



Mahidol University
Faculty of Medical Technology

Final Report

The External Quality Assessment Scheme in Clinical Immunology (EQAI)

Hepatitis B Virus Serology

Trial: 3 / 2023

Issue No. 01 Issue Date: 22 September 2023

Provided by:

EQAI: Hepatitis B Virus Serology program
Department of Clinical Microbiology and Applied Technology
Faculty of Medical Technology, Mahidol University
Mobile: 080 982 5570
E-mail: eqai.mahidol@gmail.com

Approved by:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Chaniya Leepiyasakulchai'.

Asst. Prof. Chaniya Leepiyasakulchai, Ph.D.
Scheme Coordinator



1. รายละเอียดชุดตัวอย่าง

การดำเนินการ Hepatitis B virus Serology Scheme 2023 trial ที่ 3 นี้ โครงการฯ ได้เตรียมสิ่งส่งตรวจซึ่งเป็นซีรัมมนุษย์ที่เตรียมจาก fresh frozen plasma ให้กับสมาชิก จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ หมายเลข SE 02-23-3-1 ถึง SE 02-23-3-4 โดยมีค่า assigned value ของการทดสอบแบบ qualitative จากค่าห้องจากสมาชิกรายงานตรงกันมากกว่า 80% โดยทางโครงการฯ ได้จำแนกค่า assigned value ตามหลักการการทดสอบ และค่า assigned value จากทุกวิธีรวมกัน (all methods) ส่วนค่า assigned value แบบ quantitative ใช้การหาค่าตามหลักสถิติมาตรฐาน ISO 13528 โดยแสดงค่า median, nIQR และแสดงค่า uncertainty จากวิธี E-CLIA ซึ่งสมาชิกสามารถศึกษาได้จาก individual report ตารางที่แสดงค่า assigned value นี้เป็นค่าที่คิดจากทุกวิธีรวมกัน

ตารางที่ 1: ค่า assigned value ชนิด qualitative ของ HBV markers (All method)

	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	HBeAg	Anti-HBe
SE 02-23-3-1	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
SE 02-23-3-2	Negative	No Consensus	No Consensus	Negative	Negative
SE 02-23-3-3	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
SE 02-23-3-4	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive

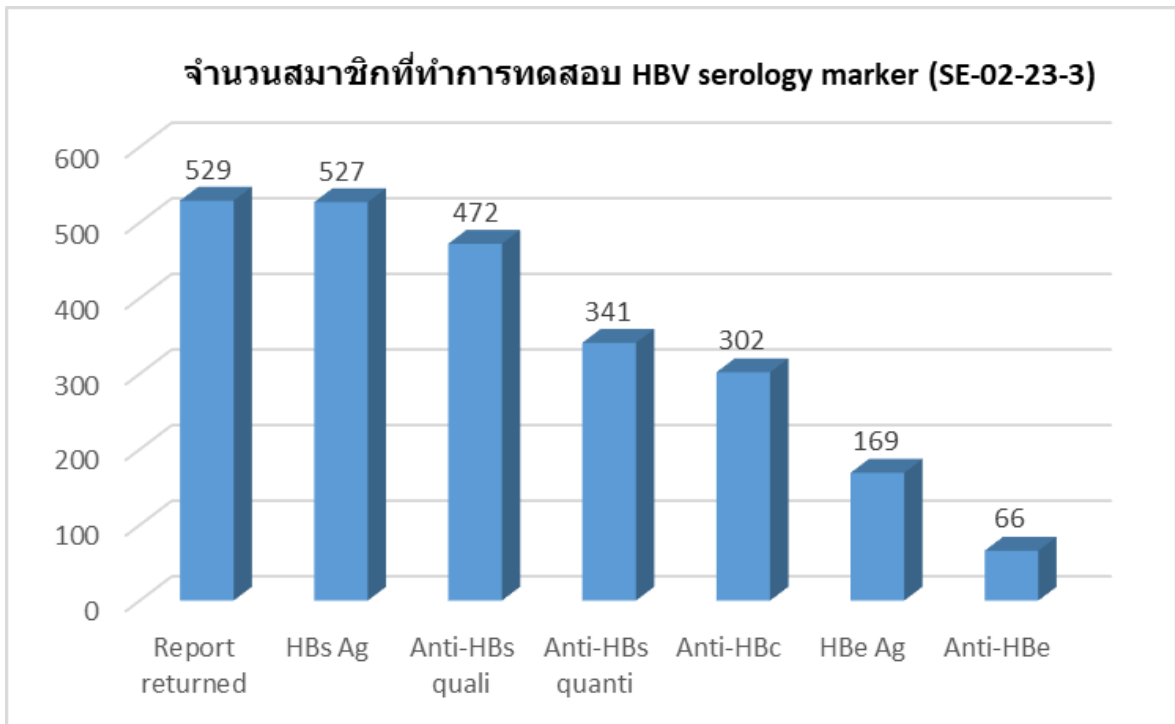
ตารางที่ 2: ค่า assigned value ชนิด quantitative ของ Anti-HBs (All method)

