






แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง การตรวจ Anti-HBs

WI-LAB-062
แก้ไขครั้งที่ 2


ผู้จัดทำ ร.ต. 
(ศาสตราจารย์ ไชยพงศ์)
ผู้จัดการวิชาการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก
1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง 
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการคุณภาพ
1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ พ.อ. 
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 1 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจหา antibody ต่อ hepatitis B surface antigen (Anti-HBs) เชิงคุณภาพวิเคราะห์(qualitative test) ในตัวอย่าง serum และ plasma ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas e 601 ร่วมกับน้ำยา Elecsys Anti-HBs II Cat. No. 05894816 190
- 1.2 Anti-HBs เป็น antibody ชนิด IgG ต่อ hepatitis B surface antigen ซึ่ง Anti-HBs เกิดขึ้นหลังจากมีการติดเชื้อ hepatitis B หรือหลังจากการฉีดวัคซีน hepatitis B โดยการตรวจหา Anti-HBs II มีวัตถุประสงค์เพื่อดูความจำเป็นและความสำเร็จของการฉีดวัคซีนและใช้ติดตามการดำเนินของโรคหลังติดเชื้อ acute hepatitis B

2. หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ (principle and method of procedure used for examinations)

- 2.1 หลักการ (Principle) : น้ำยา Elecsys Anti-HBs II ใช้หลักการ ECL/Sandwich ใช้เวลาในการทดสอบ 18 นาที รายละเอียด ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 : Anti-HBs ใน sample ทำปฏิกิริยากับน้ำยา HBsAg-biotin และ HBsAg-ruthenium complex เกิดเป็น sandwich complex

ขั้นตอนที่ 2 : เมื่อเติม Streptavidin-coated microparticles ลงไป Sandwich complex จะไปเกาะที่ microparticles โดยปฏิกิริยาของ biotin และ streptavidin


- ส่วนผสมทั้งหมดจะถูกดูดเข้าไปในหลอดวัด microparticles จะถูกแม่เหล็กจับไปเกาะที่ electrode สารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาจะถูกแยกออกด้วย ProCell เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่าน electrode จะทำให้เกิด chemiluminescent emission ซึ่งจะถูกวัดโดย photomultiplier
- software ในเครื่อง cobas e 601 จะคำนวณผลการตรวจวิเคราะห์ให้อัตโนมัติด้วยวิธีเทียบสัญญาณที่วัดได้จากปฏิกิริยาของตัวอย่างกับสัญญาณของค่าตัด(cutoff) ใน calibration curve ที่ทำไว้แล้ว สัญญาณที่วัดได้จะแปรผันตามปริมาณ Anti-HBs ในตัวอย่าง การรายงานผลเป็นบวกหรือลบขึ้นอยู่กับค่า cutoff-index (COI; signal sample/cutoff).

- 2.2 วิธีการ(method) : ใช้วิธี electrochemiluminescence immunoassay “ECLIA”

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบ Anti-HBs ต่อไปนี้อ้างอิงจากใบแทรกน้ำยา Elecsys Anti-HBs II Cat. No. 05894816 190 (PI-LAB-062) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

- 3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตามแนวปฏิบัติ EP5-A2 ของ CLSI ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas e 601 ร่วมกับน้ำยา Elecsys Anti-HBs II ได้ผลดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 2 จาก 15	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	


MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 and cobas e 602 analyzers						
		Repeatability		Intermediate precision (6 runs per day in duplicate each for 10 days) (n = 84)		ผลการ ตรวจสอบ
Sample	Mean IU/L	SD IU/L	CV %	SD IU/L	CV %	Pass
Human serum 1	<2.00	-	-	-	-	Pass
Human serum 2	10.2	0.248	2.4	0.288	2.8	Pass
Human serum 3	507	6.41	1.3	9.23	1.8	Pass
PreciControl A-HBS1	<2.00	-	-	-	-	Pass
PreciControl A-HBS2	81.8	0.814	1.0	1.58	1.9	Pass

หมายเหตุ :-

- Repeatability = within-run precision เป็นการประเมินความคาดเคลื่อน (error) ในระยะเวลา short-term imprecision ทำโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำๆ กันภายในเวลาเดียวกัน ทำภายในห้องปฏิบัติการเพียงแห่งเดียว ผู้วิเคราะห์เพียงคนเดียว เครื่องมือที่ใช้มีเพียงเครื่องเดียวและใช้วิธีวิเคราะห์ เดียว
- Intermediate precision = within-laboratory precision/between-run เป็นการประเมินความคาดเคลื่อน (error) ในระยะเวลา long-term imprecision ทำโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำๆ กัน เป็นเวลาติดต่อกันหลายวัน ผู้วิเคราะห์หลายคน และเครื่องมือหลายเครื่อง
- Device precision หรือ Total precision เป็นความคาดเคลื่อน (error) ที่ได้จากการคำนวณจาก ทั้ง repeatability (within-run precision) และ intermediated precision (between-run precision)
- COI = Cutoff index
- HS = Human serum
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

