
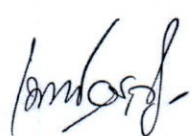





วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจหาระดับ Free T4

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-028	00		1 สิงหาคม 2562



โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 1 จาก 10
	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

แก้ไข ครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติการแก้ไข	วันที่เริ่มใช้เอกสาร ฉบับแก้ไข

บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 2 จาก 10
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

1. วัตถุประสงค์

ใช้เป็นคู่มือการปฏิบัติงานเพื่อให้นักเทคนิคการแพทย์สามารถตรวจหาระดับ Free T4 โดยเครื่อง Access Immunoassay system ได้อย่างถูกต้อง

Free T3 และ Free T4 อยู่ในรูป bound form ซึ่งจับกับ carrier proteins มากกว่า 99% มีน้อยกว่า 1% ที่อยู่ในรูปแบบ free form โดยทำหน้าที่ควบคุม metabolism ของ คาร์โบไฮเดรตในร่างกาย


การเพิ่มขึ้นของระดับ Free T4 อย่างชัดเจนสามารถใช้เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัย hyperthyroidism ได้ ในทางกลับกันระดับที่ลดลงอย่างชัดเจนก็สามารถชี้บ่งถึง hypothyroidism ได้ เช่นเดียวกัน การตรวจหาระดับของ Free T4 ใช้ร่วมกับการตรวจ thyroid tests อื่นๆเพื่อกำหนด borderline ในการวินิจฉัย hyperthyroid และ hypothyroid ได้

2. นิยามและคำย่อ

Free T4=Free Thyroxine

3. หลักการของวิธีการทดสอบ

การตรวจหาปริมาณ Free T4ในสิ่งส่งตรวจโดยใช้วิธี two step enzyme immunoassay โดยเติม Monoclonal anti-Thyroxine (T4) antibody coupled to biotin , สิ่งส่งตรวจ , buffer protein solution และ streptavidin-coated solid phase ลงในหลอดสำหรับทำปฏิกิริยา(reaction vessel) ระหว่างการทำปฏิกิริยครั้งแรก anti-T4 antibody coupled to biotin จับกับ solid phase และ Free T4 ในสิ่งส่งตรวจ หลังจากนั้นจะทำการแยกใน magnetic field เพื่อทำการล้างเอาสารอื่นที่ไม่ได้จับกับ solid phase ออก ต่อมาทำการเติม buffer protein solution และ Triiodothyronine(T4)-alkaline phosphatase conjugate ลง

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 3 จาก 10
		แก๊วครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

ใน reaction vessel T4-alkaline phosphatase conjugate จะจับกับ binding site ที่ว่างอยู่ของ anti-T4 หลังจากการ incubation จะทำการแยกใน magnetic field และทำการล้างเพื่อเอาสารอื่นๆที่ไม่ได้จับกับ solid phase ออก ต่อจากนั้นจะเติม chemiluminescent substrate (Lumi-Phos 530) ลงใน reaction vessel แสงที่เกิดจากการ dephosphorylation ของ substrate จะถูกวัดโดย luminometer พลังงานแสงที่เกิดจะแปรผกผันกับปริมาณ Free T4 ในสิ่งส่งตรวจและจะนำไปเปรียบเทียบกับ multi-point calibration curve

4. สิ่งส่งตรวจ

- Heparin Plasma

5. น้ำยา/วัสดุอุปกรณ์

5.1 เครื่องอัตโนมัติ Dxl 800

5.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์


น้ำยา Access Free T4

- 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.

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 4 จาก 10
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

-หาก reagent pack มีความเสียหาย ไม่ควรนำมาใช้

5.3 สารมาตรฐาน

5.3.1 ใช้ Access Free T3 Calibrators มี 6 ระดับ

5.3.2 คุณสมบัติของ Calibrator

- เป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน
- ก่อนเปิดใช้งาน ให้เก็บรักษาที่ -20°C จะมีอายุการใช้งานถึงวันหมดอายุที่ระบุข้างกล่อง
- ควร mix ก่อนใช้งาน และ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ
- หลังจากจะละลาย calibrator จะคงตัวที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง
- หลังจากเปิดใช้งาน ให้เก็บรักษาไว้ที่ -20°C สามารถละลายได้ 5 ครั้ง

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)

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 5 จาก 10
		แก๊ซครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
	ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

6.2 การเตรียมและเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจ


- เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ ใสในหลอดทดลอง
- ตั้งให้เลือดแข็งตัวก่อนนำไปปั่น
- ปั่นเลือดตามเวลาและความเร็วที่กำหนด (แล้วแต่ห้องปฏิบัติการ)
- ใช้ dropper ดูดซีรัมอย่างน้อย 500 μ l โดยปราศจากเซลล์ปนเปื้อนใส่ใน tightly stoppered storage tube ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากการปั่น
- สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจได้ที่อุณหภูมิห้อง (15-30°C) ได้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง
- ถ้าการตรวจวิเคราะห์ไม่สามารถทำได้ภายใน 8 ชั่วโมง ให้เก็บซีรัมแช่เย็นที่ 2-8°C
- ถ้าการตรวจวิเคราะห์ไม่สามารถทำได้ภายใน 48 ชั่วโมง ให้เก็บซีรัมแช่แข็งที่ -20 °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

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 6 จาก 10
	เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	MSUH-WI-LAB-028	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

6.6 ใช้ sample ปริมาตร 30 uL ในการทำปฏิกิริยา บวกด้วย sample container และ system dead volume