	Median	nIQR	Uncertainty
SE 02-23-3-1	2	0.69	0.17
SE 02-23-3-2	123.3	6.08	0.64
SE 02-23-3-3	3.32	1.82	0.23
SE 02-23-3-4	3.59	1.93	0.24

2. สรุปผลการดำเนินงาน

2.1. การเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

ในรอบปีนี้ มีสมาชิกเข้าร่วมโครงการจำนวน 572 แห่ง มีห้องปฏิบัติการที่ส่งผล trial ที่ 3 กลับมาจำนวน 529 แห่ง (ร้อยละ 92.5) โดยห้องปฏิบัติการจำนวน 529 แห่งนี้ ทำการทดสอบ HBV makers ต่าง ๆ ดังแสดงตามแผนภาพที่ 1



แผนภาพที่ 1: จำนวนสมาชิกที่ทำการทดสอบ HBV serology marker

3. รายละเอียดผลการทดสอบของสมาชิก

3.1 รายละเอียดผลการทดสอบ HBV serology ของแต่ละ Marker สมาชิกสามารถศึกษาได้จาก Individual Report ซึ่งทางโครงการฯ ได้จำแนกผลการทดสอบจากสมาชิกที่ทดสอบในแต่ละวิธีของทุกตัวอย่าง และทุก Marker ดังแสดงตัวอย่าง

SE02-23-3-2

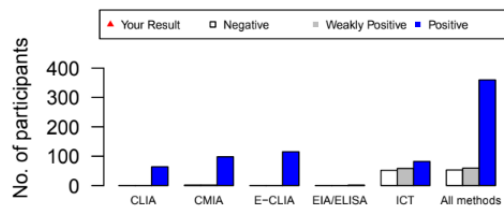
Number of result submitted: 472

A. Your result

Method	Result	Consensus	Score	Performance
ICT	Positive	No Consensus	Self Evaluate	Self Evaluate

B. All Participants Results

	N	Negative	Weakly Positive	Positive	Consensus
CLIA	64	0	0	64	Positive
CMIA	100	1	1	98	Positive
E-CLIA	115	0	0	115	Positive
EIA/ELISA	1	0	0	1	All Methods
ICT	192	52	58	82	No Consensus
All methods	472	53	59	360	No Consensus

