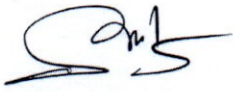
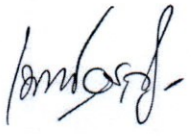






วิธีปฏิบัติงาน  
เรื่อง

การตรวจ TPHA

โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

จัดเตรียมเอกสารโดย	ตรวจสอบเอกสารโดย	อนุมัติใช้เอกสารโดย
		
(ทพ.พนัทร แสนจักร) นักเทคนิคการแพทย์	(ทพญ.เบญจมาศ อรุณпас) ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	(ทพญ.เบญจพร แก้วคำใต้) ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-023	00		1 สิงหาคม 2562

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า <b>2</b> จาก <b>8</b>
	เรื่อง : การตรวจ TPHA	MSUH-WI-LAB-023	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		


การควบคุมระบบเอกสารคุณภาพ

แก้ไข ครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติการแก้ไข	วันที่เริ่มใช้เอกสาร ฉบับแก้ไข

บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า <b>3</b> จาก <b>8</b>
	เรื่อง : การตรวจ TPHA	MSUH-WI-LAB-023	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

### 1. วัตถุประสงค์


เพื่อใช้เป็นคู่มือการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคซิฟิลิสทางห้องปฏิบัติการให้แก่ผู้ช่วยและเพื่อให้แพทย์วินิจฉัยการติดเชื้อก่อโรคซิฟิลิส

### 2. นิยามและคำย่อ

TPHA            Treponema pallidum haemagglutination

### 3. หลักการของวิธีการทดสอบ

บนผิวของแผ่นไนโตรเซลลูโลสที่บริเวณทดสอบ (Test region) จะตรึงไว้ด้วยรีคอมบิแนนท์แอนติเจนของเชื้อ *Treponema pallidum* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคซิฟิลิสส่วนบริเวณควบคุม (Control region) จะถูกเคลือบด้วยแอนติบอดีต่อเชื้อ *Treponema pallidum* ซึ่งสกัดมาจากแพะและบริเวณกระดาษซับทองคำ (Gold pad) ซึ่งอยู่ระหว่างกระดาษซับสีส่งตรวจกับแผ่นไนโตรเซลลูโลสจะฝังไว้ด้วยรีคอมบิแนนท์แอนติเจนของเชื้อ *Treponema pallidum* ที่เชื่อมไว้กับคอลลอยด์ทองคำเอาไว้ การตรวจวิเคราะห์เริ่มต้นด้วยการหยดสิ่งส่งตรวจลงในช่องสำหรับสิ่งส่งตรวจ 10 ไมโครลิตรสำหรับสิ่งส่งตรวจที่เป็นซีรัมหรือพลาสมาจากนั้นเติมน้ำยา diluent ลงไป 3-4 หยดสิ่งส่งตรวจจะถูกดูดซับจากส่วนล่างของแถบทดสอบและเคลื่อนที่ผ่านขึ้นมาบริเวณที่มีรีคอมบิแนนท์แอนติเจนของเชื้อ *Treponema pallidum* ที่เชื่อมไว้กับคอลลอยด์ทองคำอยู่แอนติบอดีในสิ่งส่งตรวจที่จำเพาะกับแอนติเจนของเชื้อ *Treponema pallidum* ที่เชื่อมไว้กับคอลลอยด์ทองคำจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและเคลื่อนที่ไปตามแผ่นไนโตรเซลลูโลสด้วยวิธีการซึมผ่าน (โครมาโตกราฟี) ส่วนบริเวณทดสอบและบริเวณควบคุมตามลำดับ

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : การตรวจ TPHA	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-023	หน้า <b>4</b> จาก <b>8</b>
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

### รายละเอียดที่ต้องตรวจสอบ

#### ข้อมูล Performance specification

ความไวและความจำเพาะ (sensitivity and specificity)


ชุดตรวจ SD BIOLINE Syphilis 3.0 ทำการทดสอบเทียบกับวิธี TPHA พบว่ามีความสอดคล้องดังตาราง

Reference		SD BIOLINE Syphilis 3.0 test		Total Results
Method	Results	Positive	Negative	
TPHA Results	Positive	152	1	153
	Negative	1	209	210
<b>Total Results</b>		153	210	363

\* Relative sensitivity : 99.3% (152/153) \* Relative specificity : 99.5% (209/210)

จากการทดสอบชุดตรวจ SD BIOLINE Syphilis 3.0 มีค่าความไวเท่ากับ 99.3 % (152/153) และค่าความจำเพาะเท่ากับ 99.5 % (209/210)



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง :</b> การตรวจ TPHA	<b>เอกสารเลขที่</b> MSUH-WI-LAB-023	<b>หน้า 5 จาก 8</b>
		<b>แก้ไขครั้งที่ 00</b>	<b>วันที่เริ่มใช้</b> 1 สิงหาคม 2562
	<b>ผู้จัดทำ :</b> ทนพ.ณภัทร แสนจักร	<b>หน่วยงาน :</b> งานเทคนิคการแพทย์	
	<b>ผู้ตรวจสอบ :</b> ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	<b>ผู้อนุมัติ :</b> ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

