

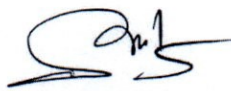
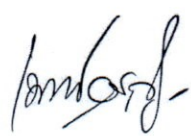



## วิธีปฏิบัติงาน

### เรื่อง

### การตรวจหาระดับ Free T3

โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

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

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-027	00		1 สิงหาคม 2562



โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม


วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-027	หน้า <b>1</b> จาก <b>9</b>
	แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

การควบคุมระบบเอกสารคุณภาพ

แก้ไขครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติการแก้ไข	วันที่เริ่มใช้เอกสารฉบับแก้ไข

บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3</b>	<b>เอกสารเลขที่</b> <b>MSUH-WI-LAB-027</b>	<b>หน้า 2 จาก 9</b>
		<b>แก้ไขครั้งที่ 00</b>	<b>วันที่เริ่มใช้</b> <b>6 มีนาคม 2561</b>
	<b>ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร</b>	<b>หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์</b>	
<b>ผู้ตรวจสอบ :</b> ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	<b>ผู้อนุมัติ :</b> ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

### 1. วัตถุประสงค์

ใช้เป็นคู่มือการปฏิบัติงานเพื่อใช้ในการตรวจหาระดับ Free T3 ในเลือด

Free T3 และ Free T4 ทำหน้าที่ควบคุม metabolism ของ คาร์โบไฮเดรตในร่างกาย การตรวจวัดระดับ Free T3 ใช้ประโยชน์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ Total T3 ซึ่งเกิดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลง thyroid hormone binding proteins โดยเฉพาะในกรณีที่ thyroxine binding globulin (TBG) มีการเปลี่ยนแปลงหรือปริมาณของ albumin ต่ำลง Free T3 สามารถเพิ่มสูงขึ้นตัวเดียวได้ (T3 toxicosis) ประมาณ 5% ในกรณีของ hyperthyroid

ในผู้ป่วย non-thyrometabolic disorder อาจก่อให้เกิดการเพิ่มระดับของ Free T3 อย่างผิดปกติได้ ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา anticonvulsant โดยเฉพาะ Phenytoin อาจทำให้ระดับของ Free T3 ลดลง รวมถึงผู้ป่วยที่ได้รับ heparin ก็ สามารถทำให้ระดับของ Free T3 เพิ่มขึ้นได้

### 2. นิยามและคำย่อ

Free T3 = free triiodothyronine

### 3. หลักการของวิธีการทดสอบ

การตรวจหาปริมาณ Free T3 ในสิ่งส่งตรวจโดยใช้วิธี two-step competitive binding immunoenzymatic assay โดยเติมสิ่งส่งตรวจ ลงในหลอดสำหรับทำปฏิกิริยา ( reaction vessel ) ร่วมกับ mouse monoclonal anti- triiodothyronine (T3) และ paramagnetic particles ที่เคลือบด้วย goat anti-mouse capture antibody ในการ incubate ครั้งแรก Free T3 ในสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับ anti-T3 antibody และ subsequently bound บน capture antibody ทำการ incubate จะทำการแยกใน magnetic field และ ทำการล้างเพื่อเอาสารอื่น ๆ ที่ไม่ได้จับกับ solid phase ออก ต่อจากนั้นจะเติม T3-alkaline phosphatase conjugate และ buffer ลงในหลอดสำหรับทำปฏิกิริยา (reaction vessel) และ จะทำปฏิกิริยากับ anti-T3 antibody binding sites

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3</b>	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-027	หน้า <b>3</b> จาก <b>9</b>
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
<b>ผู้ตรวจสอบ :</b> ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	<b>ผู้อนุมัติ :</b> ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

ที่เหลืออยู่ ทำการ incubate อีกครั้ง และ ทำการล้างเพื่อเอาสารอื่นๆที่ไม่ได้จับกับsolid phase ออก จากนั้นเติม chemiluminescent substrate (Lumi-Phos 530) ลงใน reaction vessel แสงที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา จะถูกวัดโดย luminometer พลังงานสงที่เกิดจะแปรผกผันตามปริมาณของ Free T3 ในสิ่งส่งตรวจ และจะนำไปเปรียบเทียบกับ multi-point calibration curve

#### 4. สิ่งส่งตรวจ

- Heparin Plasma

#### 5. น้ำยา/วัสดุอุปกรณ์

5.1 เครื่องอัตโนมัติ Dxl 800

5.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์

น้ำยา Access Free T3


-เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-10 °C

-น้ำยามีอายุการใช้งานจนกระทั่งวันหมดอายุที่ระบุข้างกล่อง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-10 °C

-หลังจากเปิดใช้งานมีอายุ 28 วัน ที่อุณหภูมิ 2-10 °C

-น้ำยาที่เสื่อมคุณภาพอาจสังเกตได้จาก มีความเสียหายบริเวณ elastomeric layer หรือ control values out of range.