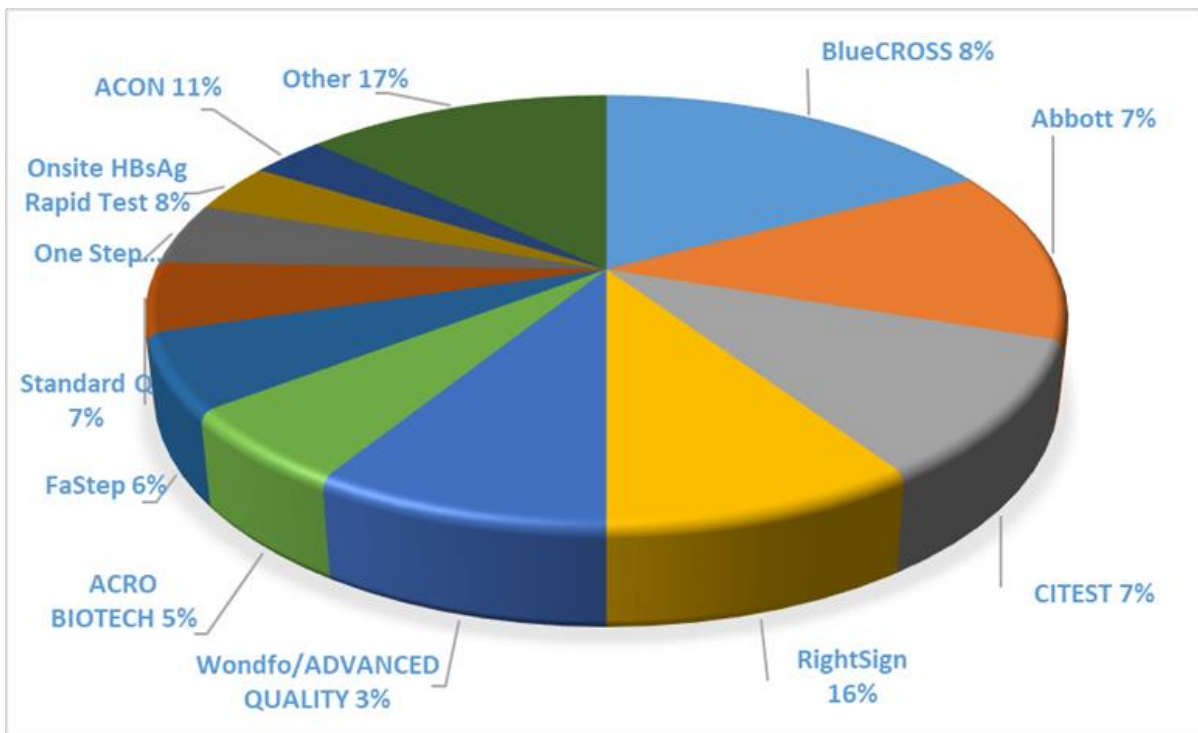




การรายงานผลแบบ qualitative test ทางโครงการฯ พบว่าสมาชิกกลุ่มที่ใช้การทดสอบหลักการ immunochromatography test (ICT) รายงานผลไม่พ้องกันมากกว่า 80% ทำให้ไม่สามารถออกค่า assigned value ในกลุ่มที่ใช้ ICT ดังแสดงในตารางที่ 3 ทางโครงการฯ จึงขอให้ท่านพิจารณาเลือกใช้ชุดทดสอบที่เหมาะสม และทำ internal quality control ในการทำการทดสอบ สัดส่วนการใช้ ICT จากสมาชิกที่รายงานน้ำยาที่ใช้แสดงในแผนภาพที่ 3

ตารางที่ 3: ผลของการทดสอบที่ใช้หลักการ immunochromatography ต่างจาก automation

Marker	Sample	ICT	Automation
Anti-HBs	SE02-23-3-2	No Consensus	Positive
Anti-HBc	SE02-23-3-2	Negative	Positive



แผนภาพที่ 3: สัดส่วนการใช้น้ำยา ICT จากสมาชิกที่รายงานน้ำยาที่ใช้



ในส่วนของการประเมิน anti-HBs ทางโครงการฯ ได้ประเมินแยกตามกลุ่มวิธีการทดสอบ โดยประเมินตามหลักสถิติมาตรฐาน ISO 13528 สมาชิกสามารถศึกษาผลการประเมินดังกล่าวอย่างแสดง อนึ่งหากวิธีใดมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ ทางโครงการฯ จะไม่ประเมินให้ แต่ให้สมาชิกศึกษาผลรายงานของสมาชิกเองเทียบกับกลุ่มอื่นและเทียบกับทุกวิธีรวมกัน

SE02-23-3-2

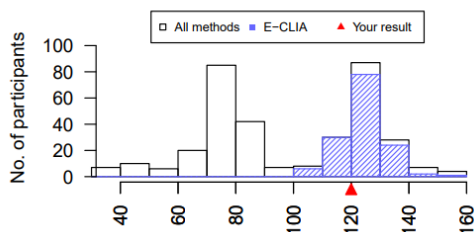
Number of result submitted: 341

A. Your result

Method	N	Result	Median	nIQR	z-score
E-CLIA	141	120	123.3	6.08	-0.54

B. All Participants Results

Method	N	Median	nIQR	Uncer
CLIA: Beckman Coulter	4	NA	NA	NA
CLIA: Liaison	19	130	12.6	3.61
CLIA: Mindray	22	86.63	5.92	1.58
CLIA: Siemens	6	75.49	5.99	3.06
CLIA: Snibe Maglumi	11	73.7	10.02	3.78
CLIA: Sysmex	4	NA	NA	NA
CLIA: Vitros	18	40.35	2.32	0.68
CMIA	113	75.65	5.64	0.66
E-CLIA	141	123.3	6.08	0.64
EIA / ELISA	1	NA	NA	NA
Other	2	NA	NA	NA
All methods	341	90.22	36.04	2.93



