนมประมาณ 9,500 nucleotide ยีนโนมแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ทำหน้าที่สร้างโปรตีน (coding region) หรือ opening reading frame (ORF) เป็นรหัสสร้างโปรตีน 9 ชนิด รวมกรดอะมิโน 3,010 - 3,037 ตัว และมีส่วนที่ไม่เป็นรหัสสร้าง โปรตีน (noncoding region, NCR) หรือ untranslated region (UTR) ที่อยู่ปลาย 2 ข้าง ของยีนโนม

ไวรัสตับอักเสบบี คือเชื้อไวรัสชนิดหนึ่งที่ทำให้ตับอักเสบ มักเป็นเรื้อรังและทำให้มีโอกาสเป็นโรคตับแข็ง หรือมะเร็งตับมากขึ้น ไวรัสชนิดนี้ติดต่อได้ทางเลือดและการมีเพศสัมพันธ์ ส่วนมากมักจะไม่มีอาการ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 7
เรื่อง : การตรวจ Anti-HCV โดยชุดตรวจ Flowflex™ ACON®	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

หรือหากมีอาการจะมีไข้ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ปวดตามข้อ อูจจาระสีซีด ตัวเหลือง ตาเหลือง

Hepatitis C virus คำย่อ HCV

5.หลักการ (Principle)

การทดสอบ HCV เชิงคุณภาพที่แผ่นทดสอบตรง membrane จะมีการตรึง recombinant HCV capture antigen (core, NS3, NS4 และ NS5) ไว้ที่บริเวณ Test line “T” สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ HCV เมื่อตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ มีการเคลื่อนที่ตามโครมาโตกราฟีเมมเบรนแล้ว mixture นั้นจะเคลื่อนผ่านแถบสีไปโดยใช้แรง capillary action ไปตรงบริเวณ Test line “T” จะเกิด antigen-antibody complex จะเห็นแถบสี ที่ตำแหน่ง Test line “T” พร้อมแถบควบคุมคุณภาพ Control line “C” เมื่อครบเวลาที่กำหนด

6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

6.1 QP-LAB-001

6.2 QP-LAB-002

7.ความปลอดภัย (Safety)

7.1 ปฏิบัติงานโดยนักเทคนิคการแพทย์

7.2 สวมถุงมือ เสื้อกาวน์ (gown) แว่นตา และหน้ากากอนามัยป้องกันการปนเปื้อนขณะปฏิบัติงาน

7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ

7.4 ชุดตรวจ Anti-HCV ที่ผ่านการใช้งานในการตรวจวิเคราะห์แล้ว อาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ

7.5 ชุดตรวจ Anti-HCV โดย Flowflex™ ACON® ใช้สำหรับตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี ทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก เท่านั้น

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

8.1 ชุดตรวจ Anti-HCV โดย Flowflex™ ACON®

8.2 นาฬิกาจับเวลา

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 7
เรื่อง : การตรวจ Anti-HCV โดยชุดตรวจ Flowflex™ ACON®	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

9.สารมาตรฐาน (Standard)

9.1 Serogens control Negative Anti-HCV I

9.2 Serogens control Positive Anti-HCV II

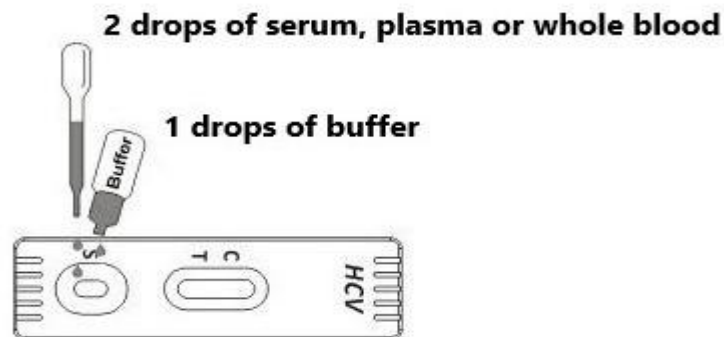
10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