3.2 Analytical specificity

ทำการทดสอบหา cross reaction กับสิ่งส่งตรวจมากกว่า 8 ชนิด ไม่พบว่ามี false positive กับสิ่งส่งตรวจที่มี antibody ต่อ HAV, HCV, HEV, CMV, EBV, HIV, Rubella, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, rheumatoid arthritis, autoimmune response or alcoholic liver disease

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 3 จาก 15	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

3.3 Relative sensitivity

ทำการทดสอบโดยใช้สิ่งส่งตรวจ 669 ราย โดยสิ่งส่งตรวจจำนวน 296 รายเป็นผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน ในขณะที่อีก 373 ราย เป็นคนไข้ที่หายจากการติดเชื้อ HBV infection โดยตรวจด้วยน้ำยา Elecsys Anti-HBs II assay และ commercially available fully automated anti-HBs assay ในรายที่มีผลที่แตกต่างกัน ได้รับการทดสอบจาก Additional anti-HBs assays โดยได้ผลดังนี้

Characterization of samples	N	Elecsys Anti-HBs II reactive	Anti-HBs comparison test reactive	Sensitivity %
Anti-HBs positive: vaccinees	296	296	296	100
Anti-HBs positive: recovered from a hepatitis B infection	373	373	373	100
Total	669	669	669	100


3.4 Relative specificity

ประสิทธิภาพของ Elecsys Anti-HBs II assay ถูกตรวจวัดได้โดยใช้สิ่งส่งตรวจ 2673 ราย จาก Anti-HBs Negative donors โดยใช้การตรวจจากสองห้องปฏิบัติการ และอีก 1623 รายที่ Anti-HBs Negative จากห้องปฏิบัติการอีกสามแห่ง ผลได้ตามตาราง

Characterization of samples	N	Elecsys Anti-HBs II false positive	Specificity %
Anti-HBs negative: blood donors	2673	6	99.78
Anti-HBs negative: routine samples	1623	9	99.45

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Serum จากหลอดเก็บมาตรฐาน ไม่ควรใช้หลอดที่มี separating gel เพราะ gel อาจมีการฟุ้งออกมาปนในส่วนของ serum

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 4 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

4.2 Plasma ใช้ : K2-EDTA, K3-EDTA จากหลอดเก็บมาตรฐาน (Li-heparin plasma จะมีค่าต่ำกว่าใน serum ประมาณ 20% และ Sodium citrate plasma จะมีค่าต่ำกว่าใน serum ประมาณ 30%)

4.3 ความคงตัวของตัวอย่าง

ชนิดตัวอย่าง	อุณหภูมิ	ความคงตัว
ตัวอย่างที่เก็บจาก living patients และ donor specimens	20-25°C	3 วัน
	2-8°C	6 วัน
	(-15)-(-25) °C	3 เดือน แช่แข็งแล้วละลายใช้ซ้ำได้ 5 ครั้ง

4.4 ข้อควรระวังเกี่ยวกับความคงทนของตัวอย่าง มีดังนี้

- ถ้าสิ่งส่งตรวจมีตะกอน ต้องปั่นแยกตะกอนก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์
- ห้ามนำสิ่งส่งตรวจไปผ่านความร้อน
- ห้ามยืดอายุการเก็บสิ่งส่งตรวจด้วย Azide
- Serum/Plasma, calibrator และ control ทุกชนิดต้องมีอุณหภูมิ 20-25 °C ก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์
- เพื่อป้องกันการระเหยของสิ่งตัวอย่าง calibrator และ control ภายในเครื่อง ควรตรวจวิเคราะห์ภายใน 2 ชั่วโมง
- ในกรณีที่ใช้ Primary tube เข้าเครื่อง ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิต tube อย่างเคร่งครัด


5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

การตรวจ Anti-HBs ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด แต่ถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อผลการตรวจ Anti-HBs แต่ความขุ่นของไขมัน (chylomicrons) ในอาหารมีผลกระทบต่อวิธีที่ใช้วิเคราะห์รายการทดสอบอื่นๆ ที่ใช้ตัวอย่างตรวจร่วมกันกับ Anti-HBs การอดอาหาร 8-16 ชั่วโมง จะทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้องน่าเชื่อถือกว่า

