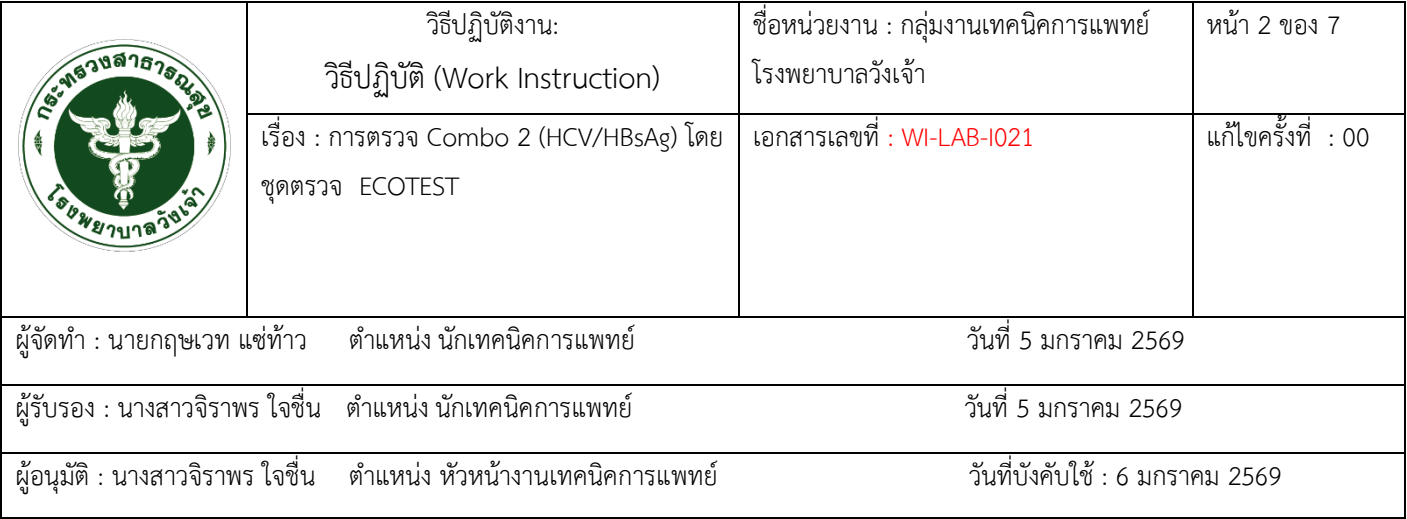


วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจ..Combo..2..(HCV/HBsAg)..โดยชุดตรวจ..ECOTEST.....

รหัสเอกสารWI-LAB-I021.....

ผู้จัดทำ..... (.....นายกฤษฎา.....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.....6..มกราคม..2569.....
แก้ไขครั้งที่.....	วันที่เริ่มใช้.....
แก้ไขครั้งที่.....	วันที่เริ่มใช้.....
แก้ไขครั้งที่.....	วันที่เริ่มใช้.....
แก้ไขครั้งที่.....	วันที่เริ่มใช้.....

[illegible]

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 3 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST โดยวิธีหลักการ Immunochromatographic assay ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

- 2.1 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองวินิจฉัยโรคไวรัสตับอักเสบซีและบี
- 2.2 เพื่อใช้ตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบซี
- 2.3 เพื่อใช้ตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

ใบแนบเอกสารชุดตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST โดยบริษัท Assure Tech. (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 ทำได้ยากอาจเพาะเลี้ยงในเวลาสั้นๆ 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 และมีส่วนที่ไม่เป็นรหัสสร้างโปรตีน (noncoding region, NCR) หรือ untranslated region (UTR) ที่อยู่ปลาย 2 ข้าง ของยีนโนม

ไวรัสตับอักเสบซี คือเชื้อไวรัสชนิดหนึ่งที่ทำให้ตับอักเสบ มักเป็นเรื้อรังและทำให้มีโอกาสเป็นโรคตับแข็ง หรือมะเร็งตับมากขึ้น ไวรัสชนิดนี้ติดต่อได้ทางเลือดและการมีเพศสัมพันธ์ ส่วนมากมักจะไม่มีอาการหรือหากมีอาการจะมีไข้ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ปวดตามข้อ อูจจาระสีซีด ตัวเหลืองตาเหลือง

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

Hepatitis B virus (HBV) ถูกจัดอยู่ใน family *Hepadnaviridae*, genus *Orthohepadnavirus* สมาชิกของกลุ่ม *hepadnaviruses* คุณสมบัติมีดังนี้

1. รูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 42 นาโนเมตร เป็นไวรัสที่มี เปลือกหุ้ม (envelope) ล้อมรอบ นิวคลีโอแคปซิด (nucleocapsid) หรือ ส่วนแกน (core) โดยอนุภาคของไวรัสนี้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า แดน พาติเคิล (Dane particle) ส่วนอนุภาคขนาดเล็กกว่า มีลักษณะทรงกลม หรือเป็นแท่ง เป็นว่า แอปพาไตติสเซอร์เฟส แอนติเจน (HBsAg) ที่เป็นอิสระ
2. เปลือกหุ้ม (Envelope) มีโปรตีนไกลโคเจน (glycoprotein) ที่เรียกว่า แอปพาไตติสเซอร์เฟส แอนติเจน (HBsAg)
3. ส่วนแกน (Core) หรือแคปซิดของไวรัสมี hepatitis B core antigen (HBcAg) ซึ่งเป็น ฟอสโฟโปรตีน (phosphoprotein) นอกจากนี้ยังมี เอนไซม์โพลีเมอเรส (polymerase)
4. สารพันธุกรรมเป็น ดีเอ็นเอ (DNA) ลักษณะเป็นวงกลม สายคู่ มีขนาด 3.2 กิโลเบส (kilobase, kb) และสามารถแบ่งเป็นส่วนๆ (Open Reading Frame, ORFs) ที่เหลื่อมซ้อนกัน 4 อัน ส่วนเอส (S), ส่วนซี (C), ส่วนพี (P) และเอ็กซ์ (X) ซึ่งแต่ละส่วนทำหน้าที่ แตกต่างกัน โดยส่วน เอส ผลิตแอปพาไตติสเซอร์เฟส แอนติเจน (HBs Ag) ส่วน ซี ผลิตโปรตีนแกน (core) ส่วน พี ผลิต เอนไซม์โพลีเมอเรส (polymerase) ส่วนเอ็กซ์ ผลิตโปรตีนที่ยังไม่ทราบหน้าที่แต่สันนิษฐานว่ามีเกี่ยวข้องกับขบวนการการเกิดมะเร็ง

โรคไวรัสตับอักเสบบี คือการติดเชื้อตับที่รุนแรงซึ่งเกิดจากไวรัสตับอักเสบบี (HBV) สำหรับคนส่วนใหญ่ โรคตับอักเสบบีมักมีอาการในระยะสั้น เรียกอีกอย่างว่า เฉียบพลัน โรคตับอักเสบบีเฉียบพลันมักมีอาการน้อยกว่า 6 เดือน แต่สำหรับบางคน การติดเชื้ออาจกินเวลานานกว่า 6 เดือน เรียกว่า เรื้อรัง โรคตับอักเสบบีเรื้อรังเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดตับวาย มะเร็งตับ และการเกิดแผลเป็นที่ตับอย่างรุนแรง เรียกว่า ตับแข็ง

Hepatitis C virus คำย่อ HCV

Hepatitis B surface antigen คำย่อ HBsAg

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

5.หลักการ (Principle)

ชุดทดสอบ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยใช้หลักการ immunochromatography ในการตรวจหา antibodies หรือ antigen ที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าบนชุดทดสอบ มีการเคลือบ recombinant HCV antigen และ anti-HBsAg antibodies บนแถบทดสอบ (Test region) เมื่อมีตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจะเกิดการทำปฏิกิริยากับ antibodies conjugated หรือ antigen conjugated เกิดสีมีการเคลื่อนที่แบบ capillary action ถ้าตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมี antigen หรือ antibodies จะเกิดสีม่วงแดงบนแถบทดสอบนั้นแสดงว่าให้ผลบวก และถ้าตัวอย่างสิ่งส่งตรวจไม่มี antigen หรือ antibodies จะไม่เกิดสีม่วงแดงบนแถบทดสอบนั้นแสดงว่าให้ผลลบ

6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

- 6.1 QP-LAB-001
- 6.2 QP-LAB-002
- 6.3 F-LAB-02.I0002 แบบบันทึกผลตรวจ Rapid Test
- 6.4 F-LAB-01.008 แบบบันทึก IQC ที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์
- 6.5 F-LAB-01.009 แบบบันทึก EQA ที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์

7.ความปลอดภัย (Safety)

- 7.1 ปฏิบัติงานโดยนักเทคนิคการแพทย์
- 7.2 สวมถุงมือ เสื้อกาวน์ (gown) แว่นตา และหน้ากากอนามัยป้องกันการปนเปื้อนขณะปฏิบัติงาน
- 7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ
- 7.4 ชุดตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) ที่ผ่านการใช้งานในการตรวจวิเคราะห์แล้ว อาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ
- 7.5 ชุดตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดย ECOTEST ใช้สำหรับตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก เท่านั้น

