# คู่มือการปฏิบัติงาน
# เรื่อง การทดสอบในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา
# โดยใช้หลักการ Aggutination

## โดยวิธีปกติ


ของ

นางสาวปิ่นปินัทธ์ ประสงค์เกียรติ

ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับปฏิบัติการ

(ตำแหน่งเลขที่ พวช.12307)

ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล

คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล

มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช


## ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง


นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับชำนาญการ

(ตำแหน่งเลขที่ พวช.12307)

ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล

คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล

มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

## คำนำ

คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง การทดสอบการตรวจวิเคราะห์ ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา โดยใช้หลักการ Aggutination นี้ จัดทำขึ้นเพื่อให้ผู้ใช้คู่มือมีความรู้และความเข้าใจในการตรวจและหลักการที่ถูกต้องตรงตามมาตรฐานและแนวทางในการปฏิบัติในแนวทางเดียวกัน ความสำคัญของโรคซิฟิลิสที่ต้องทราบวิธีการตรวจที่ถูกต้องและรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำในการรักษาผู้ป่วย เพื่อช่วยแพทย์ได้ทำการตรวจวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องและแม่นยำ และติดตามการรักษาผู้ป่วยได้ต่อเนื่อง มีหลักการ มีการควบคุมคุณภาพให้ผลการตรวจที่ออกมาถูกต้องได้ตามมาตรฐาน เพื่อการรักษา และการติดตามการรักษาอย่างต่อเนื่องของเชื้อซิฟิลิส ซึ่งมีความสำคัญกับผู้ป่วยและมารดาในภาวะตั้งครรภ์

ปิ่นปินัทธ์ ประสงค์เกียรติ

สารบัญ

**คำนำ**

**สารบัญ**

**หน้า**

**บทที่ 1 บทนำ**

- **ความเป็นมาและความสำคัญ** **1**
- **วัตถุประสงค์** **2**
- **ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ** **2**
- **ขอบเขตของคู่มือปฏิบัติงาน** **2**
- **คำจำกัดความเบื้องต้น** **2-3**

**บทที่ 2 โครงสร้างและหน้าที่ความรับผิดชอบ**

- **บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง** **4**
- **ลักษณะงานที่ปฏิบัติและโครงสร้างการบริหาร** **4-6**

**บทที่ 3 หลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน**

- **หลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน** **7**
- **วิธีการทดสอบ** **8-9**
- **ข้อควรระวัง** **10**
- **งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** **10-12**

**บทที่ 4 ปัญหาและอุปสรรคและข้อเสนอแนะ**

- **ปัญหาอุปสรรคในการปฏิบัติงาน** **13**
- **แนวทางแก้ไขและพัฒนา** **13**

**บรรณานุกรม** **14**

**ประวัติผู้เขียน** **15**

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ซิฟิลิส (syphilis) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่เกิดจาก เชื้อ Treponema pallidum การตรวจหาการติดเชื้อการตรวจทาง Serology จึงถูกนำมาใช้ในการวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิลิสการทดสอบเป็นการตรวจที่ใช้แอนติเจนจำเพาะจาก ตัวเชื้อ (treponemal test) ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ Treponema pallidum โดยตรงซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังการติดเชื้อ โดยใช้หลักการ Treponemal pallidum heamagglutination (TPHA) โดยน้ำยาในการทดสอบการประเมินคุณภาพแล้วว่า มีความไวความจำเพาะสำหรับตรวจติดตาม หรือบอกระยะของโรค (monitoring, staging) ตรวจหาการติดเชื้อ Treponema pallidum ได้มีการพัฒนาน้ำยาให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น โดยใช้แอนติเจนแบบจำเพาะจากตัวเชื้อ

คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง การทดสอบ Treponema pallidum hemagglutination test (TPHA) ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา โดยใช้หลักการ Aggutination เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อ Treponema pallidum เนื่องจากโรคซิฟิลิส (Syphilis) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่ร้ายแรงมากชนิดหนึ่งจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเกิดจากการมีเพศสัมพันธ์โดยไม่ป้องกันด้วยการใส่ถุงยางอนามัย โรคนี้เรามักได้ยินบ่อยว่าเกิดในผู้หญิง แต่จริง ๆ แล้วโรคซิฟิลิสเกิดได้ทั้งกับผู้หญิงและผู้ชาย เป็นโรคติดต่อที่สามารถทำให้เกิดโรคแก่ระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้หลายระบบ เช่น ซิฟิลิสระบบหัวใจและหลอดเลือด ซิฟิลิสระบบประสาท นอกจากนี้แม่ตั้งครรภ์ที่เป็นโรคซิฟิลิสจะถ่ายทอดโรคสู่ทารกในครรภ์ได้เรียกว่า ซิฟิลิสแต่กำเนิด