6.7 สิ่งหรือปัจจัยรบกวน (Interferences)

- ระดับ Bilirubin ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 10 mg/dL (171 umol/L) ไม่รบกวนการตรวจ วิเคราะห์
- ระดับ Hemoglobin ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 1 g/dL (10 g/L) ไม่รบกวนการตรวจวิเคราะห์
- ระดับไขมัน ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 1800 mg/dL (20.32 mmol/L) ไม่รบกวนการตรวจวิเคราะห์
- ตารางแสดง cross-reactivity

Substance	Analyte Added (µg/dL)	Cross-Reactivity (%)
L-T4	5	> 100
D-T4	10	71
L-T3	500	1.7
R-T3	100	23
Tetraiodothyroacetic Acid	25	4
D-T3	500	0.7
3,3' L-T2	5000	< 0.1
3,5 L-T2	5000	< 0.1
3'5' L-T2	5000	< 0.1
L-Tyrosine	5000	< 0.01
D-Tyrosine	5000	< 0.01
Monoiodotyrosine	5000	< 0.01
Diiodotyrosine	5000	< 0.01

6.8 การ Calibrate Access Free T3

น้ำยา Access Free T4 ต้องการ calibrate ทุก 28 วัน




โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 7 จาก 10
	แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

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

7. การรายงานผล

- รายงานความเข้มข้นเป็นหน่วย pg/mL (สามารถ เปลี่ยนเป็น International System of Units (SI units), pmol/L ได้โดย pg/mL X 1.536)
- ค่าช่วงวัด (Measuring range) 0.25 – 6.0 ng/dL
- ถ้าความเข้มข้นที่เครื่องรายงาน น้อยกว่า 0.25 ng/dL ให้รายงาน <0.25 ng/dL

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 8 จาก 10
		แก๊วครั้งที่ 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 6.0 ng/dL ให้รายงาน >6.0 ng/dL ห้าม dilute สำหรับการตรวจ Free T4

- การทดสอบอาจถูกรบกวนด้วยสารรบกวนต่างใน sample เช่น heterophile antibodies, HAMA

- การแปลผล Access Free T4 ควรแปลผลร่วมกับ อาการ และ อาการแสดงของผู้ป่วย, ประวัติการรักษา และการตรวจอื่น ๆ จะทำให้การแปลผลมีประสิทธิภาพมากขึ้น

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. คำอ้างอิง

ได้จากการเก็บตัวอย่างจาก หญิง และ ชาย อย่างละ 150 ตัวอย่าง ในช่วงอายุ 18 – 60 ปี และไม่มีประวัติความผิดปกติเกี่ยวกับไทรอยด์ฮอร์โมน และมีค่า TSH อยู่ในช่วง 0.3 – 3.0 μ IU/mL

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 9 จาก 10
		แก๊วครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

n	95% Reference Limit (ng/dL)	95% CI for Lower Limit (ng/dL)	95% CI for Upper Limit (ng/dL)
316	0.61-1.12	0.54-0.67	1.07-1.24

n	95% Reference Limit (pmol/L)	95% CI for Lower Limit (pmol/L)	95% CI for Upper Limit (pmol/L)
316	7.86-14.41	7.00-8.57	13.73-15.96

และค่าจากตัวอย่างหญิงตั้งครรภ์แบ่งเป็น ไตรมาสที่ 1, 2 และ 3 ดังตาราง


Sample Type	n	95% Reference Limit (ng/dL)	90% CI for Lower Limit (ng/dL)	90% CI Upper Limit (ng/dL)
1st Trimester	131	0.52-1.10	0.47-0.57	1.08-1.27
2nd Trimester	120	0.45-0.99	0.40-0.48	0.80-1.08
3rd Trimester	121	0.48-0.95	0.45-0.51	0.83-1.23

Sample Type	n	95% Reference Limit (pmol/L)	90% CI for Lower Limit (pmol/L)	90% CI Upper Limit (pmol/L)
1st Trimester	131	6.67-14.12	6.00-7.31	13.86-16.28
2nd Trimester	120	5.79-12.70	5.19-6.14	10.24-13.86
3rd Trimester	121	6.11-12.20	5.77-6.62	10.68-15.79

Note: ห้องปฏิบัติการการหาค่า Reference Range ที่เหมาะสมสำหรับกลุ่มประชากร

10. Performance specifications

- Method Comparison / Accuracy

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสarakam		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจหาระดับ Free T4	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-028	หน้า 10 จาก 10
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 6 มีนาคม 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โดยใช้ Access Free T4 assay กับ commercial immunoassay kit ได้ผลดังนี้

และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โดยใช้ Access free T4 assay ในสิ่งส่งตรวจชนิด serum หรือ plasma (heparin) ได้ผลดังนี้

- ความแม่นยำ (Precision)

Total Imprecision ที่ความเข้มข้น ≥ 0.61 ng/dL, $\leq 10\%$ CV และ ที่ความเข้มข้น ≤ 0.61 ng/dL, SD < 0.06 ng/dL

ทดสอบความแม่นยำจาก commercial human serum based control 3 ระดับและ serum จากผู้ป่วย 1 ราย โดยทำการ run 38 assays ทำซ้ำ 2 ครั้งต่อ assay ใช้เวลาอย่างน้อย 19 วัน ได้ผลดังนี้

11. เอกสารอ้างอิง

Access® family of Immunoassay systems: Assay Manual

UniCel Dxl 800 Operator's Guide, Reference Manual