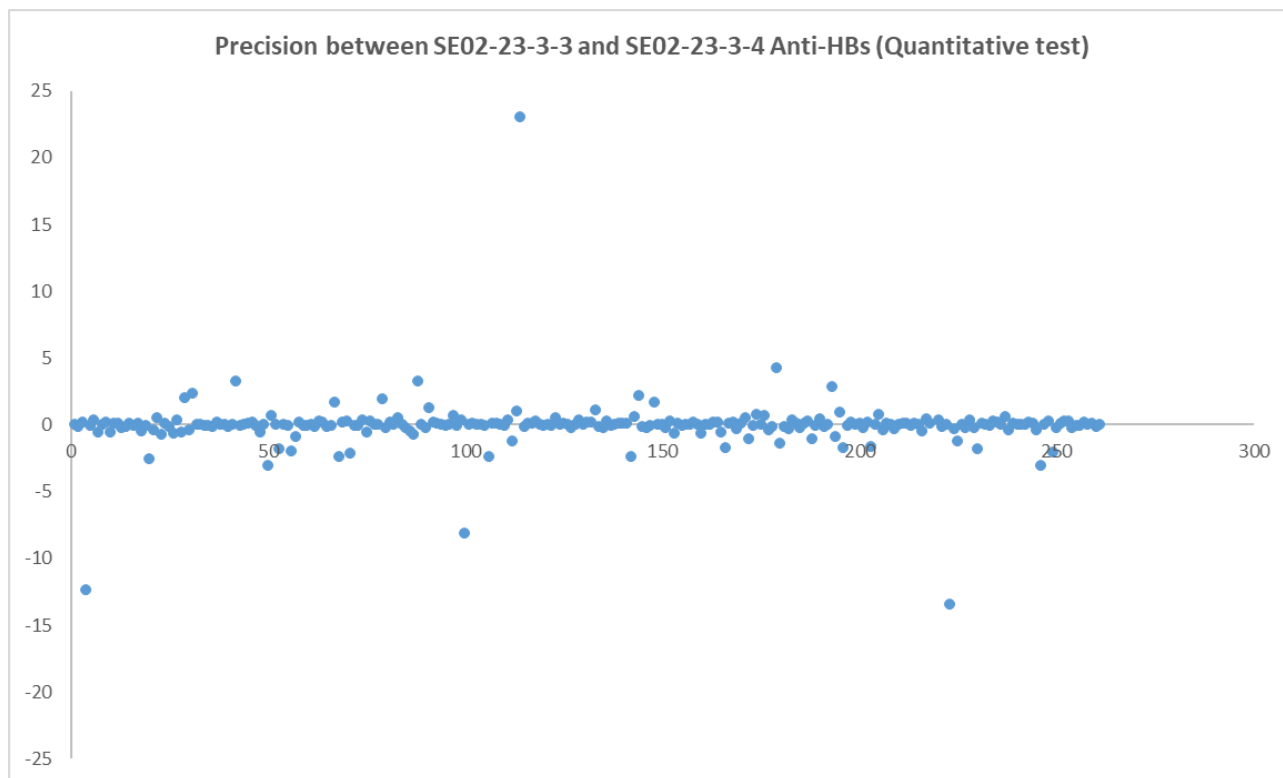
3.2 การประเมินความเที่ยง

ในรอบนี้ทางโครงการฯ ส่งตัวอย่างหมายเลข SE 02-23-3-3 และ SE 02-23-3-4 ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวกัน และทำการประเมินสมาชิก พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่รายงานผลแบบเชิงคุณภาพทั้ง 2 ตัวอย่างตรงกัน แต่มีสมาชิกบางรายที่รายงานผลไม่ตรงกัน ซึ่งสรุปผลได้ดังนี้

HBV marker	Non-agreement between SE 02-23-3-3 & SE 02-23-3-4	
	Number	%
HBsAg	0	0
Anti-HBs	1	0.75
Anti-HBc	4	0.18
HBeAg	1	0.005
Anti-HBe	0	0



สำหรับการประเมินผล anti-HBs แบบเชิงปริมาณของตัวอย่างหมายเลข SE 02-23-3-3 และ SE 02-23-3-4 ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวกัน พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่รายงานผลแบบเชิงปริมาณของทั้ง 2 ตัวอย่างค่าใกล้เคียงกัน แต่มีสมาชิกบางรายที่รายงานผล anti-HBs แบบเชิงปริมาณของทั้ง 2 ตัวอย่างต่างกันมาก ซึ่งสรุปผลได้ดังนี้