การวินิจฉัยแพทย์จะให้ความสำคัญต่อผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อทำการรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและเพื่อติดตามอาการของผู้ป่วยจากโรคซิฟิลิสอย่างต่อเนื่อง ซึ่งการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่มักใช้ในการวินิจฉัย ซึ่งการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็วตรงตามมาตรฐานมีความสำคัญมากในการที่แพทย์ จะสามารถนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้ในการตรวจหาโรคซิฟิลิสและรักษาผู้ป่วยได้ถูกต้องรวดเร็วยิ่งขึ้น

**1.2 วัตถุประสงค์**

1. เพื่อให้ผู้ใช้คู่มือมีความเข้าใจในวิธีการตรวจและหลักการที่ถูกต้องตรงตามมาตรฐานและแนวทางในการปฏิบัติเป็นในทางเดียวกัน
2. เพื่อช่วยให้แพทย์ตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยได้ถูกต้องและแม่นยำ
3. ช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องรวดเร็วและมีชีวิตที่ยืนยาวขึ้น
4. เพื่อเพิ่มศักยภาพและให้ประโยชน์สูงสุดในการรับบริการด้านการตรวจวินิจฉัย

**1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. แพทย์วินิจฉัยผู้ป่วยได้ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น
2. เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องรวดเร็วตรงตามมาตรฐาน
3. ลดการซ้ำซ้อนของการตรวจวินิจฉัย
4. ลดค่าใช้จ่ายของผู้ป่วยในการตรวจวินิจฉัย
5. มีการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจคัดซิฟิลิส
6. ผู้ปฏิบัติงานทุกคนมีเกณฑ์ปฏิบัติและการรายงานผลที่เหมือนกัน
7. ห้องปฏิบัติมีคุณภาพตามมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ

**1.4 ขอบเขตของคู่มือปฏิบัติงาน**

นักเทคนิคการแพทย์ นักวิทยาสาสตร์การแพทย์ เจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์ นักศึกษาฝึกงาน ในหน่วยเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด โรงพยาบาลวชิรพยาบาล

**1.5 คำจำกัดความเบื้องต้น**

1. Aggultination หมายถึง ปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนที่เป็นเซลล์เช่นเซลล์เม็ดเลือดแดงเซลล์แบคทีเรีย หรือพวกเม็ดสารที่เคลือบด้วยแอนติเจนที่ละลายได้ อันได้แก่พวกเม็ด (Latex) กับแอนติซีรั่มหรือแอนติบอดีที่เหมาะสม และเกิดการจับกลุ่มกันของเม็ดหรือเซลล์ที่เป็นแอนติเจน

2. Treponema pallidum subspecies pallidum (T. pallidum) หมายถึง เชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งซึ่งเป็นสาเหตุของโรคซิฟิลิสมีรูปร่างเป็นเกลียว (spirochete) มีflagella ย้อมติดสีแดงแต่ไม่ชัดเจน(atypical gram negative) จัดอยู่ใน Order Spirochaetales,Family Spirochaeceae เป็นเชื้อแบคทีเรีย Passive agglutination หมายถึง ปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดี กับแอนติเจนที่ไม่ได้เป็นส่วนของเซลล์หรืออนุภาคนั้นจริง ๆ แต่เป็นแอนติเจนที่นำมาเคลือบบนเซลล์หรือ

อานุภาคทีหลัง เช่น การนำเอา soluble antigen มาเคลือบบนเม็ดพลาสติก (latex) หรือเคลือบบนเม็ดเลือดแดง เป็นต้น

# บทที่ 2
# โครงสร้างและหน้าที่ความรับผิดชอบ

## 2.1 บทบาทหน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่ง

คุณสมบัติเฉพาะตำแหน่ง

1. เป็นผู้มีวุฒิการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาที่มีความเกี่ยวข้องทางการแพทย์ เช่น สาธารณสุขศาสตร์ เวชศาสตร์งานธนาคารเลือด สุขศึกษา ชีววิทยา หรืออื่น ๆ