-หาก reagent pack มีความเสียหาย ไม่ควรนำมาใช้

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3</b>	<b>เอกสารเลขที่</b> <b>MSUH-WI-LAB-027</b>	<b>หน้า 4 จาก 9</b>
		<b>แก้ไขครั้งที่ 00</b>	<b>วันที่เริ่มใช้</b> <b>6 มีนาคม 2561</b>
	<b>ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร</b>	<b>หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์</b>	
<b>ผู้ตรวจสอบ :</b> ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	<b>ผู้อนุมัติ :</b> ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

### 5.3 สารมาตรฐาน

5.3.1 ใช้ Access Free T3 Calibrators มี 6 ระดับ

5.3.2 คุณสมบัติของ Calibrator

- เป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน
- ก่อนเปิดใช้งาน ให้เก็บรักษาที่ 2 - 10 °C
- ควร mix ก่อนใช้งาน และ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ
- หลังจากเปิดใช้งาน ให้เก็บรักษาไว้ที่ 2 - 10 °C จนกระทั่งหมดอายุ

5.5 Substrate

5.6 Wash Buffer

5.7 Reaction vessel

5.8 Sample Rack


5.9 Control Material

## 6. ขั้นตอนการทดสอบ

การเก็บและการเตรียมสิ่งส่งตรวจ

6.1 ตัวอย่างตรวจเป็น พลาสมา (Heparin)

6.2 การเตรียมและเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจ

	<b>โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม</b>		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b>	<b>เอกสารเลขที่</b>	<b>หน้า 5 จาก 9</b>
	เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3	MSUH-WI-LAB-027	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

- เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ ใส่ในหลอดทดลอง
- ตั้งให้เลือดแข็งตัวก่อนนำไปปั่น
- ปั่นเลือดตามเวลาและความเร็วที่กำหนด (แล้วแต่ห้องปฏิบัติการ)
- ใช้ dropper คูดซีรัมอย่างน้อย 500  $\mu$ l โดยปราศจากเซลล์ปนเปื้อนใส่ใน tightly stoppered storage tube ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากการปั่น
- สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจได้ที่อุณหภูมิห้อง (15-30 $^{\circ}$ C) ได้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง
- ถ้าการตรวจวิเคราะห์ไม่สามารถทำได้ภายใน 8 ชั่วโมง ให้เก็บซีรัมแช่เย็นที่ 2-8 $^{\circ}$ C
- ถ้าการตรวจวิเคราะห์ไม่สามารถทำได้ภายใน 48 ชั่วโมง ให้เก็บซีรัมแช่แข็งที่ -20  $^{\circ}$ C
- สิ่งส่งตรวจที่แช่แข็งสามารถนำมาละลายได้เพียง 3 ครั้ง

6.3 ในการเตรียม sample ควรกำจัด fibrin และ เซลล์ต่างๆ ก่อนนำมาทำการทดสอบ

6.4 ขั้นตอนและรายละเอียดวิธีการใช้เครื่อง Access Immunoassay system ให้ปฏิบัติตามการใช้และการบำรุงรักษาเครื่อง Access Immunoassay System

6.5 Mix น้ำยา Cartridge ใหม่ที่ยังไม่ได้เปิดใช้งาน โดยวิธีการ Invert เพื่อให้ส่วนผสมของน้ำยาเป็นเนื้อเดียวกัน  
ไม่ควร mix น้ำยาที่เจาะใช้งานมาแล้ว

6.6 ใช้ sample ปริมาตร 55  $\mu$ l ในการทำปฏิกิริยา บวกด้วย sample container และ system dead volume

6.7 สิ่งหรือปัจจัยรบกวน (Interferences)

- ระดับ Bilirubin ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 20 mg/dL (342  $\mu$ mol/L) ไม่รบกวนการตรวจวิเคราะห์
- ระดับ Conjugated bilirubin ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 10 mg/dL (119  $\mu$ mol/L) ไม่ รบกวนการตรวจ

วิเคราะห์



โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-027	หน้า 6 จาก 9
	แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

- ระดับ Hemoglobin ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 500 mg/dL (5.0 g/L) ไม่รบกวนการตรวจวิเคราะห์
- ระดับไขมัน cholesterol ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 500 mg/dL ไม่รบกวนการตรวจวิเคราะห์
- ตารางแสดงสารที่มีการเติมเข้าไปใน serum แล้วทำให้มีการเปลี่ยนแปลง

ดังต่อไปนี้


Substance	Analyte Added (mg/dL)	% Change
Aspirin	75	1.3
Sodium Salicylate	75	13.9
Ibuprophen	750	17.2
Acetaminophen	200	-5.0
Phenylbutazone	7.5	3.9
Thiouracil	5	2.1
Phenytoin	10	-0.1
Furosemide	2	15.9
Carbamazepine	12	12.7
Methimazol	0.4	-0.1
Oleic Acid	283	11.4
Linoleic Acid	280	0
D-biotin	0.001	-7.3