แผนภาพที่ 5: แสดงการประเมินความเที่ยงของ antiHBs แบบเชิงปริมาณ

3.3 การวิเคราะห์ performance quality ของห้องปฏิบัติการที่รายงานผลแบบ qualitative รายงานจากค่า Overall Missclassification Index Score (OMIS) จากตัวอย่างทั้ง 4 ตัวอย่าง ของแต่ละ marker และ Overall Mean Missclassification Index Score (OMMIS) มีดังนี้

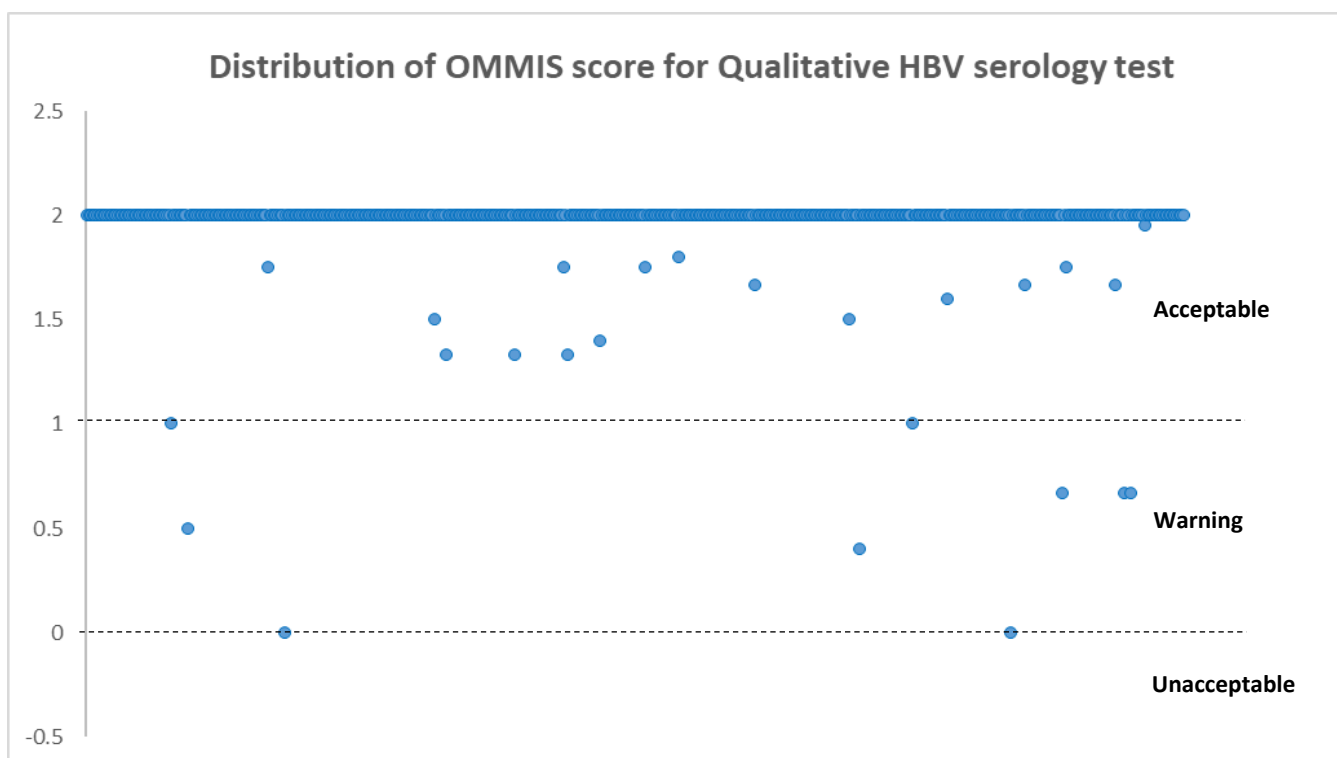


ตารางที่ 4: Performance of participants (qualitative test)

	การทดสอบ	Performance (qualitative test)			
		Acceptable (labs)	Warning (labs)	Unacceptable (labs)	Total (labs)
OMIS	HBs Ag	530	2	3	535
	Anti-HBs	471	0	0	471
	Anti-HBc	291	9	9	309
	HBe Ag	167	1	0	168
	Anti-HBe	60	2	2	64
OMMIS	HBV serology	526	2	7	535