2. มีความรู้ความสามารถในการปฏิบัติงานทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ เช่น งานธนาคารเลือดงานบำรุงรักษาเครื่องมือแพทย์ งานเตรียมสารเคมี และงานที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ

3. มีความรู้และความเข้าใจในกฎระเบียบของมหาวิทยาลัยและกฎระเบียบของข้าราชการพลเรือน

รายละเอียดของงานที่รับผิดชอบ

1. ด้านการปฏิบัติการ

1.1 เตรียมตัวอย่างในขบวนการก่อนการวิเคราะห์

1.2 บำรุงรักษาเครื่องมือและอุปกรณ์

1.3 ควบคุมดูแลการกำจัดของเสียของห้องปฏิบัติการ

1.4 วิเคราะห์ปัญหาและความเสี่ยงต่าง ๆ และกำหนดวิธีแก้ไขป้องกัน

1.5 รวบรวมข้อมูลวิจัย,ค้นคว้าวิจัย,สร้างผลงานวิจัยหรือร่วมวิจัย

2. ด้านการวางแผน

2.1 ร่วมวางแผนการปฏิบัติงานที่รับผิดชอบร่วมกันในทีม

2.2 วางแผนพัฒนาคุณภาพงานอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ตามมาตรฐาน

3. ด้านการประสานงาน

3.1 ประสานงานในทีมงานตามที่ได้รับมอบหมาย

3.2 ประสานงานกับหน่วยงานที่ส่งตรวจ เช่น การแจ้งค่าวิกฤต

3.3 ประสานงานกับหน่วยงานภายนอกที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ เช่น เรื่องน้ำยา, เครื่องมือ,ระบบสารสนเทศ

4. ด้านบริการ

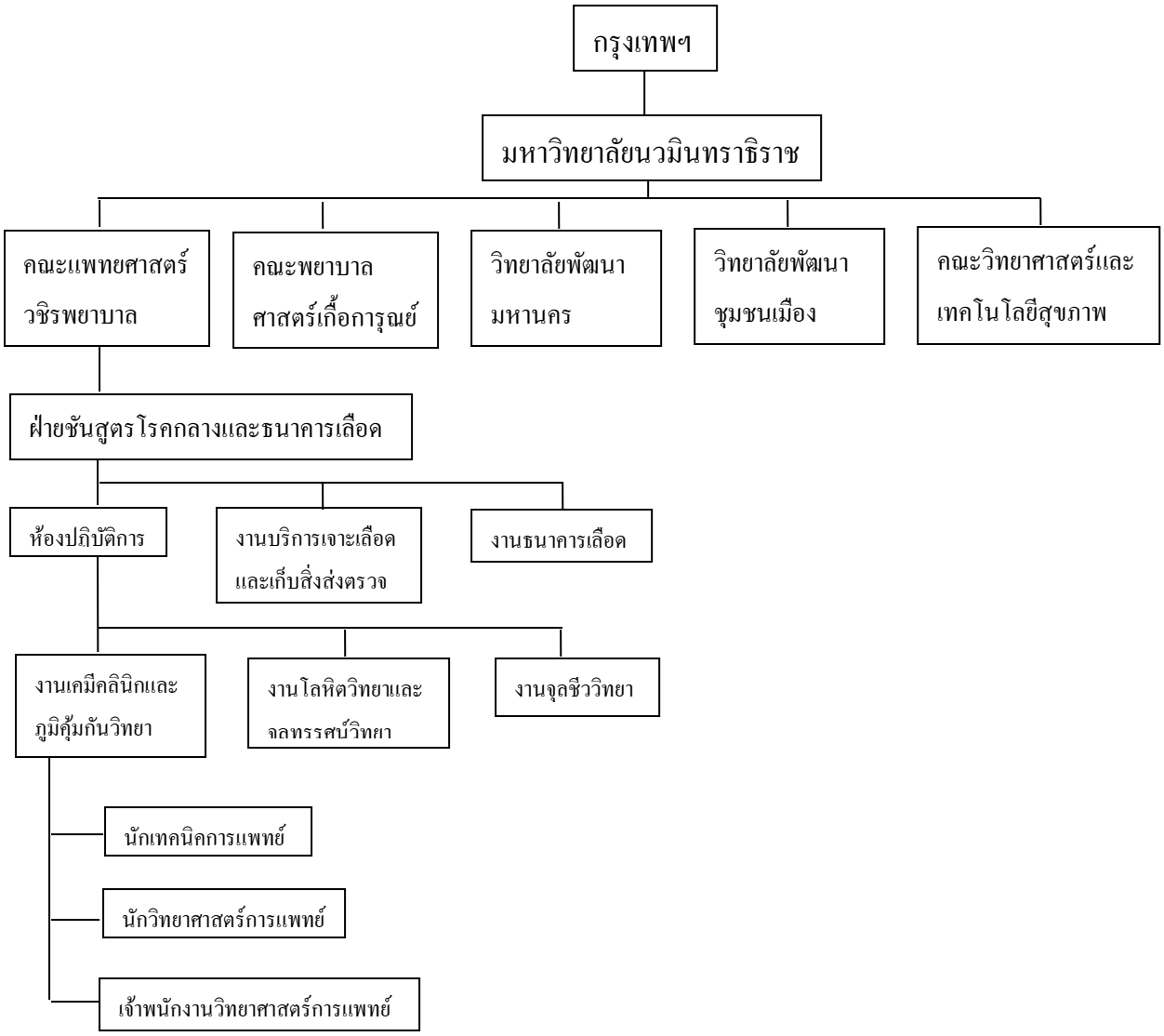
4.1 ตอบข้อสงสัยและแนะนำบริการแก่ผู้มารับบริการ