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

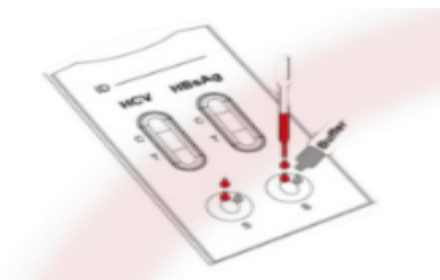
- 8.1 ชุดตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดย ECOTEST
- 8.2 นาฬิกาจับเวลา

9.สารมาตรฐาน (Standard)

- 9.1 Serogens control Negative HCV I
- 9.2 Serogens control Positive HCV II
- 9.3 Serogens control Negative HBs Ag I
- 9.4 Serogens control Positive HBs Ag II

10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

- 10.1 นำชุดตรวจ มาวางไว้ให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง (15-30 °C)
- 10.2 ฉีกซองฟอยล์ ตรงบริเวณรอยตัดแล้วนำ cassette ทดสอบออกมาวางบนพื้นเรียบ
- 10.3 สำหรับ **Venous whole blood** ใช้ตัวอย่างเลือด 2 หยด (ประมาณ 50 µl) ใส่ลงไปในหลุม sample well (S) และใส่ buffer 1 หยด (ประมาณ 40 µl) ใส่ลงไปในหลุม sample well (S) เริ่มจับเวลา 15 นาที



- 10.4 สำหรับ **Fingerstick whole blood** หยดเลือดจากปลายนิ้ว 2 หยด ใส่ลงไปในหลุม sample well (S) และใส่ buffer 1 หยด (ประมาณ 40 µl) ใส่ลงไปในหลุม sample well (S) เริ่มจับเวลา 15 นาที



วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 7 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

10.5 สำหรับ **Serum or plasma** ใช้ dropper หยดตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจำนวน 3 หยด (ประมาณ 75 µl) ใส่ลงไปในห้อง sample well (S) เริ่มจับเวลา 15 นาที



10.6 อ่านผลภายใน 15 นาที ไม่ควรอ่านผลหลังจากนั้น เพราะอาจทำให้เกิดผลปลอมได้

11.การคำนวณ (Calculation)

-

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

การควบคุมคุณภาพภายใน

- การควบคุมคุณภาพภายในของชุดทดสอบนี้ คือ การมีแถบสีม่วงแดงขึ้นตรงตำแหน่งแถบควบคุม (C) ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างตรวจได้มีการเคลื่อนที่อย่างสมบูรณ์ และเชื่อถือผลการทดสอบนี้ได้
- มีการควบคุมคุณภาพภายใน (IQ) ทั้ง control negative และ control positive เดือนละ 1 ครั้ง

การควบคุมคุณภาพภายนอก

- เข้าร่วมทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ การตรวจไวรัสตับอักเสบบีและบีทางซีโรโลยี ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ปีละ 3 ครั้ง

13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกผลลงใน Work sheet และลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 8 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

14. การรายงานผล (Report of analysis)



Positive : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control “C” และ Test “T”

Negative : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control “C”

Invalid : ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control “C” หรือ ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control “C” และ Test “T”

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ serum, plasma, whole blood และ fingerstick whole blood

15.2 การรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ ตรวจทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ หากไม่สามารถตรวจได้ทันทีให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 7 วัน หรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้ระยะเวลาที่นานขึ้น ตัวอย่าง whole blood เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 3 วัน ห้ามแช่แข็ง

15.3 สารกันเลือดแข็ง เช่น EDTA, sodium citrate, sodium heparin หรือ potassium oxalate สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ได้

15.4 หลีกเลียงตัวอย่าง hemolysis, icteric, lipemic และตัวอย่างที่ปนเปื้อนอาจส่งผลต่อการวิเคราะห์ที่ผิดพลาดได้

15.5 เก็บชุดตรวจที่อุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 9 ของ 9
เรื่อง : การตรวจ Combo 2 (HCV/HBsAg) โดยชุดตรวจ ECOTEST	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I021	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

15.6 ความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ

HCV		HCV Rapid Test		Total
		Positive	Negative	
EIA	Positive	565	1	566
	Negative	2	2543	2545
Total		567	2544	3111

Relative Sensitivity : 99.8% (99.0-100.0%)*

Relative Specificity : 99.9% (99.8-100.0%)*

Overall Agreement : 99.9% (99.7-99.9%)*

*95% Confidence Interval

HBsAg		HBsAg Rapid Test		Total
		Positive	Negative	
EIA	Positive	820	1	821
	Negative	1	2134	2135
Total		821	2135	2956

Relative Sensitivity : 99.9% (99.3-100.0%)*

Relative Specificity : 99.9% (99.7-99.9%)*

Overall Agreement : 99.9% (99.8-99.9%)*

*95% Confidence Interval