โครงการฯ ยึดหลักเกณฑ์การประเมิน HBV serology (Qualitative test) ดังนี้

- Score Evaluation 2.00 Acceptable
- 1.0 Warning
- <1.0 Unacceptable



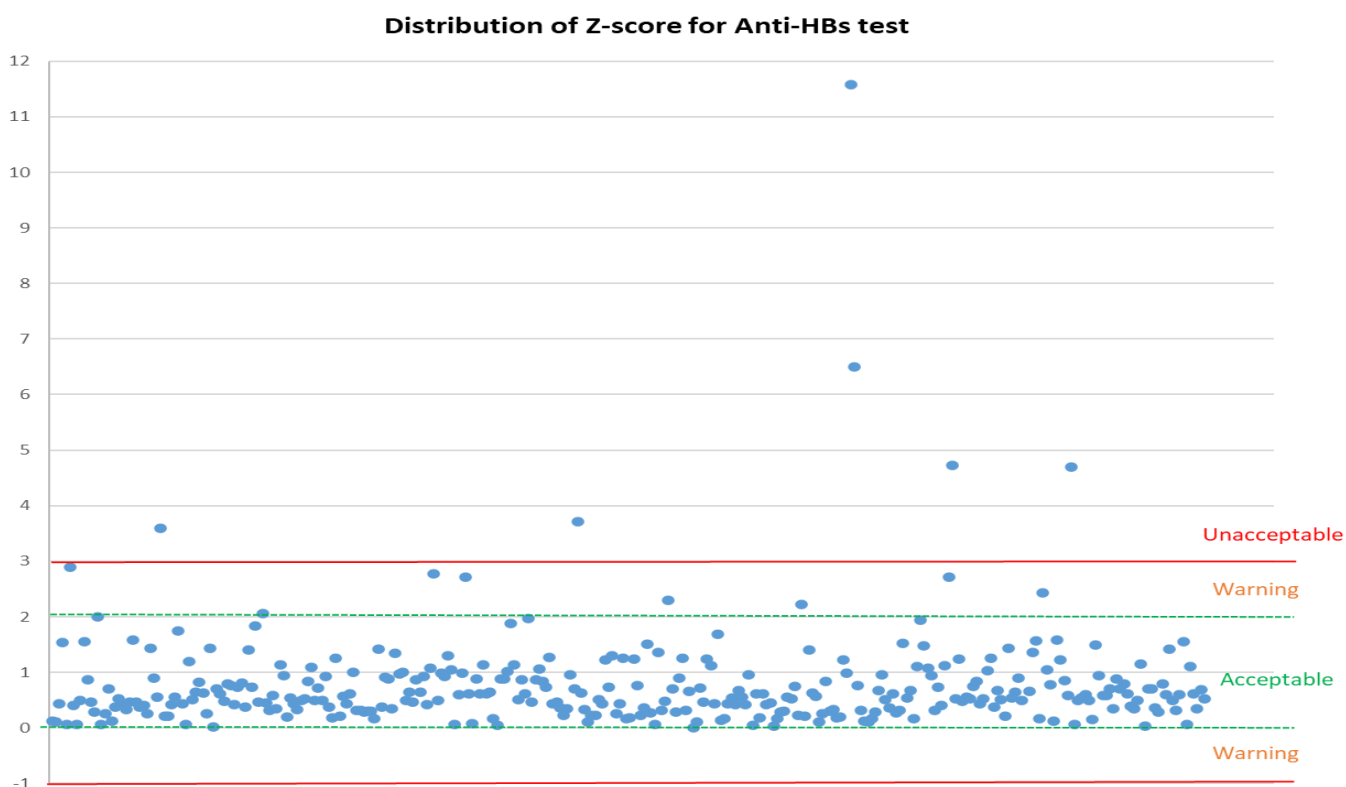
แผนภาพที่ 6: แสดงค่า OMMIS Qualitative test HBV serology



3.4 ผลของ laboratory performance quality ของการทดสอบ Anti-HBs แบบ quantitative ซึ่งวิเคราะห์โดยอิงกลุ่มที่ใช้วิธีเดียวกัน คำนวณจากค่า Z-Score มีผลการประเมินดังแสดงในตารางที่ 5 และแผนภาพที่ 7 ซึ่งจากแผนภาพแสดงค่า Z-Score ของสมาชิกที่รายงาน Anti-HBs แบบเชิงปริมาณ พบว่ามีสมาชิก 7 รายที่มีค่า Z-score $>|3|$ และมีสมาชิกจำนวน 9 ห้องปฏิบัติการไม่ถูกนำมาประเมินในแผนภาพเนื่องจากวิธีการทดสอบมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 5: Performance of Participants performed Anti-HBs