4.2 ฝึกทักษะพื้นฐานการปฏิบัติงานแก่นักศึกษาเทคนิคการแพทย์

**2.2 ลักษณะงานที่ปฏิบัติ**

ปฏิบัติงานที่ยากมากหรือมีความรับผิดชอบสูงมาก เกี่ยวกับการชันสูตรโรคกลางและชันสูตรสาธารณสุข โดยปฏิบัติหน้าที่อย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่าง เช่น ชันสูตรวัตถุตัวอย่างเพื่อหาจุลินทรีย์ หรือสารบางชนิดซึ่งเป็นสาเหตุหรืออาการแห่งโรคทางจุลชีววิทยาทางพยาธิวิทยาคลินิก หรือทางเคมีคลินิก ฯลฯ ซึ่งมีวิธีการพิเศษหรือต้องใช้เครื่องมือที่ทันสมัยที่มีเทคนิคการใช้ที่ยุ่งยาก หรือต้องใช้ความละเอียดรอบคอบและใช้ความชำนาญในการอ่านผล ควบคุมการชันสูตรโรคและชันสูตรสาธารณสุข ให้ได้ผลตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ควบคุมการผลิตและทดสอบมาตรฐานการผลิตแอนติเจน แอนติเซรุ่ม และน้ำยามาตรฐานต่าง ๆ หลายประเภท และจำนวนมาก ทดสอบวิธีการหรือเทคนิคใหม่ ๆ เพื่อปรับปรุงแก้ไขการชันสูตรโรคและชันสูตรสาธารณสุขให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ช่วยหรือร่วมมือกับแพทย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือเจ้าหน้าที่อื่น ๆ ปฏิบัติงานวิเคราะห์วิจัยต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ ควบคุมการรวบรวมสถิติและจัดทำบันทึกรายงานเกี่ยวกับการชันสูตรโรค ประเมินผลการปฏิบัติงานฝึกอบรม และให้คำปรึกษาแนะนำในการปฏิบัติงานแก่เจ้าหน้าที่ระดับรองลงมา ตอบปัญหาและชี้แจงเรื่องต่าง ๆ เกี่ยวกับงานในหน้าที่และปฏิบัติหน้าที่อื่นที่เกี่ยวข้อง

**2.3 โครงสร้างการบริหาร**



# บทที่ 3

## 3.1 หลักเกณฑ์การปฏิบัติงาน

Passive haemagglutination เทคนิค indirect hemagglutination

หลักการคือ เม็ดเลือดแดงจากไก่จะถูก coated ด้วยแอนติเจนของเชื้อ T. pallidum ซึ่งมีความจำเพาะกับแอนติบอดีที่มีอยู่ใน Serum หรือ Plasma ในคนไข้ที่เป็นโรคซิฟิลิส antibody ที่จำเพาะกับ T.pallidum ใน Serum ของผู้ป่วยจะทำปฏิกิริยากับ T.pallidum antiyen ซึ่งเคลือบอยู่บนเม็ดเลือดแดงถ้าใน serum หรือ plasma มีแอนติบอดีต่อเชื้อ T. pallidum ก็จะเกิดการจับตัวกันของเซลล์เม็ดเลือดแดง แต่ถ้าหากไม่มีแอนติบอดีก็จะเห็นเซลล์เป็นวงแหวนในก้นหลุมชนิดของสิ่งส่งตรวจ : serum หรือ plasma การเตรียมสิ่งส่งตรวจ ก่อนทำการตรวจสอบถ้า serum หรือ plasma นั้น ๆ มีเม็ดเลือดแดงหรือตะกอน, สิ่งปนเปื้อนปะปนอยู่ ให้นำไปปั่น แล้วแยกเอาเฉพาะของเหลวส่วนที่ใสเท่านั้นมาใช้ ห้ามใช้สิ่งส่งตรวจที่ปนเปื้อน, Haemolysed, Lipaemic หรือ serum ที่ขุ่นมาก