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Anti-HBs ได้แก่

- 6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีแดง)ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้ในงานประจำวัน สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ
- 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี K₂-EDTA, K₃-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Anti-HBs แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 เท่านั้น

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 5 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

6.2 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์

- 6.2.1 หลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นขนาด 13x75 mm. ในข้อ 6.1 ที่ปั่นแยก serum หรือ Plasma แล้ว
- 6.2.2 Hitachi cup เป็น sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (100 ไมโครลิตร)
- 6.2.3 Hitachi micro cup เป็น Sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (50 ไมโครลิตร)
- 6.2.4 หลอดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง(Plain tube) ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (500 ไมโครลิตร)

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)


- 7.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ : ใช้เครื่อง cobas e 601 ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่อง cobas c 501, Control unit และ Core unit เป็นระบบวิเคราะห์ที่เรียกชื่อว่า cobas 6000 analyzer series ทุกส่วนเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Roche Diagnostic ประเทศเยอรมัน
- 7.2 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่น
- 7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา Elecsys Anti-HBs II Cat. No. 05894816 190 เป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน(ready-to-use) บรรจุในรูปแบบ Reagent rackpack ติดฉลาก “Anti-HBs II” ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 ชุดตรวจได้ 100 Tests
 - 7.3.1 ความคงทนและวิธีการเก็บรักษา Anti-HBs II reagent rackpack
 - 7.3.1.1 เก็บน้ำยาดังขวดขึ้นเสมอ เมื่อยังไม่เปิดใช้งาน
 - 7.3.1.2 เก็บน้ำยาที่ 2-8 °C จะมีความคงตัวจนถึงวันสิ้นอายุที่ระบุไว้ข้างภาชนะบรรจุน้ำยา
 - 7.3.1.3 หลังจากเปิดใช้แล้ว น้ำยามีความคงทนที่ 2-8 °C นาน 8 สัปดาห์
 - 7.3.1.4 เมื่อน้ำยาอยู่ในเครื่อง cobas e 601 จะมีความคงทนนาน 8 สัปดาห์ ถ้าวางต่อเนื่องในเครื่อง cobas e 601 ที่ 20-25 °C ตลอดเวลา
 - 7.3.2 สารเคมีใน Anti-HBs II reagent rackpack (M, R1, R2) มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

M	Streptavidin-coated microparticles (transparent cap), 1 bottle, 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles 0.72 mg/mL; preservative.
R1	HBsAg~biotin (gray cap), 1 bottle, 10 mL: Biotinylated HBsAg (ad/ay) human/recombinant, > 0.5 mg/L; MESb) buffer 85 mmol/L, pH 6.5; preservative.
R2	HBsAg~Ru(bpy) (black cap), 1 bottle, 8 mL: HBsAg (ad/ay) human/recombinant, labeled with ruthenium complex > 0.3 mg/L; MES buffer 85 mmol/L, pH 6.5; preservative.

7.4 สารมาตรฐาน :-

- 7.4.1 ใช้ Calibrators 2 ระดับ ดังต่อไปนี้

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 6 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Anti-HBSII Cal1 Calibrator 1 (white cap), 2 bottles of 1.3 mL each: Anti-HBs (human) in human serum; preservative.

Anti-HBSII Cal2 Calibrator 2 (black cap), 2 bottles of 1.3 mL each: Anti-HBs (human) in human serum; preservative.

7.4.2 ความคงทนและการเก็บรักษา calibrators

7.4.2.1 เก็บรักษา calibrator ใน snap-cap bottles(CalSet Vials) ให้ตั้งขวดขึ้นเสมอเพื่อป้องกัน calibrator solution เกาะที่ฝาปิด(snap-cap)

7.4.2.2 เก็บรักษาที่ 2-8 °C จะมีความคงตัวจนถึงวันสิ้นอายุที่ระบุไว้ข้างขวดบรรจุ calibrator

7.4.2.3 หลังจากเปิดใช้แล้ว มีความคงทนที่ 2-8 °C นาน 8 สัปดาห์

7.4.2.4 เมื่อนำออกมาจากตู้เย็นและวางอยู่ในเครื่อง cobas e 601 ที่ 20-25 °C แล้ว จะใช้ได้เพียงครั้งเดียว ให้ถือว่าหมดอายุทันทีหลังจากใช้งานแล้ว

7.5 สารควบคุมคุณภาพ : ใช้ PreciControl Anti-HBs, for 16 x 1.3 mL

7.6 อุปกรณ์ประกอบการทดสอบ(Accessories for **cobas e 601**)