Performance quality	score	Number of Participants
Acceptable	$0 - 2 $	315
warning	$> 2 - 3 $	9
unacceptable	$> 3 $	7



แผนภาพที่ 7: Distribution of Z-score for antiHBs



4. สรุปและวิจารณ์

ในครั้งที่ 3/2023 นี้ อัตราผลตอบของสมาชิกถือว่าอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (ร้อยละ 92.5) แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่า มีสมาชิกไม่รายงานผลกลับซึ่งถือว่าเป็นการเสียโอกาสในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการและอาจจะส่งผลกระทบต่อกรขอรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ สมาชิกสามารถส่งผลและรับผลการประเมิน รวมทั้งข่าวสารต่างๆ จากทางโครงการผ่านเว็บไซต์ <https://eqamt.mahidol.ac.th/>

ทางโครงการฯ มีความกังวลถึงวิธีการที่สมาชิกเลือกใช้ชุดทดสอบ Immunochromatography Test ของห้องปฏิบัติการสมาชิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับตรวจหา Anti-HBs และ Anti-HBc ซึ่งทางโครงการฯ สังเกตเห็นว่าชุดทดสอบแบบรวดเร็วนี้ให้ผล False negative เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ใช้ automation ดังนั้นจึงขอแนะนำห้องปฏิบัติการสมาชิกเลือกใช้ชุดทดสอบที่เหมาะสม มีคุณภาพ และทำการควบคุมคุณภาพการทดสอบด้วย

5.รายนามที่ปรึกษาสถิติและผู้ดำเนินแผน

5.1 รายนามที่ปรึกษาทางสถิติ:

อาจารย์ ดร. ประสงค์ แคน้ำ

5.2 รายนามผู้ดำเนินแผน:

ผู้ประสานแผน (Scheme Coordinator) :

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนียา ลีปิยะสกุลชัย

ผู้จัดการวิชาการ (Technical Manager) :

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมหญิง โลหะรังสีกุล

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโครงการฯ (Operator):

นางสาววิศรา ประทีบอาราม



ภาคผนวก

1. ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity test)

ตัวอย่างที่ถูกแบ่งบรรจุแล้วถูกนำไปตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการสุ่มเลือกตัวอย่างด้วยโปรแกรมเอ็กซ์เซล จำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อทำการทดสอบ ที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูตตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้รับการรับรอง ISO15189 หลักการทดสอบที่ใช้ คือ E-CLIA จากผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงคุณภาพของตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ผลการทดสอบทั้งหมดของตัวอย่าง (ร้อยละ 100) มีผลการทดสอบที่เหมือนกันทั้ง 10 ตัวอย่าง และผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงปริมาณโดยหลัก สถิติ ISO 13528 ของตัวอย่างที่ SE02-23-3-1 SE02-23-3-2 SE02-23-3-3 และ SE02-23-3-4 โดยเกณฑ์ผ่านคือ $s_s \leq 0.3 nIQR$ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

SE02-23-3-1				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG

SE02-23-3-3, SE02-23-3-4				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS
POS	NEG	POS	NEG	POS

SE02-23-3-2				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG
NEG	POS	POS	NEG	NEG



ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชงปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-23-3-2

Position <i>t</i>	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $x_{t.}$	Between-test- portion range	
				w_t	w_t^2
43	139.60	135.10	137.35	4.50	20.25
68	140.20	136.90	138.55	3.30	10.89
144	138.30	138.40	138.35	-0.10	0.01
201	138.70	134.10	136.40	4.60	21.16
288	137.70	136.80	137.25	0.90	0.81
324	138.90	136.70	137.80	2.20	4.84
386	135.40	136.90	136.15	-1.50	2.25
442	137.70	132.30	135.00	5.40	29.16
526	137.80	134.80	136.30	3.00	9.00
590	132.60	136.50	134.55	-3.90	15.21
$= \sum w_t^2$					113.58

Calculate S_w & S_s , Method ECLIA by ISO 13528 formula:

General average of sample mean	136.77
Standard deviation of sample averages (s_x)	1.34
Within-samples standard deviation (s_w)	2.38
Between-samples standard deviation (s_s)	0.00