**เครื่องมือ น้ำยา อุปกรณ์ และการเตรียมสาร**

1. น้ำยาวิเคราะห์

1.1 R1: Test cells 2x7.8 ml เป็น chicken rbc ที่ sensitised ด้วยเชื้อ T. pallidun

1.2 R2: Control cells 2x7.8 ml เป็น chicken rbc ที่ Unsensitised

1.3 R3: Diluent 2x20 ml ใช้สำหรับ dilute serum

1.4 R4: Positive Control Human Serum 0.5 ml

1.5 R5: Negative Control Human Serum 0.5 ml

Storage (การเก็บ): น้ำยาทุกตัวควรเก็บไว้ที่อุณภูมิ 4°C จนถึงวันหมดอายุที่ระบุไว้

2. อุปกรณ์

2.1 Auto pipette ขนาด 10, 25, 75 และ 190 ul

2.2 96 well microplates (U-bottom)

2.3 นาฬิกาจับเวลา

2.4 ถุงมือ

Test Procedure (วิธีทำ) น้ำยาทุกตัวมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนใช้

**3.2 วิธีการทดสอบ**

1.1 แบบ Qualitative assay (ตรวจเชิงคุณภาพ)

1. ทำ sample dilution 1: 20 โดยดูด Diluents 190 ul และ Serum/ Plasma 10 ul ใส่ลงในหลุมที่ 1

2. ดูด Diluted sample 25 ul จากข้อ 1 ใส่ลงในหลุมที่ 2 และหลุมที่ 3 เพื่อทำเป็น Test cell และ Control cell

3. เติม Test cell 75 ul ลงในหลุมที่เป็น test cell และเติม control cell 75 ul ลงในหลุมที่เป็น control cell (Dilution สุดท้ายหลังจากเติม cells = 1: 80 ควรทำ Positive & Negative control ควบคู่กับตัวอย่าง)

4. Incubate ที่อุณหภูมิห้อง 45 นาที (ให้วางบริเวณที่ไม่มีการสั่นสะเทือน)

5. เมื่อครบเวลาแล้วอ่านผล โดยดูการจับตัวกันของเซลล์

1.2 แบบ Quantitative assay (ตรวจเชิงปริมาณ)

1. ทำ sample dilution 1: 20 โดยดูด Diluents 190 ul และ Serum/ Plasma 10 ul

2. เติม Diluents หลุมละ 25 ul จำนวน 7 หลุม โดยเว้นหลุมแรกไว้ 1 หลุม

3. ดูด diluted sample จากข้อ 1 ปริมาตร 25 ul เติมลงในหลุมที่ 1 ที่ว่างไว้ แล้วดูดต่อไปหลุมที่ 2 ปริมาตร 25 ul ผสมให้เข้ากัน แล้วทำ serial dilution ต่อจนครบทุกหลุม พอหลุมสุดท้ายจึงดูดทิ้ง 25 ul

4. ผสม test cell จนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วดูดปริมาตร 75 ul ลงในทุกหลุม (sample dilution สุดท้าย หลังเติม cell คือ 1: 80 ถึง 1: 10,240)

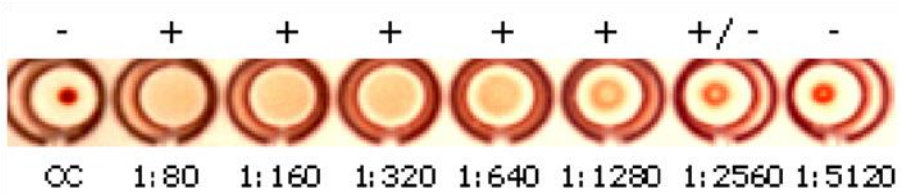
5. Incubate ที่อุณหภูมิห้อง 45 นาที (ให้วาง Plate ให้ห่างจากความร้อน และบริเวณที่ไม่มีการสั่นสะเทือน)

