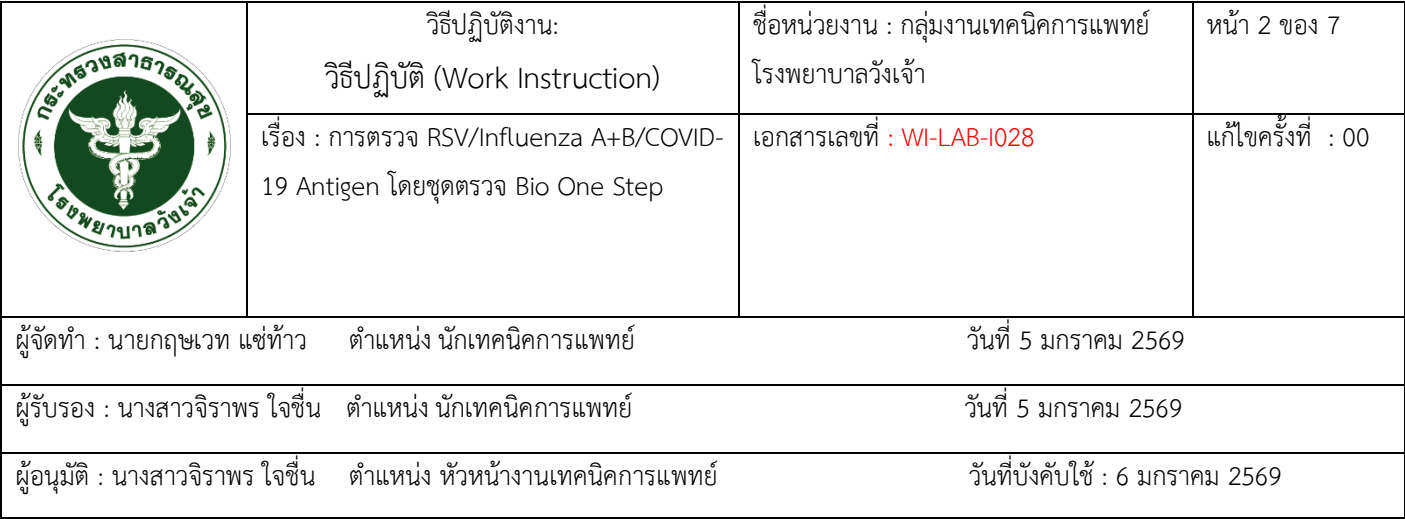


วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจ..RSV./Influenza.A+B./COVID-19.Antigen..โดยชุดตรวจ..Bio..One..Step.....

รหัสเอกสารWI-LAB-I028.....

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.....

[illegible]

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 3 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step โดยวิธีหลักการ Immunochromatographic assay ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

- 2.1 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ (Respiratory syncytial virus)
- 2.2 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (Influenza A+B)
- 2.3 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้อไวรัสโควิด (COVID-19)
- 2.4 เพื่อใช้ตรวจคัดกรองกลุ่มผู้ป่วยที่อยู่ในเขตพื้นที่ ที่มีการระบาดของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ (Respiratory syncytial virus), ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (Influenza A+B) และเชื้อไวรัสโควิด (COVID-19)

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

ใบแนบเอกสารชุดตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step โดยบริษัท Bio Chemical Technology Co,Ltd.

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

เชื้อไวรัส RSV เป็นไวรัสชนิดที่มีเปลือกหุ้ม มีชื่อเต็มว่า Respiratory syncytial virus เป็นการติดเชื้อทางเดินหายใจทั้งส่วนบนและส่วนล่าง สาเหตุมาจากไข้หวัด หวัดธรรมดาอีกเสบ ซึ่งพบได้บ่อยในเด็ก ส่วนมากอาการไม่รุนแรง มักหายป่วยภายใน 1 – 2 สัปดาห์ แต่อาจจะพบว่ามีอาการรุนแรงได้ในเด็กเล็ก โดยเฉพาะเด็กอายุน้อยกว่า 1 ปี เด็กคลอดก่อนกำหนด เด็กที่เป็นโรคหัวใจ หรือโรคปอดร่วมด้วย นอกจากนี้การติดเชื้อไวรัสอาร์เอสวีในผู้สูงอายุ อาจทำให้เกิดอาการรุนแรงเช่นเดียวกับเด็กเล็กได้

เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (Influenza virus) เป็น RNA ไวรัส อยู่ในตระกูล Orthomyxoviridae ประกอบด้วย matrix protein (M) เป็น internal antigen เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ ก่อโรคระบบทางเดินหายใจที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสอย่างเฉียบพลัน โดยลักษณะเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ตามฤดูกาล มีรูปร่างเป็นทรงกลม (spherical) หรือเป็นสาย (filamentous form) ขนาด 80-120 nm. เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ มี 3 ชนิด คือ A, B

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

และ C โดยที่ influenza A และ B มีอีโนม 8 ท่อน ส่วน influenza C มีอีโนม 7 ท่อน เปลือกนอก (surface antigen) มี haemagglutinin (HA) และ neuraminidase (NA) haemagglutinin โดยสายพันธุ์ C จะมีความรุนแรงน้อยที่สุด สายพันธุ์ B รุนแรงปานกลาง และสายพันธุ์ A มีความรุนแรงมากที่สุด ตามลำดับ โดยสายพันธุ์ที่พบได้ทั่วโลกจะเป็นสายพันธุ์ A และส่วนสายพันธุ์ B ทำให้เกิดการระบาดในพื้นที่ระดับภูมิภาค

กลุ่มเสี่ยงที่หากได้รับเชื้อแล้วอาการจะรุนแรง คือ ผู้ป่วยโรคปอด โรคหัวใจ เด็กที่มีอายุน้อยกว่า 2 ปี หญิงตั้งครรภ์ และผู้สูงอายุ

เชื้อไวรัสโควิด-19 (COVID-19) คือโรคติดต่ออุบัติใหม่ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัส โคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 ; SARS-CoV-2) พบการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสครั้งแรกในช่วงเดือนธันวาคมปี 2019 ที่ตลาดในเมืองอู่ฮั่น ประเทศจีน หลังจากนั้นเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 ได้มีการกลายพันธุ์เป็นหลากหลายสายพันธุ์และมีการแพร่ระบาดไปทั่วโลก โดยสายพันธุ์ระดับที่น่ากังวล (Variants of Concerns) หรือสายพันธุ์ที่แพร่กระจายได้ง่ายกว่าเดิม สามารถหลีกเลี่ยงภูมิคุ้มกันในร่างกายได้ดีกว่าเดิม มีทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์แอลฟา (B.1.1.7) สายพันธุ์เบต้า (B.1.351) สายพันธุ์แกมมา (P.1) สายพันธุ์เดลต้า (B.1.617.2) และสายพันธุ์โอไมครอน (B.1.1.529)

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา (COVID-19) เป็นเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิด โรคทางเดินหายใจ แพร่เชื้อได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม จากการสัมผัสใกล้ชิดกับผู้ติดเชื้อ ผ่านสารคัดหลั่ง เช่น น้ำมูก น้ำตา น้ำลาย เสมหะ หรือผ่านฝอยละออง ขนาดใหญ่ จากทางเดินหายใจที่เกิดการไอ จาม การพูดคุย โดยเข้าสู่ร่างกายได้ ทางเยื่อต่างๆ เช่น ตา จมูก ปาก

Respiratory syncytial virus คำย่อ RSV

Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 คำย่อ SARS-CoV-2

Coronavirus disease starting in 2019 คำย่อ COVID-19

5.หลักการ (Principle)

ดัดทดสอบ RSV antigen แบบรวดเร็วเชิงคุณภาพจะมีแผ่นวิเคราะห์โดยหลักการ base immunoassay สำหรับตรวจหาเชื้อ respiratory syncytial virus (RSV) ของ F-protein antigen ในตัวอย่าง nasopharyngeal swab ชุดทดสอบจะบรรจุ mouse anti-syncytial virus monoclonal antibody บนเส้นทดสอบ (T) เมื่อใส่ตัวอย่างลงไปในหลุม (S well) จะทำปฏิกิริยากับสารที่ตรึงด้วย mouse anti-syncytial virus monoclonal antibody ถ้าหากในตัวอย่างมี RSV antigen จะปรากฏเกิดสีแดงที่เส้นทดสอบ (T) และเส้นควบคุม (C) ให้ผลบวก หากในตัวอย่างไม่มี RSV antigen จะไม่ปรากฏเกิดสีแดงที่เส้น

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

ทดสอบ (T) แต่ปรากฏเกิดสีแดงที่เส้นควบคุม (C) ให้ผลลบ หากการทดสอบครั้งใดไม่ปรากฏเส้น C แนะนำให้ทำการทดสอบซ้ำด้วยตลับทดสอบใหม่เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องของการทดสอบ