10.1 นำชุดตรวจ และสิ่งส่งตรวจมาวางไว้ให้ใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง (15-30 °C)

10.2 ฉีกซองฟอยล์ ตรงบริเวณรอยตัดแล้วนำ cassette ทดสอบออกมาวางบนพื้นเรียบ

10.3 ใช้ Dropper ดูดตัวอย่าง (serum, plasma หรือ whole blood) ลงไปในหลุม

specimen well (S) จำนวน 2 หยด (ประมาณ 50µl) จากนั้นหยด Buffer จำนวน 1 หยด (ประมาณ 40µl) ลงไปในหลุม specimen well (S)



10.4 จับเวลา 10 นาที แล้วอ่านผล ไม่ควรอ่านผลหลังจาก 20 นาที ไปแล้ว เพราะอาจทำให้เกิดผลปลอม

11.การคำนวณ (Calculation)

-

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 7
เรื่อง : การตรวจ Anti-HCV โดยชุดตรวจ Flowflex™ ACON®	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I008	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

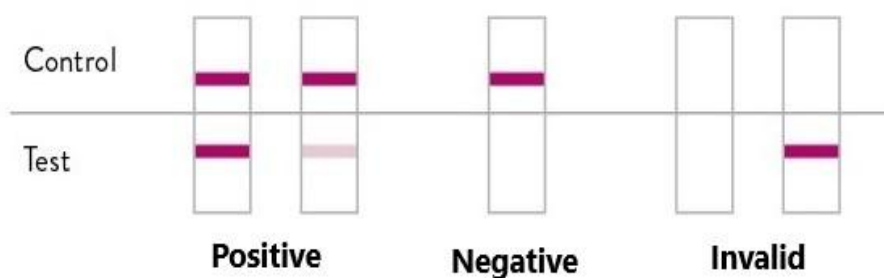
การควบคุมคุณภาพภายนอก

- เข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการตรวจภูมิคุ้มกันไวรัสตับอักเสบบี สาขาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีละ 3 ครั้ง

13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกผลลงใน Work sheet และลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

14. การรายงานผล (Report of analysis)



Negative (ผลลบ) : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control

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

Invalid (แปลผลไม่ได้) : ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line หรือ ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line และ Test line

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 7 ของ 7
เรื่อง : การตรวจ Anti-HCV โดยชุดตรวจ Flowflex™ ACON®	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ serum, plasma และ whole blood

15.2 การรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ ส่งตรวจห้องปฏิบัติการทันทีหลังจากเจาะเก็บตัวอย่าง หากไม่สามารถตรวจได้ทันที serum หรือ plasma ให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C เก็บได้นาน 3 วัน ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C สามารถเก็บได้ระยะเวลานานขึ้น และสำหรับ whole blood ไม่ควรแช่แข็ง ให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C เก็บได้นาน 2 วัน

15.3 เก็บชุดตรวจที่อุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส

15.4 หากผล Negative แต่พบอาการทางคลินิก ต้องตรวจติดตามด้วยวิธีการที่ใช้หลักการอื่น

15.5 หากผล Negative ไม่ได้แสดงว่าจะไม่มีการติดเชื้อ เพราะแอนติบอดีอาจยังไม่สร้างขึ้นในช่วงการติดเชื้อในระยะแรก

15.6 ถ้าในตัวอย่างมีปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ HCV สูง อาจส่งผลทำให้เกิด prozone effect ได้ ทำให้เกิดผลลบปลอมได้

15.7 ความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ

Method		EIA		Total result
HCV Rapid Test Cassette	Result	Positive	Negative	
	Positive	190	3	193
	Negative	0	533	533
Total result		190	536	726

ความไว : 100.0% (190/190)

ความจำเพาะ : 99.4% (533/536)