6. เมื่อครบเวลาแล้วอ่านผล โดยดูการจับตัวกันของเซลล์

การทดสอบ Quantitative assay (ตรวจเชิงปริมาณ)

| หลุมที่ | ซีรั่ม (ul) | Serum dilution (ul) | Serum dilution | Unsensitized cell (ul) | Sensitized Cell (ul) | Final serum dilution |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 25 | 25 | 1 : 2 | | | |
| 2 | | 100 | 1 : 10 | | | |
| 3 | | 25 | 1 : 20 | 75 | | 1 : 80 |
| 4 | | 25 | 1 : 20 | | 75 | 1 : 80 |
| 5 | | 25 | 1 : 40 | | 75 | 1 : 160 |
| 6 | | 25 | 1 : 80 | | 75 | 1 : 320 |
| 7 | | 25 | 1 : 160 | | 75 | 1 : 640 |
| 8 | | 25 | 1 : 320 | | 75 | 1 : 1280 |
| 9 | | 25 | 1 : 640 | | 75 | 1 : 2560 |
| 10 | | 25 ul ดูดทิ้ง 25 ul | 1 : 1280 | | 75 | 1 : 5120 |

**การรายงานผล**




1. กรณีผลเป็นบวก รายงานผล Positive ตามด้วย titer
2. กรณีผลเป็นลบ รายงานผล Negative
3. กรณีผลเป็นกึ่งบวก ลบ รายงานผล Weak Reactive (ก่อนรายงานผลควรนำมา repeat อีกครั้ง)

**ข้อจำกัดของการทดสอบ**

Sensitivity = 99.5%; Specificity = 100%

**3.3 สิ่งที่ควรคำนึงในการปฏิบัติงาน**

การควบคุมคุณภาพ

1. การสอบเทียบน้ำยาตรวจวิเคราะห์ TPHA test kit
2. การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control)
3. การควบคุมคุณภาพภายนอก (External quality control)

**3.4 ข้อควรระวัง**

1. ควรเขย่าน้ำยาให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันก่อนใช้
2. ห้ามแช่แข็ง (Freeze) น้ำยาทุกตัว
3. น้ำยาทุกขวด ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2- 8 C จนถึงวันหมดอายุที่ระบุไว้
4. ควรนำน้ำยาทุกตัวออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนใช้
5. อุปกรณ์ที่ใช้แล้วให้ทิ้งไป ไม่ควรนำมาใช้ซ้ำ เพราะอาจเกิดการปนเปื้อนได้
6. ควรใส่ถุงมือทุกครั้งที่ทำ เพื่อป้องกันการติดเชื้อจาก serum คนไข้
7. การรายงานผลควรขึ้นอยู่กับลักษณะอาการทางร่างกายของผู้ป่วยและวิจารณญาณของแพทย์ด้วยเพราะโดยปกติโรคนี้จะขึ้นอยู่กับลักษณะอาการร่างกายของคนไข้ ประวัติทาง Clinical ของคนไข้ และระยะของโรคด้วย
8. ควรมีการตรวจสอบด้วยวิธีอื่นควบคู่ไปด้วย เพื่อเป็นการยืนยันผลที่ถูกต้องและแม่นยำ

**3.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

1. ธารินทร์ ภักดี และ คณะ (2556) ได้ศึกษา การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อซิฟิลิสในผู้บริจาคเลือดที่มีผลตรวจกรองทางน้ำเหลืองวิทยาเป็นบวก โดยทำการตรวจหา DNA ของเชื้อ T. pallidum ด้วยเทคนิค polA PCR ซึ่งมีความไว 3 เชื้อต่อโลหิต 100 microliter ในเลือดของผู้บริจาคโลหิต 25 ราย ที่ผลการตรวจคัดกรองเชื้อซิฟิลิสเป็นบวก และตรวจตัวอย่างโลหิตจากผู้ป่วยซิฟิลิสระยะต่าง ๆ 8 ราย ที่ยังไม่ได้รักษาเป็นกลุ่มควบคุมผลการศึกษา การตรวจ polA PCR สำหรับเชื้อ T. pallidum ในตัวอย่างโลหิตจากผู้บริจาคโลหิตตทั้ง 25 คน ให้ผลเป็นลบในผู้ป่วยซิฟิลิส 8 ราย การตรวจให้ผลบวก 5 ราย และให้ผลลบใน primary mary syphilis, possible secondary syphilis และ latent syphilis อย่างละ 1 ราย สรุป การตรวจ DNA ของ T. pallidum ด้วยวิธี polA PCR ในเลือดผู้บริจาคโลหิตให้ผลลบทั้งหมด การศึกษานี้แม้มีความไว