7.6.1 ProCell M (system buffer) มีสาร TPA ที่ใช้ในขั้นตอนการวัดในหลักการ ECL

7.6.2 CleanCell M (measuring cell cleaning solution) ใช้ล้าง measuring cell หลังการวัด

7.6.3 PC/CC-cups (prewarm ProCell M and CleanCell M before use)

7.6.4 ProbeWash M (cleaning solution for run finalization and rinsing during reagent change) ใช้ล้าง Reagent probe ในบางการทดสอบ เพื่อป้องกัน carry over

7.6.5 AssayTip/AssayCup combimagazine M

7.6.6 WasteLiner (Waste bags)

7.6.7 SysClean Adapter M

7.6.8 Elecsys SysClean

7.6.9 Deionized water

7.6.10 Elecsys 2010 Assay cup (reaction vessels)

7.6.11 Elecsys 2010 Assay Tip (pipette tip)

7.6.12 Hitachi cup สำหรับใส่ตัวอย่าง กรณีไม่สามารถใช้ Primary tube


7.6.13 Rack มี 5 ชนิด ได้แก่ Rack สีดำ สำหรับวาง calibrator, Rack สีขาว สำหรับวาง control, Rack สีเทา สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Routine, Rack สีแดง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น STAT และ Rack สีเขียว ใช้เพื่อบำรุงรักษาเครื่อง

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

8.1 ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น

8.2 ใช้ความระมัดระวังการปฏิบัติงานตามหลักสากล

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 7 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

8.3 ต้องสวมถุงมืออย่างขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่อาจปนเปื้อนในตัวอย่างตรวจ เช่น HIV, HBsAg เป็นต้น

8.4 ต้องสวมเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการหกเลอะเทอะของตัวอย่างตรวจและน้ำยาตรวจวิเคราะห์

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

9.1 ข้อกำหนดในการสอบเทียบ

9.1.1 ทำการสอบเทียบน้ำยา Elecsys Anti-HBs II ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas e 601 เมื่อเปิดใช้งานน้ำยา Elecsys Anti-HBs II ครั้งแรก หรือน้ำยาเปลี่ยนรุ่นการผลิต(Lot) ใหม่ และทำการสอบเทียบซ้ำอีกครั้ง(Renewed-calibration) เมื่อ

- ครบระยะเวลา 1 เดือน (28 วัน) เมื่อใช้น้ำยา lot. เดียวกัน
- ครบระยะเวลา 7 วัน (เมื่อใช้น้ำยาขวดเดียวกันบนเครื่อง)
- ตามความต้องการ เช่น มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไขปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่(re-calibration)

9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบต้องไม่หมดอายุ ประกอบด้วย

- A-HBSII Cal1 (white cap), 2 bottles of 1.3 mL
- A-HBSII Cal2 (black cap), 2 bottles of 1.3 mL

ในกล่องน้ำยาทุกกล่องจะมี Anti-HBSII cal1 และ cal2 พร้อมกับมีแถบ barcode มาให้ สำหรับ Range (IU/L) ของ A-HBSII Cal1 เครื่อง cobas e 601 อยู่ระหว่าง 4 - 15 ส่วน A-HBSII Cal2 เครื่อง cobas e 601 อยู่ระหว่าง 200 - 700 ค่าความเข้มข้นที่แน่นอนของน้ำยาแต่ละรุ่นการผลิต (lot-specific) จะถูกใส่ข้อมูลไว้ในแถบรหัส (barcode) สารมาตรฐานเป็นแบบสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน

9.2 วิธีการสอบเทียบ

9.2.1 นำสารสอบเทียบที่บรรจุอยู่ใน snap-cap bottles(CalSet Vials) ออกมาจากตู้เย็น ก่อนใช้ให้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 20 - 28 องศาเซลเซียส) ไม่น้อยกว่า 15 นาที

9.2.2 calibrate น้ำยา Anti-HBs II โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ calibration” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)


10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมเครื่องมือ น้ำยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์