$nIQR = 26.28$

Thus, $0.3 nIQR = 7.88$

$S_s < 0.3nIQR \Rightarrow PASS$

Conclusion: EQAI sample is adequately homogeneous



ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชงปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-23-3-3

Position <i>t</i>	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $x_{t.}$	Between-test- portion range	
				w_t	w_t^2
34	9.00	6.48	7.74	2.52	6.35
75	9.37	6.29	7.83	3.08	9.49
148	10.11	6.20	8.16	3.91	15.29
202	9.28	6.11	7.70	3.17	10.05
245	9.63	5.77	7.70	3.86	14.90
329	9.12	0.00	4.56	9.12	83.17
399	9.32	0.00	4.66	9.32	86.86
455	8.47	0.00	4.24	8.47	71.74
512	9.15	0.00	4.58	9.15	83.72
587	9.53	0.00	4.77	9.53	90.82
				$= \sum w_t^2$	472.39

Calculate s_w & s_s , Method ECLIA by ISO 13528 formula:

General average of sample mean	6.19
Standard deviation of sample averages (s_x)	1.73
Within-samples standard deviation (s_w)	4.86
Between-samples standard deviation (s_s)	0.00

$nIQR = 26.28$

Thus, $0.3 nIQR = 7.88$

$s_s < 0.3nIQR \Rightarrow PASS$

Conclusion:	EQAI sample is adequately homogeneous
-------------	----------------------------------------------



ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชงปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-23-3-4

Position <i>t</i>	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $x_{t.}$	Between-test- portion range	
				w_t	w_t^2
4	9.14	0.00	4.57	9.14	83.54
113	9.03	0.00	4.52	9.03	81.54
123	7.52	0.00	3.76	7.52	56.55
231	8.94	0.00	4.47	8.94	79.92
260	9.13	0.00	4.57	9.13	83.36
309	8.72	5.42	7.07	3.30	10.89
377	8.60	6.00	7.30	2.60	6.76
432	8.62	5.92	7.27	2.70	7.29
533	8.52	5.83	7.18	2.69	7.24
574	8.28	6.01	7.15	2.27	5.15
$= \sum w_t^2$					422.24

Calculate S_w & S_s , Method ECLIA by ISO 13528 formula:

General average of sample mean	5.78
Standard deviation of sample averages (s_x)	1.50
Within-samples standard deviation (s_w)	4.59
Between-samples standard deviation (s_s)	0.00

$nIQR = 15.57$

Thus, $0.3 nIQR = 4.67$

$S_s < 0.3nIQR$

\Rightarrow PASS

Conclusion: **EQAI sample is adequately homogeneous**



2.ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง

โครงการฯ ดำเนินการทดสอบความคงทนใน 2 สภาวะ คือ

1. เก็บตัวอย่างไว้ที่ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันที่ส่งตัวอย่างให้สมาชิกจนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก
จึงนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูงตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2. ตัวอย่างที่ส่งไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิก 4 ห้องปฏิบัติการ ตามภูมิภาคต่างๆ และได้รับตัวอย่างกลับคืน
โดยไม่มีการเปิดกล่อง เมื่อได้รับตัวอย่างคืนทางโครงการเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส จนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก จึง
นำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูงตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ผลการทดสอบความคงตัวเชิงคุณภาพของตัวอย่างทั้ง 2 สภาวะ มีผลการทดสอบที่ไม่ต่างจากผลของการทดสอบ
ความเป็นเนื้อเดียวกัน

ผลการทดสอบความคงตัวเชิงปริมาณทั้ง 2 สภาวะ ของตัวอย่างที่ SE02-23-3-2, SE02-23-3-3 และ SE02-23-
3-4 มีผลการทดสอบที่ต่างจากผลของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันในช่วงที่ยอมรับได้ $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3nIQR$
ตามหลักสถิติ ISO 13528

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

Conditions		SE-02-23-3-1					SE-02-23-3-2				
		HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe	HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
	1	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG
Transportation	2	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG
	3	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG
	4	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG
Keep at 4°C	1	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG
	2	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG	NEG

Conditions		SE-02-23-3-3, SE-02-23-3-4				
		HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
	1	POS	NEG	POS	NEG	POS
Transportation	2	POS	NEG	POS	NEG	POS
	3	POS	NEG	POS	NEG	POS
	4	POS	NEG	POS	NEG	POS
Keep at 4°C	1	POS	NEG	POS	NEG	POS
	2	POS	NEG	POS	NEG	POS