ไม่สูงแต่ก็เป็นข้อมูลแก่ผู้อื่นเพื่อศึกษาความสามารถในการถ่ายทอดเชื้อซิฟิลิสจากการรับเลือดต่อไป

2. เกรียงศักดิ์ ไชยวงค์ และคณะ(2556) ได้ศึกษาการประเมินชุดตรวจหาการติดเชื้อ Treponema pallidum ในโลหิตบริจาคด้วยหลักการ Immuno Chromatographic Strip โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลชุดตรวจ Alere DetermineSyphilis TP ซึ่งใช้หลักการ ICS เปรียบเทียบกับชุดตรวจ Architect Syphilis TP ซึ่งใช้หลักการ CMIA วัสดุและวิธีการซีรั่มผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจด้วย Architect Syphilis TP ได้ผลเป็นลบ 1,000 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ได้ผลเป็นบวก 253 ตัวอย่างแยกเป็น199 ตัวอย่างให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ CMIA, Treponema pallidum particle agglutination (TPPA), RPR และอีก 54 ตัวอย่างให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ CMIA, TPPA และให้ผลลบด้วยชุดตรวจ RPR ทดสอบซีรั่มโดยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP อ่านผลการทดสอบทุกตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่คนเดียวกันและทบทวนผลด้วยเจ้าหน้าที่อีกคน บันทึกผลและเก็บข้อมูล คำนวณหาค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ผลการศึกษา ผลการตรวจซีรั่มที่ให้ผลเป็นลบ 1,000 ตัวอย่าง และซีรั่มที่ให้ผลบวก 253 ตัวอย่าง เมื่อตรวจด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP พบว่า ให้ผลตรงกับการทดสอบโดยชุดตรวจอ้างอิงหลักการ CMIA ทุกตัวอย่าง ความไว 100% ความจำเพาะ 100% สรุป ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ที่ประเมินผลในการศึกษานี้มีความไวและความจำเพาะเช่นเดียวกับชุดตรวจอ้างอิง สามารถนำมาใช้พิจารณาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการตรวจกรองหรือตรวจยืนยันซิฟิลิสทางซีโรโลยีในโลหิตบริจาคได้

3. เกรียงศักดิ์ ไชยวงค์ ดวงนภาอินทรสงเคราะห์ รจนากิมิพาร์ อุดม สงอุบล วารุณี วัฒนกุล นิภาวรรณ คำนันท์ และสิณีนาฏ อุทา ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ การตรวจหาการติดเชื้อ Treponema pallidum ที่ทำให้เกิดโรคซิฟิลิสทางซีโรโลยีมีอยู่ 2 วิธี คือวิธีที่ไม่จำเพาะเจาะจง เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย เช่น Rapid Plasma Reagin (RPR) และวิธีที่จำเพาะ Treponemal test สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อโดยตรง แต่ละชุดตรวจจะมีความไว ความจำเพาะ และหลักการต่างกัน เช่น Chemiluminescence microimmuno assay (CMIA) และ Immuno Chromatographic Strip (ICS) เป็นต้น วัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ซึ่งใช้หลักการ ICS เปรียบเทียบกับชุดตรวจ Architect Syphilis TP ซึ่งใช้หลักการ CMIA วัสดุและวิธีการซีรั่มผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจด้วย Architect Syphilis TP ได้ผลเป็นลบ 1,000 ตัวอย่างและตัวอย่างที่

ได้ผลเป็นบวก 253 ตัวอย่าง แยกเป็น 199 ตัวอย่างให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ CMIA, Treponema pallidum particle agglutination (TPPA), RPR และอีก 54 ตัวอย่างให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ CMIA, TPPA และให้ผลลบด้วยชุดตรวจ RPR ทดสอบซีรั่มโดยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP อ่านผลการทดสอบทุกตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่คนเดียวกันและทบทวนผลด้วยเจ้าหน้าที่อีกคน บันทึกผลและเก็บข้อมูลคำนวณหาค่า ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ผลการศึกษาผลการตรวจซีรั่มที่ให้ผลเป็นลบ 1,000 ตัวอย่าง และซีรั่มที่ให้ผลบวก 253 ตัวอย่าง เมื่อตรวจด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP พบว่าให้ผลตรงกับการทดสอบโดยชุดตรวจอ้างอิงหลักการ CMIA ทุกตัวอย่าง ความไว 100% ความจำเพาะ 100% สรุปชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ที่ประเมินผลในการศึกษานี้มีความไวและความจำเพาะเช่นเดียวกับชุดตรวจอ้างอิง สามารถนำมาใช้พิจารณาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการตรวจกรองหรือตรวจยืนยันซิฟิลิสทางซีโรโลยีในโลหิตบริจาคได้