10.1.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์

10.1.1.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำ Daily begin เวลา 05.00 น. โดยอัตโนมัติ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 8 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 10.1.1.2 ลงชื่อเข้า(Operator ID) และรหัสผ่าน(Password) เพื่อเข้าใช้งานระบบ (logon)เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas 6000
 - 10.1.1.3 ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ำยา Auxiliary ได้แก่ ProCell M, CleanCell M และ PleClean M ซึ่งทำได้ทั้งในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby และ Operation ถ้าน้ำยาในขวดที่ใช้งานอยู่หมด จะมีไฟกระพริบเหนือขวด ให้ใส่น้ำยาขวดใหม่เข้าไปแทน แล้วกดปุ่มไฟที่กระพริบอยู่เหนือขวดน้ำยาที่เปลี่ยนเพื่อ update ข้อมูลปริมาณน้ำยาในเครื่อง สำหรับน้ำยา PleClean M ขวดใหม่ที่ใส่เข้าไปแทนขวดที่หมด ให้คลายเกลียวฝาน้ำยาเล็กน้อย
 - 10.1.1.4 ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ำยา Probe Wash M ทำได้ในขณะเครื่องอยู่ในสถานะ Standby เท่านั้น
 - 10.1.1.5 เติมน้ำยา combi Rack (Assay Tip และ Assay Cup และทั้งส่วนทั้งหมดแล้ว ซึ่งทำได้ทั้งในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby และ Operation ตอนไฟแสดงสถานะที่อยู่ด้านบนเป็นไฟติดนิ่งเท่านั้น
 - 10.1.1.6 เปลี่ยน Solid waste containerซึ่งทำได้ทั้งในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby และ Operation ตอนไฟแสดงสถานะที่อยู่ด้านบนเป็นไฟติดนิ่งเท่านั้น
 - 10.1.2 วิธีการเตรียมน้ำยาวิเคราะห์ (reagent preparation)
 - 10.1.2.1 นำ Anti-HBSII reagent rackpack ออกจากตู้เย็น ตั้งทิ้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง เปิดฝาน้ำยาและตรวจสอบว่าไม่มีฟองอากาศในน้ำยาทั้งสามขวด แล้วจึงปิดฝาโดยไม่ต้องกดให้แน่น
 - 10.1.2.2 เชียนวันเปิดใช้บน Anti-HBSII reagent rackpack ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
 - 10.1.2.3 เมื่อเครื่องอยู่ในสถานะ Stand by ให้เปิดฝา Reagent disk ออก แล้ววาง Anti-HBSII reagent rackpack ลงใน reagent disk โดยหันขวดสีขาวอยู่ชิดขอบนอก
 - 10.1.2.4 เมื่อเติมน้ำยาครบแล้วให้ปิดฝา Reagent disk เครื่องจะ Register น้ำยาโดยอัตโนมัติ ระหว่างที่เครื่อง register น้ำยายังไม่เสร็จ ห้ามเปิดฝา Reagent disk หรือดึง magazine drawer ออกมาโดยเด็ดขาด
 - 10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ
 - 10.1.3.1 สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธส่งตรวจ
 - 10.1.3.2 สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวนการทดสอบ
 - 10.1.3.3 เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจ Serum/Plasma แล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองอากาศหรือก้อนไฟรินลอยอยู่ และส่วนที่เป็น Serum/Plasma ควรมีปริมาตรอย่างน้อย 500 μ L
 - 10.2 ถ้ายังไม่มีกรทดสอบเทียบน้ำยา Anti-HBSII Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.
 - 10.3 ถ้ายังไม่มีกรตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น ให้ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 11.
- เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 9 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 10.4 นำตัวอย่างผู้ป่วยเข้าเครื่อง cobas e 601 ผ่าน core unit ของเครื่อง cobas 6000 analyzer series โดยสามารถใช้ Primary tube ขนาด 13x75 mm. ที่มีตัวอย่างไม่น้อยกว่า 500 ไมโครลิตร (sample dead volume 500 uL) วางบน Rack สีเทา(กรณีไม่เร่งด่วน)หรือ Rack สีแดง(กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 uL) ใส่ใน Sample cup (Hitachi cup) วางบน Rack
- 10.5 สั่งทำการตรวจวิเคราะห์และเรียกดูผลตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065) โดยเครื่อง cobas e 601 จะทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบอัตโนมัติ ตาม test-specific parameters ที่กำหนดไว้ใน reagent barcode
- 10.6 รายงานผล เป็น reactive หรือ non-reactive พร้อมแสดงค่า IU/L

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)