### 6.8 การ Calibrate Access Free T3

น้ำยา Access Free T3 ต้องการ calibrate ทุก 28 วัน

### 7. การรายงานผล

- รายงานความเข้มข้นเป็นหน่วย pg/mL (สามารถ เปลี่ยนเป็น International System of Units (SI units), pmol/L ได้โดย pg/mL X 1.536)
- ค่าช่วงวัด (Measuring range) 0.88 – 30 pg/mL

	<b>โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม</b>		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3</b>	<b>เอกสารเลขที่</b> <b>MSUH-WI-LAB-027</b>	<b>หน้า 7 จาก 9</b>
		<b>แก้ไขครั้งที่ 00</b>	<b>วันที่เริ่มใช้</b> <b>6 มีนาคม 2561</b>
	<b>ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร</b>	<b>หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์</b>	
<b>ผู้ตรวจสอบ :</b>  <b>ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส</b> <b>ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์</b>	<b>ผู้อนุมัติ :</b>  <b>ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้</b> <b>ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์</b>		

- ถ้าความเข้มข้นที่เครื่องรายงาน น้อยกว่า 0.88 pg/mL ให้รายงาน <0.88 pg/mL
- ถ้าความเข้มข้นที่เครื่องรายงาน มากกว่า 30 pg/mL ให้รายงาน > 30 pg/mL ห้าม dilute สำหรับการตรวจ Free T3
- การทดสอบอาจถูกรบกวนด้วยสารรบกวนต่างใน sample เช่น heterophile antibodies, HAMA
- การแปลผล Access Free T3 ควรแปลผลร่วมกับ อาการ และ อาการแสดงของผู้ป่วย, ประวัติการรักษา และการตรวจอื่นๆ จะทำให้การแปลผลมีประสิทธิภาพมากขึ้น
- Free T3 อาจเพิ่มขึ้นได้ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับ biotin (vitamin H) (displacement of the biotinylated T3 analog from paramagnetic particles coated with streptavidin)
- ไม่สามารถใช้ผลการตรวจ serum แปลผลร่วมกับการตรวจจาก plasma

#### 8. วิธีการควบคุมคุณภาพ (Quality control procedures)

8.1 การควบคุมคุณภาพภายใน ขั้นตอนและรายละเอียดการทำ Quality Control ให้ปฏิบัติตามรายละเอียดวิธีการใช้เครื่อง UniCel Dxl 800 โดยทำการควบคุมคุณภาพภายในทุกวันที่ทำการทดสอบ


8.2 การควบคุมคุณภาพภายนอก ให้ปฏิบัติตามการควบคุมคุณภาพภายนอกของ

Randox International Assessment Scheme(RIQAS) - Monthly Immunology Program

#### 9. ค่าอ้างอิง

- ค่าช่วงวัด (Measuring range) 0.88 – 30 pg/mL
- ถ้าความเข้มข้นที่เครื่องรายงาน น้อยกว่า 0.88 pg/mL ให้รายงาน <0.88 pg/mL



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า <b>8</b> จาก <b>9</b>
	เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3	MSUH-WI-LAB-027	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

- ถ้าความเข้มข้นที่เครื่องรายงาน มากกว่า 30 pg/mL ให้รายงาน > 30 pg/mL ห้าม dilute สำหรับการตรวจ Free T3
- การทดสอบอาจถูกรบกวนด้วยสารรบกวนต่างใน sample เช่น heterophile antibodies, HAMA
- การแปลผล Access Free T3 ควรแปลผลร่วมกับ อาการ และ อาการแสดงของผู้ป่วย, ประวัติการรักษา และการตรวจอื่นๆ จะทำให้การแปลผลมีประสิทธิภาพมากขึ้น
- Free T3 อาจเพิ่มขึ้นได้ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับ biotin (vitamin H) (displacement of the biotinylated T3 analog from paramagnetic particles coated with streptavidin)
- ไม่สามารถใช้ผลการตรวจ serum แปลผลร่วมกับการตรวจจาก plasma

#### 10. Performance specifications


- Method Comparison / Accuracy

เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โดยใช้ Access Free T3 assay กับ commercial immunoassay kit ได้ผลดังนี้

- ความแม่นยำ (Precision)

ทดสอบความแม่นยำจาก commercial human serum based control โดยทำการ run

ทั้งหมด 20 assays ทำซ้ำ 2 ครั้งต่อวัน ใช้เวลามากกว่า 20 วัน ได้ผลดังนี้

	<b>โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม</b>		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T3</b>	<b>เอกสารเลขที่</b> <b>MSUH-WI-LAB-027</b>	<b>หน้า 9 จาก 9</b>
		<b>แก้ไขครั้งที่ 00</b>	<b>วันที่เริ่มใช้</b> <b>6 มีนาคม 2561</b>
	<b>ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร</b>	<b>หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์</b>	
<b>ผู้ตรวจสอบ :</b> <b>ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส</b> <b>ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์</b>	<b>ผู้อนุมัติ :</b> <b>ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้</b> <b>ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์</b>		

### 11. เอกสารอ้างอิง

Access® family of Immunoassay systems: Assay Manual

UniCel Dxl 800 Operator's Guide, Reference Manual