



**Mahidol University**  
Faculty of Medical Technology

# Final Report

The External Quality Assessment Scheme in Clinical Immunology (EQAI)

## Hepatitis B Virus Serology

Trial: 4 / 2023

Issue No. 01 Issue Date: 28 December 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](mailto: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 4 นี้ โครงการฯ ได้เตรียมสิ่งส่งตรวจซึ่งเป็นซีรัมมนุษย์ที่เตรียมจาก fresh frozen plasma ให้กับสมาชิก จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ หมายเลข SE 02-23-4-1 ถึง SE 02-23-4-4 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 02-23-4-1	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
SE 02-23-4-2	Negative	No Consensus	No Consensus	Negative	No Consensus
SE 02-23-4-3	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
SE 02-23-4-4	Negative	Positive	No Consensus	Negative	Negative

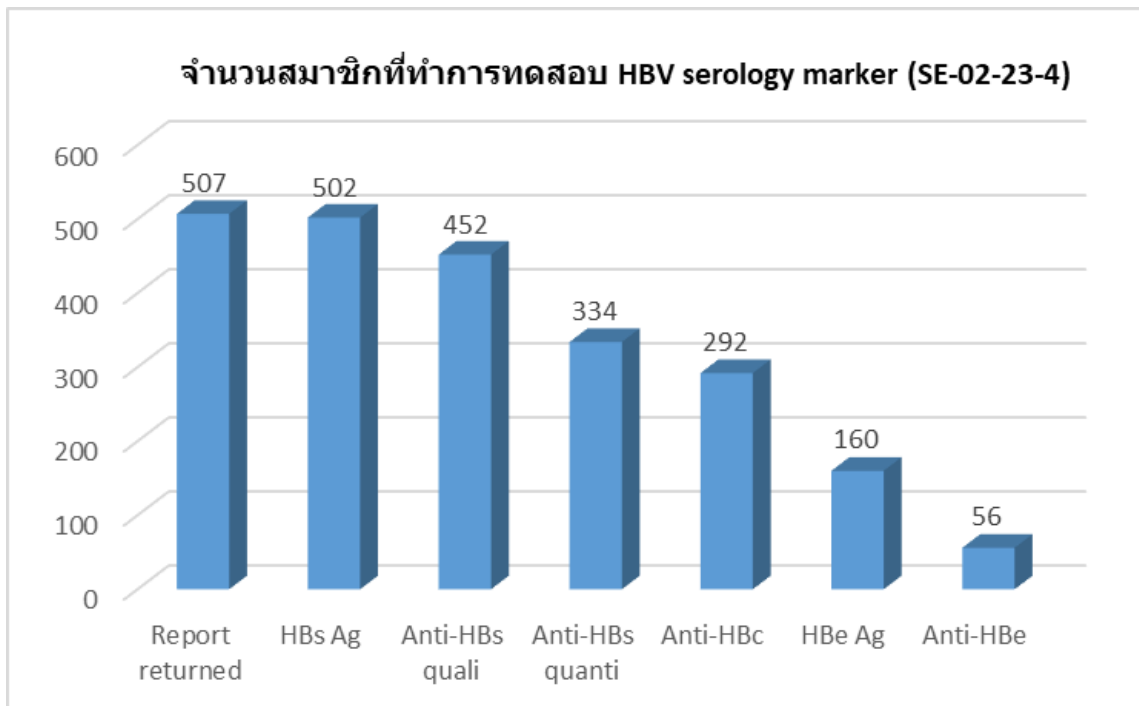
ตารางที่ 2: ค่า assigned value ชนิด quantitative ของ Anti-HBs (All method)

	Median	nIQR	Uncertainty
SE 02-23-4-1	0.86	1.1	0.12
SE 02-23-4-2	76.26	13.64	1.13
SE 02-23-4-3	0	0.5	0.06
SE 02-23-4-4	236.3	41.83	3.46

## 2. สรุปผลการดำเนินงาน

### 2.1. การเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

ในรอบปีนี้ มีสมาชิกเข้าร่วมโครงการจำนวน 572 แห่ง มีห้องปฏิบัติการที่ส่งผล trial ที่ 4 กลับมาจำนวน 507 แห่ง (ร้อยละ 88.6) โดยห้องปฏิบัติการจำนวน 507 แห่งนี้ ทำการทดสอบ HBV makers ต่าง ๆ ดังแสดงตามแผนภาพที่