ตลับทดสอบ Influenza A+B แบบรวดเร็วเชิงคุณภาพจะมีแผ่นวิเคราะห์คืออาศัย Lateral flow immunoassay base โดยใช้หลักการ double antibody sandwich สารคอนจูเกต monoclonal antibody influenza A และ influenza B จะถูกตรึงเส้นทดสอบ A และ B ถ้าหากตัวอย่างมี influenza A antigen จะทำปฏิกิริยากับ influenza A monoclonal antibody เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงที่บริเวณเส้นทดสอบ A ถ้าหากตัวอย่างมี influenza B antigen จะทำปฏิกิริยากับ influenza B monoclonal antibody เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงที่บริเวณเส้นทดสอบ B และถ้าหากตัวอย่างไม่มี influenza A antigen และ influenza B antigen จะไม่ทำปฏิกิริยากับ influenza A monoclonal antibody และ influenza B monoclonal antibody จะไม่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงที่บริเวณเส้นทดสอบ A และบริเวณทดสอบ B กระบวนการทดสอบนี้จะต้องปรากฏเส้นสีแดงที่บริเวณควบคุม (C) ทุกครั้ง หากการทดสอบครั้งใดไม่ปรากฏเส้น C แนะนำให้ทำการทดสอบซ้ำด้วยตลับทดสอบใหม่เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องของการทดสอบ

ตลับทดสอบ COVID-19 antigen แบบรวดเร็วเชิงคุณภาพจะมีแผ่นวิเคราะห์คืออาศัย Lateral flow immunoassay base โดยใช้หลักการ double antibody sandwich สารคอนจูเกต SARS-CoV-2 nucleocapsid protein monoclonal antibody เมื่อใส่ตัวอย่างจะเกิดการทำให้ปฏิกิริยากับ SARS-CoV-2 antibody conjugate เกิดเป็น antigen-antibody complex จะชะสารบนแผ่นด้วยแรง capillary action จนถึงเส้นทดสอบ (T) ที่ตรึงด้วย SARS-CoV-2 nucleocapsid protein monoclonal antibody ปรากฏสีแดงบนเส้นทดสอบ (T) ให้ผลเป็นบวก หากตัวอย่างไม่มี SARS-CoV-2 antigen จะไม่ปรากฏสีแดงบนเส้นทดสอบ (T) ให้ผลเป็นลบ กระบวนการทดสอบนี้จะต้องปรากฏเส้นสีแดงที่บริเวณควบคุม (C) ทุกครั้ง หากการทดสอบครั้งใดไม่ปรากฏเส้น C แนะนำให้ทำการทดสอบซ้ำด้วยตลับทดสอบใหม่เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องของการทดสอบ

6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

- 6.1 QP-LAB-001
- 6.2 QP-LAB-002
- 6.3 F-LAB-02.I002 แบบบันทึกผลตรวจ Rapid Test
- 6.4 F-LAB-01.008 แบบบันทึก IQC ที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์
- 6.5 F-LAB-01.009 แบบบันทึก EQA ที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดย ชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
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 Dengue NS1Ag ที่ผ่านการใช้งานในการตรวจวิเคราะห์แล้ว อาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งชุดตรวจที่ใช้แล้วลงในถังขยะติดเชื้อ
- 7.5 ชุดตรวจ Dengue NS1Ag โดยชุดตรวจ MedClear ใช้สำหรับตรวจหาเชื้อ Dengue NS1Ag ทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก เท่านั้น

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

- 8.1 ชุดตรวจ Dengue NS1Ag โดยชุดตรวจ MedClear
- 8.2 นาฬิกาจับเวลา

9.สารมาตรฐาน (Standard)

- 9.1 Serogens Control Negative Dengue NS1 Ag I
- 9.2 Serogens Control Positive Dengue NS1 Ag II

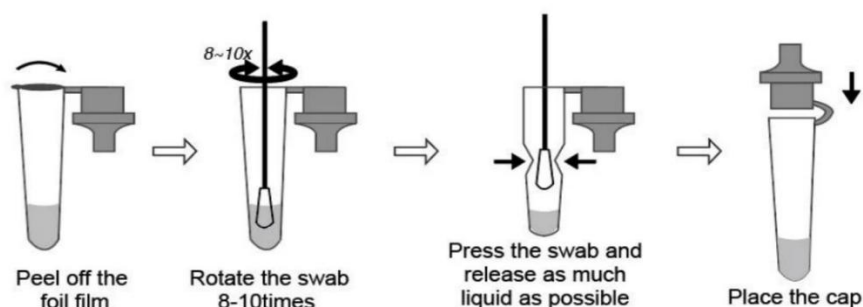
10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