11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

ให้อ้างอิงรายละเอียดจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

- 11.1.1 Internal Quality Control ที่ใช้ Elecsys PreciControl Anti-HBS ประกอบด้วย Control 1 และ Control 2 ค่าความเข้มข้นที่แน่นอนของน้ำยาแต่ละรุ่นการผลิต (lot-specific) จะถูกใส่ข้อมูลไว้ในแถบรหัส (barcode card และ barcode transfer sheet) ผลการควบคุมคุณภาพต้องอยู่ในช่วงที่กำหนด ผลการทดสอบของผู้ป่วยจึงจะเชื่อถือได้
- 11.1.2 ไม่ต้องมีขั้นตอนในการ download ข้อมูล lot ของคอนโทรล เนื่องจากเครื่อง cobas e 601 สามารถอ่านข้อมูลจาก barcode ของ control ได้ ผลการควบคุมคุณภาพถูกบันทึกไว้ในเครื่องคอมพิวเตอร์ที่เป็น Control unit ในเมนู Control และมีโปรแกรม TIQCon ช่วยบันทึกและประมวลผลข้อมูลการควบคุมคุณภาพอีกทางหนึ่งด้วย
- 11.1.3 การเตรียมตัวอย่าง Internal quality control
 - 11.1.3.1 สารควบคุมคุณภาพ Elecsys PreciControl Anti-HBs เป็นแบบพร้อมใช้งาน และออกแบบขวดที่บรรจุมาให้เข้ากับระบบที่ใช้
 - 11.1.3.2 สารควบคุมคุณภาพ ควรตั้งทิ้งไว้ในเครื่องวิเคราะห์ในระหว่างการปฏิบัติงานควบคุมคุณภาพเท่านั้น หลังการใช้งาน ให้ปิดฝาขวดทันที และเก็บในแนวตั้งที่ 2-8 องศาเซลเซียส
 - 11.1.3.3 เนื่องจากอาจเกิดผลกระทบจากการระเหยได้ จึงไม่ควรทำการควบคุมคุณภาพโดยใช้สารควบคุมขวดเดียวกัน เกินกว่า 7 ครั้ง
 - 11.1.3.4 ควรทำการควบคุมคุณภาพอย่างน้อยทุก ๆ 24 ชั่วโมง เมื่อมีการใช้น้ำยา

11.2 วิธีการควบคุมคุณภาพ

- 11.2.1 ให้นำ PreciControl Anti-HBs 1 และ PreciControl Anti-HBs 2 ออกมาจากตู้เย็นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 20 - 28 องศาเซลเซียส) ไม่น้อยกว่า 15 นาที กลับขวดไปมาเบา ๆ เพื่อให้ตัวอย่างของสารควบคุมคุณภาพเป็นเนื้อเดียวกันก่อนการนำเข้าเครื่องเอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 10 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

11.2.2 สั่งให้เครื่องทำ control โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ Control” ในคู่มือปฏิบัติงาน Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)

11.2.3 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ Anti-HBs ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) เนื่องการทดสอบ Anti-HBs เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ(Qualitative) ที่สามารถอ่านผลเป็นเชิงกึ่งปริมาณ(Semi-Quantitative) ต้องพิจารณาความเหมาะสมของการประยุกต์ใช้กฎการควบคุมต่างๆ จึงกำหนดระดับและกฎเกณฑ์ของการติดตามเพื่อควบคุมคุณภาพการทดสอบ Anti-HBs ดังต่อไปนี้

11.2.3.1 ระดับจับตามอง(warning Limit) : โดยใช้กฎ $\pm 2SD$

11.2.3.2 ระดับที่ต้องปฏิบัติการแก้ไข(Action Limit) : โดยใช้กฎ $\pm 3SD$, 22S

11.2.3.3 Shift and Trend :-

- Shift หมายถึง การที่ผล QC ตกอยู่เหนือหรือใต้ mean 6 ค่าติดต่อกัน แม้ว่าค่าจะยังคงอยู่ภายใน $\pm 1SD$ หรือ $\pm 2SD$ อาจเกิดจากเปลี่ยนชุดตรวจ Lot ใหม่ที่แตกต่างจากเดิม มีการปรับแก้เครื่องมือ หรือเปลี่ยน calibrator เป็นต้น
- Trend หมายถึง ความผิดปกติมีลักษณะค่อยเป็นค่อยไป พบค่า QC ค่อยๆ ลดลงหรือเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 6 ค่า ติดต่อกัน ซึ่งอาจเกิดจากการเสื่อมของเครื่องมือหรือชุดตรวจ เป็นต้น


11.2.3.4 การติดตามความเปลี่ยนแปลงโดยคำนวณข้อมูลสะสม : ได้แก่

- ค่า Mean ของข้อมูลสะสมมีการเปลี่ยนแปลง อาจสูงขึ้นหรือต่ำลงกว่าเดิม ซึ่งกระทบต่อ Accuracy อาจเกิดจาก การปรับแต่งเครื่องมือ เปลี่ยน Lot ชุดตรวจหรือ calibrator หรือ Kit control
- SD, CV ของข้อมูลสะสมเปลี่ยนแปลง อาจกว้างขึ้นหรือแคบลงกว่าเดิม บ่งชี้ว่า ความแม่นยำของระบบวิเคราะห์เปลี่ยนไปจากเดิม อาจเกิดจาก เครื่องมือเสื่อม เปลี่ยนบุคลากรใหม่ เครื่องมือหรือชุดตรวจไม่เหมือนเดิม

11.2.4 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Anti-HBs มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพ พิจารณาสั่งงดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการ คุ้มกันวิทยาคลินิกและ ผู้เกี่ยวข้อง ร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่ทำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025)

หมายเหตุ : TIQCon is Web base peer group comparison tool(inter-laboratory) for Roche SWA customers using Roche manufactured controls.