# บทที่ 4

# ปัญหาอุปสรรค แนวทางแก้ไขและข้อเสนอแนะ

## 4.1 ปัญหาอุปสรรคในการปฏิบัติงาน

1. การเจาะเลือดนำส่ง ก่อนทำการตรวจสอบถ้า serum หรือ plasma นั้น ๆ มีเม็ดเลือดแดงหรือตะกอนในเด็กแรกเกิดหรือผู้ป่วยที่เจาะเลือดยากก็อาจมีการปนเปื้อน Haemolysed, Lipaemic หรือ serum ที่ขุ่นมากจะทำให้เกิดปัญหาการรบกวนการตกตะกอนได้

2. เนื่องจากชุดการทดสอบค่อนข้างจะมีราคาแพงจึงเป็นข้อจำกัดหนึ่งที่ไม่สามารถ Repeat ผลการตรวจผู้ป่วยได้ทุกรายในการทำการทดลองได้

## 4.2 แนวทางแก้ไขและพัฒนา

1. ควรส่งบุคลากรในหน่วยงานเข้ารับการอบรมจากหน่วยงานที่มีความเชี่ยวชาญด้านการตรวจวิเคราะห์ TPHA เพื่อเป็นการเพิ่มทักษะให้แก่บุคลากร

2. ตรวจสอบน้ำยาให้มีคุณภาพและทำ control ก่อนจะทำการตรวจผู้ป่วยทุกวัน

## บรรณานุกรม

1. Package insert; TPHA TEST KIT, Lab 21 Healthcare Ltd., United Kingdom

Sell S. Basic immunology: immune mechanisms in health and disease. New York : Elsevier, 1987:117-148.

2. Zmijewski CM, Bellanti JA. Antigen-antibody interactions. Bellanti JA ed. Immunology III. Tokyo:Igaku-Shoin/ Saunders, 1985: 160-175.

3. เกรียงศักดิ์ ไชยวงค์ และคณะ. การประเมินชุดตรวจหาการติดเชื้อ Treponema pallidum ในโลหิตบริจาคด้วยหลักการ Immuno Chromatographic Strip.วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2557;24:261-7

4. นภาธร บานชื่น. สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ บรรณาธิการ. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. อิมมูโนวิทยา พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: บริษัท เค.พี.พริ้นติ้ง จำกัด, 2537: 159-189.

5. ธารินทร์ ภักดี และคณะ. การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อซิฟิลิสในผู้บริจาคเลือดที่มีผลตรวจกรองทางน้ำเหลืองวิทยาเป็นบวก. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2556;23:15-22.

6. อรุณรัฐ ร่มพฤกษ์ และ ยุพา เอื้อวิจิตรอรุณ. ซิฟิลิสกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2548;15:173-182.

## ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| ชื่อ | นางสาวปิ่นปินัทธ์ ประสงค์เกียรติ |
| วัน/เดือน/ปีเกิด | 5 มีนาคม พ.ศ. 2523 |
| ภูมิลำเนา | เชียงราย |
| ประวัติการศึกษา | มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา<br>วิทยาศาสตรบัณฑิต(สุขศึกษา) ปี พ.ศ. 2547 |
| ประวัติการทำงาน | หน่วยเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด<br>โรงพยาบาลวชิรพยาบาล คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล<br>มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช<br>681 ถ.สามเสน เขตดุสิต กทม. 10300 โทร. 02-244-3130<br>ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ |
| ที่อยู่ปัจจุบัน | 589/469 คอนโด ซิตี้โฮม-ปิ่นเกล้า ถ.จรัญสนิทวงศ์ แขวงบางอ้อ เขตบางพลัด<br>กรุงเทพมหานคร 10700<br>โทร. 082-928-9490 e-mail pinphinut35@gmail.com |