- 10.1 นำชุดตรวจ มาวางไว้ให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง (15-30 °C)
- 10.2 ฉีกซองฟอยล์ ตรงบริเวณรอยตัดแล้วนำ cassette ทดสอบออกมาวางบนพื้นเรียบ
- 10.3 ฉีกซองเอาไม้ swab
- 10.4 ให้ผู้ป่วยเอียงศีรษะประมาณ 70 °
- 10.5 ใช้ไม้ swab แหย่จมูกเข้าไป หนึ่มนประมาณ 3-5 ครั้ง
- 10.6 ดึงไม้ swab ออกจากจมูกเบาๆ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 7 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		



10.7 ใช้ไม้ swab จุ่มลงในน้ำยาสกัดเชื้อหมุนประมาณ 8-10 ครั้ง บีบน้ำยาสกัดเชื้อ และปิดฝา



10.8 ใส่ตัวอย่างลงในหลุม specimen well (S) ประมาณ 2-3 หยด (ประมาณ 100 µl)



10.9 เริ่มจับเวลาและอ่านผลการทดสอบภายใน 15 นาที ไม่ควรอ่านผลหลังจาก 20 ไปแล้ว

11.การคำนวณ (Calculation)

-

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

การควบคุมคุณภาพภายใน

- การควบคุมคุณภาพภายในของชุดทดสอบนี้ คือ การมีแถบสีม่วงแดงขึ้นตรงตำแหน่งแถบควบคุม (C) ซึ่งหมายถึง ตัวอย่างตรวจได้มีการเคลื่อนที่อย่างสมบูรณ์ และเชื่อถือผลการทดสอบนี้ได้