#### 4. สิ่งส่งตรวจ

- Heparin plasma

##### การเตรียมตัวอย่าง

ซีรัม - เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำใส่ในหลอดทดลองที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งแล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาทีซึ่งหากไม่สามารถตรวจได้ทันทีให้เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสได้นาน 2 สัปดาห์แต่หากต้องการเก็บไว้นานกว่านั้นให้เก็บโดยวิธีแช่แข็ง


พลาสมา - เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำใส่ในหลอดทดลองที่มีสารกันเลือดแข็งที่เหมาะสม(Heparin, EDTA หรือ Sodium citrate) แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาทีซึ่งหากไม่สามารถตรวจได้ทันทีให้เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสได้นาน 2 สัปดาห์แต่หากต้องการเก็บไว้นานกว่านั้นให้เก็บโดยวิธีแช่แข็ง

##### ประเภทของภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจ

- Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง

#### 5. น้ยา/วัสดุอุปกรณ์

- ชุดทดสอบ SD BIOLINE Syphilis 3.0 และ Assay diluent
- Automatic pipette
- นาฬิกาจับเวลา

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 6 จาก 8
	เรื่อง : การตรวจ TPHA	MSUH-WI-LAB-023	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

#### 6. ขั้นตอนการทดสอบ

1. นำตัวอย่างตรวจที่เก็บไว้ในตู้เย็นมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
2. หยิบชุดทดสอบ SD BIOLINE Syphilis 3.0 ออกจากซองอสุมิเนียมพอยต์ตามจำนวนที่ต้องการวางบนพื้นที่เรียบและแห้ง
3. ดูดสิ่งส่งตรวจด้วยปิเปตต์ปริมาตร 10 ไมโครลิตรสำหรับซีรัมหรือพลาสมาจากนั้นหยดสิ่งส่งตรวจลงในช่องใส่ตัวอย่าง (Sample well) แล้วหยด assay diluent 4 หยด (120 ul)
4. อ่านผลการทดสอบเมื่อครบเวลา 5-20 นาที

#### 7. การแปลผล


ความเชื่อถือได้ของการทดสอบ เพื่อเป็นการยืนยันว่าการทดสอบได้ปฏิบัติอย่างถูกวิธีและผลการทดสอบนั้นยอมรับได้เส้นควบคุม (Control line) ควรจะต้องปรากฏบนตลับทดสอบทุกตลับการไม่ปรากฏเส้นควบคุมภายใน (Internal Control line) พิจารณาว่าเป็นผลการทดสอบที่ไม่ยอมรับและต้องทำการทดสอบซ้ำ

ข้อสำคัญเส้นการทดสอบ (Test line) ที่ปรากฏสีจางๆ ให้สันนิษฐานว่าผลการทดสอบเป็นบวกและควรทำการทดสอบเพิ่มเติมต่อไป

#### การรายงานผล

- **Negative** ปรากฏแถบชมพูแดงแถบเดียวณบริเวณควบคุมของแถบทดสอบ
- **Positive** ปรากฏแถบสี 2 แถบ ได้แก่ แถบชมพูแดงในบริเวณทดสอบ (Test line) 1 เส้นและแถบชมพูแดงในบริเวณควบคุมอีก (Control line) 1 เส้น
- **Invalid** ไม่สามารถแปลผลได้ควรทำการทดสอบใหม่ เมื่อปรากฏแถบชมพูแดงในบริเวณ



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า <b>7</b> จาก <b>8</b>
เรื่อง : การตรวจ TPHA	MSUH-WI-LAB-023	แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

ทดสอบ (Test line) แต่ไม่พบแถบชมพูแดงในบริเวณควบคุมอีก (Control line) หรือไม่พบแถบชมพูแดงในบริเวณทดสอบ (Test line) และบริเวณควบคุม (Control line)

#### ข้อควรระวังด้านความปลอดภัย

- การปฏิบัติงานกับสิ่งส่งตรวจทุกชนิดตลอดจนชุดตรวจที่ใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคซิฟิลิสผู้ปฏิบัติงานพึงระลึกเสมอว่าสิ่งส่งตรวจเหล่านั้นจะต้องมีการติดเชื้อหรือก่อให้เกิดการติดเชื้อได้ดังนั้นต้องปฏิบัติตามระเบียบปฏิบัติการป้องกันอันตรายจากการปฏิบัติงานอย่างเคร่งครัด
- สวมถุงมือและเสื้อกาวน์ในระหว่างการทดสอบ
- ถ้ามีการหกกระเด็นของสิ่งส่งตรวจควรฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่เหมาะสม
- ห้ามรับประทานอาหารดื่มเครื่องดื่มสูบบุหรี่ขณะบริเวณปฏิบัติงาน


#### 8. วิธีการควบคุมคุณภาพ

Internal Quality Control : In house Control

- ทำ Control ทุกครั้งที่เปิดกล่องใหม่

External Quality Control

- Interlab comparison บ. MP Medgroup

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : การตรวจ TPHA	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-023	หน้า <b>8</b> จาก <b>8</b>
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

9. คำอ้างอิง

ไม่มี

10. เอกสารอ้างอิง

เอกสารกำกับการใช้ชุดตรวจ SD BIOLINE Syphilis 3.0