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 11 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

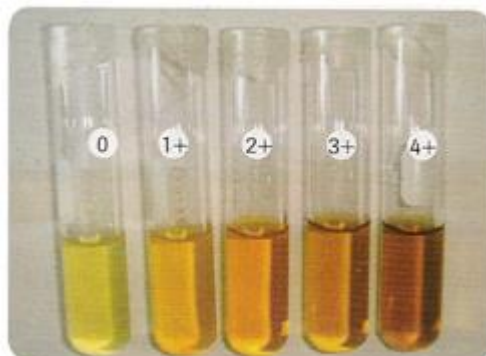
การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดและเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ ดังนี้

- 12.1 ให้ห้องปฏิบัติการสมัครเข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกโดยองค์กรภายนอก : การตรวจไวรัสตับอักเสบบี (EQAI : Hepatitis B Virus Serology) เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ HBV ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิกและเทคโนโลยีประยุกต์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ความถี่ในการประเมิน 4 รอบ/ปี จำนวนตัวอย่าง 4 ตัวอย่างต่อรอบ
- 12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า Anti-HBs โดยการตรวจพร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้ในแบบรายงานผล
- 12.3 เมื่อโปรแกรมการทดสอบความชำนาญการตรวจ Anti-HBs ประเมินผลเสร็จแล้วให้นำรายงานผลมาเก็บไว้ใช้ทบทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ
- 12.4 ผู้จัดการวิชาการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลประเมินการทดสอบความชำนาญการตรวจ Anti-HBs ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกันในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

13.1 Serum/Plasma ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ Anti-HBs

ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา	ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกิดปริมาณ
Icterus	bilirubin < 30 mg/dL	4+
Hemolysis	Hemoglobin ≤ 1.00 g/dL	1+
Lipemic (Intralipid)	Intralipid < 1500 mg/dL	4+
biotin	Biotin < 8 ng/mL	



ซีรัมเหลือง (Icteric serum)

Bilirubin concentration

1+ = 2.5 mg/L = 0.25 mg/dL

2+ = 5.0 mg/L = 0.50 mg/dL

3+ = 10.0 mg/L = 1.00 mg/dL

4+ = 20.0 mg/L = 2.00 mg/dL



ซีรัมที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolysed serum)

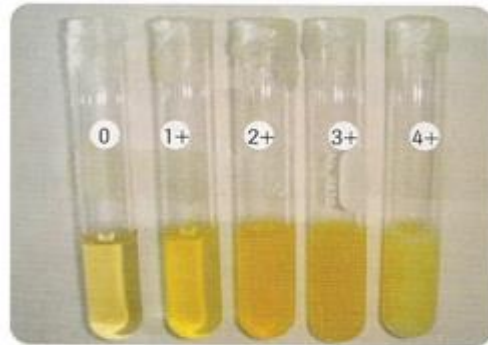
Hemoglobin concentration

1+ = 0.9 g/L = 90 mg/dL

2+ = 1.8 g/L = 180 mg/dL

3+ = 3.5 g/L = 350 mg/dL

4+ = 6.7 g/L = 670 mg/dL



ซีรัมขุ่นมีไขมัน (Turbid serum)

Absorbance 660 นาโนเมตร


1+ = 0.4

2+ = 0.8

3+ = 1.0

4+ = 1.2

- 13.2 ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดยรับ biotin ในขนาดสูง (> 5 mg/day) จะสามารถเจาะเลือดตรวจได้หลังจากได้รับยาครั้งสุดท้าย ไม่น้อยกว่า 8 ชั่วโมง
- 13.3 Rheumatoid factor ไม่เกิน 1,200 IU/mL ไม่รบกวนการทดสอบ
- 13.4 จากการทดสอบยาที่ใช้ทั่วไป (common drugs) ไม่รบกวนการทดสอบ
- 13.5 ไม่พบ high-dose hook effect ในความเข้มข้นของ Anti-HBs ไม่เกิน 200,000 IU/ml
- 14 หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอนของการวัด (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)
- 14.1 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์
คอมพิวเตอร်ซอฟต์แวร์ในเครื่องเครื่อง cobas e 601 จะคำนวณ IU/L ให้อัตโนมัติจากการตรวจวัดค่าของ Anti-HBs II Cal1 and Anti-HBs II Cal2 ในขั้นตอนการสอบเทียบ โดยผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจะถูกรายงานผลเป็น reactive หรือ non-reactive อย่างไม่อย่างหนึ่งตามผลการคำนวณค่า IU/L
- 14.2 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด -
- 15 ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก (biological reference intervals or clinical decision values)
Negative ซึ่งมีค่า < 10 IU/L