การควบคุมคุณภาพภายนอก

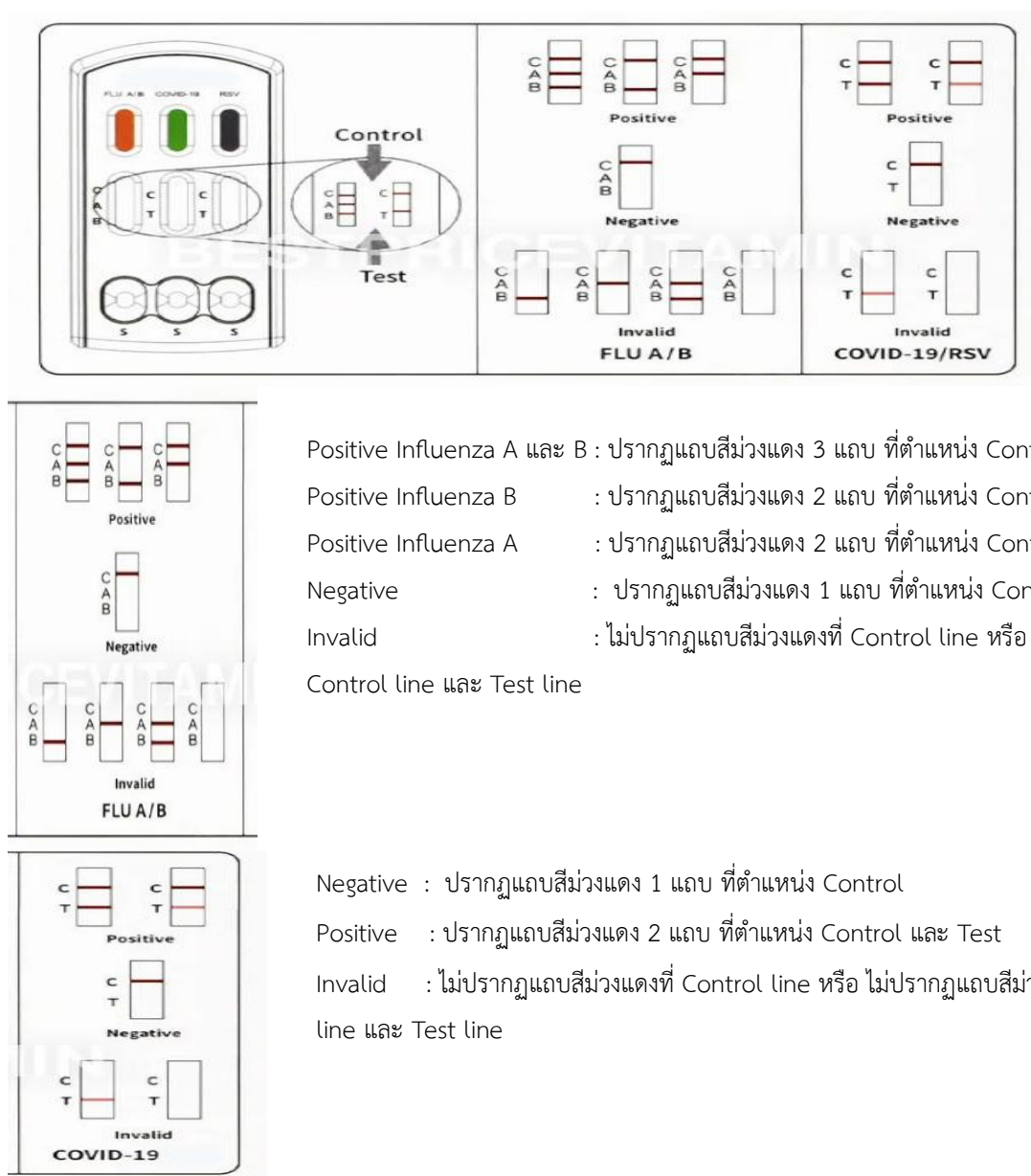
-

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 8 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกผลลงใน Work sheet และลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

14. การรายงานผล (Report of analysis)



Positive Influenza A และ B : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 3 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test A และ B

Positive Influenza B : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test B

Positive Influenza A : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test A

Negative : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control

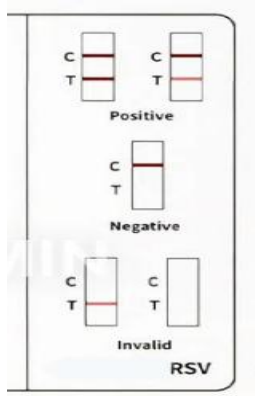
Invalid : ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line หรือ ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line และ Test line

Negative : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control

Positive : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test

Invalid : ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line หรือ ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line และ Test line

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 9 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		



Negative : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 1 แถบ ที่ตำแหน่ง Control

Positive : ปรากฏแถบสีม่วงแดง 2 แถบ ที่ตำแหน่ง Control และ Test

Invalid : ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line หรือ ไม่ปรากฏแถบสีม่วงแดงที่ Control line และ Test line

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ nasopharyngeal swab

15.2 การรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ ตรวจทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ หรือ ตรวจภายใน

1 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ

ตัวอย่าง	อุณหภูมิ	เก็บได้นาน
nasopharyngeal swab	2-8 °C	1 วัน
	-70 °C	เก็บได้ระยะเวลานานขึ้น

15.3 เก็บชุดตรวจที่อุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส

15.4 สารรบกวนปฏิกิริยา (Interfering substances) ไม่พบการรบกวนจากสารรบกวนทั่วไป เช่น ภาวะเม็ดเลือดแดงแตก ภาวะไขมันในเลือดสูง รวมถึงตัวอย่างที่มีค่ารูมาตอยด์แฟกเตอร์สูง

15.5 ความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ

Influenza A

Influenza A		RT-PCR		Total result
For Influenza A rapid test cassette	Result	Positive	Negative	
	Positive	68	1	69
	Negative	1	516	517
Total result		69	517	586

Sensitivity : 98.5% (68/69)

Specificity : 99.8% (516/517)

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 10 ของ 10
เรื่อง : การตรวจ RSV/Influenza A+B/COVID-19 Antigen โดยชุดตรวจ Bio One Step	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-I028	แก้ไขครั้งที่ : 00
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

Influenza B

Influenza B		RT-PCR		Total result
For Influenza B rapid test cassette	Result	Positive	Negative	
	Positive	52	1	53
	Negative	1	532	533
Total result		53	533	586

Sensitivity : 98.1% (52/53)

Specificity : 99.8% (532/533)

COVID-19

COVID-19 Antigen		RT-PCR		Total result
For COVID-19 Antigen rapid test cassette	Result	Positive	Negative	
	Positive	141	0	141
	Negative	0	445	445
Total result		141	445	586

Sensitivity : 100% (141)

Specificity : 100% (445)

RSV Antigen

RSV Antigen		RT-PCR		Total result
For RSV Antigen rapid test cassette	Result	Positive	Negative	
	Positive	58	1	59
	Negative	1	527	528
Total result		59	528	586

Sensitivity : 98.3% (58/59)

Specificity : 99.8% (527/528)