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 13 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

16 ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า AMR (Analytical Measurement Range) 2.00-1000 IU/L

(Defined by the Limit of Detection and the maximum of the master curve). Values below the Limit of Detection are reported as 1000 IU/L (or up to 100000 IU/L for 100-fold diluted samples).

17 คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด (instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)

- Samples with anti-HBs concentrations above the measuring range can be diluted with Diluent Universal.
- The recommended dilution is 1:100 (either automatically by the analyzers or manually).
- The concentration of the diluted sample must be > 10 IU/L.
- After manual dilution, multiply the result by the dilution factor.
- After dilution by the analyzers, the software automatically takes the dilution into account when calculating the sample concentration.
- Manual dilution can also be made with negative human serum.
-

18 ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

-

19 การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผล

ค่าปกติ < 10 IU/L หมายถึง Non-reactive

≥ 10 IU/L หมายถึง Reactive

19.2 Anti-HBs เป็น antibody ชนิด IgG ต่อ hepatitis B surface antigen ซึ่ง Anti-HBs เกิดขึ้นหลังจากมีการติดเชื้อ hepatitis B หรือ หลังจากการฉีดวัคซีน hepatitis B

19.3 การตรวจหา anti-HBs มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามและประเมินความสำเร็จของการฉีดวัคซีน และใช้ติดตามการดำเนินของโรคหลังติดเชื้อ acute hepatitis B

20 แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.2 น้ำยา (Reagent)


20.2.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ

20.2.2 เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน Anti-HBs II cassette อันใหม่

20.2.3 มีฟองอากาศ ปริมาณไม่เพียงพอ

20.2.4 เก็บรักษา Anti-HBs II cassette โดยไม่ตั้งให้ตรงอาจทำให้เกิดฟองอากาศ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 14 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

20.3 สารสอบเทียบ (Calibrator)


- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด (การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง (freeze-thaw) ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก (ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator
- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นาน หรือนำ Calibrator ที่เหลือซึ่งผ่านการใช้แล้วมาใช้สอบเทียบซ้ำอีก
- เปลี่ยน lot ใหม่
- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.4 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration (การทำ Re-calibration ไม่ควรเกิน 28 วัน สำหรับน้ำยา Anti-HBs II Lot เดิมและ ไม่เกิน 7 วัน สำหรับน้ำยาที่ใช้งานอยู่กล่องเดิม)
- Measurement syringe รั่ว/เสื่อม
- หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ หรือเปลี่ยนอะไหล่ใหม่ เช่น source Lamp, reagent probe, sample probe แล้วไม่ได้ calibration ใหม่
- ทำ maintenance check หรือทำ preventive maintenance เลยวงรอบหรือไม่ทำตามเงื่อนไขคำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด

20.5 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (Sample)

- ตัวอย่างมีการ clot ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องวิเคราะห์
- ตัวอย่างมีการระเหยเนื่องจากตั้งทิ้งไว้นานเกินไปก่อนถูก sample probe ตูตไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ Hitachi cup/Hitachi micro cup

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Anti-HBs	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-062	หน้า หน้า 15 จาก 15
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

21 เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.2 ใบแทรกน้ำยา Anti-HBs II (PI-LAB-062)
- 21.3 คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)
- 21.4 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.5 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22 ภาคผนวก : -



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร.....WI-LAB-062 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Anti-HBs

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายศาสตร์ศิลป์ฯ
1 พ.ย. 63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์ฯ
1 พ.ย. 64	1/2	แก้ไข ข้อ 4.3 ความคงตัวของตัวอย่าง	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์ฯ
1 ก.พ. 66	2	แก้ไข ข้อ 11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ เนื่องจากอาจเกิดผลกระทบจากการระเหยได้ จึงไม่ ควรทำการควบคุมคุณภาพโดยใช้สารควบคุมขวด เดียวกัน เกินกว่า 7 ครั้ง และควรทำการควบคุม คุณภาพอย่างน้อยทุก ๆ 24 ชั่วโมง เมื่อมีการใช้ น้ำยา	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์ฯ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขล่าสุด