แผนภาพที่ 1: จำนวนสมาชิกที่ทำการทดสอบ HBV serology marker

### 3.รายละเอียดผลการทดสอบของสมาชิก

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

#### SE02-23-4-3

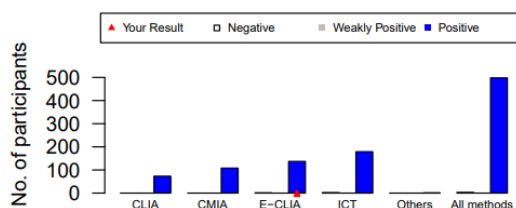
Number of result submitted: 501

#### A. Your result

Method	Result	Consensus	Score	Performance
E-CLIA	Positive	Positive	2	Acceptable

#### B. All Participants Results

	N	Negative	Weakly Positive	Positive	Consensus
CLIA	73	0	0	73	Positive
CMIA	108	0	0	108	Positive
E-CLIA	138	1	0	137	Positive
ICT	181	2	0	179	Positive
Others	1	0	0	1	All Methods
All methods	501	3	0	498	Positive

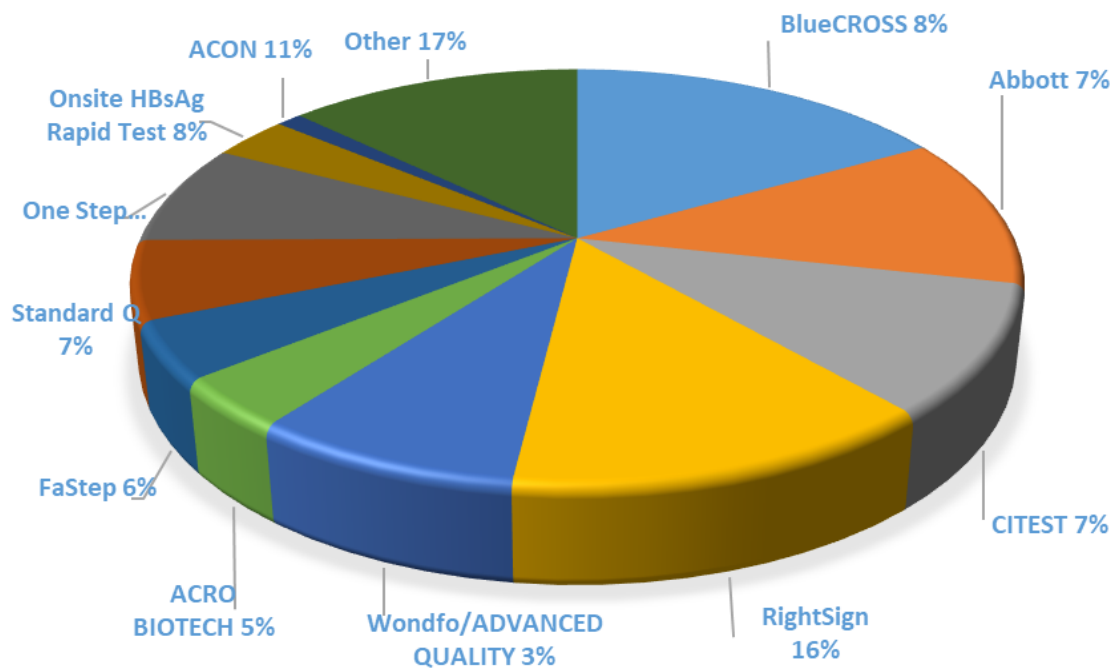




การรายงานผลแบบ qualitative test ทางโครงการฯ พบว่าสมาชิกกลุ่มที่ใช้การทดสอบหลักการ immunochromatography test (ICT) รายงานผลไม่พ้องกันมากกว่า 80% ทำให้ไม่สามารถออกค่า assigned value ในกลุ่มที่ใช้ ICT ดังแสดงในตารางที่ 3 ทางโครงการฯ จึงขอให้ท่านพิจารณาเลือกใช้ชุดทดสอบที่เหมาะสม และทำ internal quality control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

ตารางที่ 3: ผลของการทดสอบที่ใช้หลักการ immunochromatography ต่างจาก automation

Marker	Sample	ICT	Automation
Anti-HBs	SE02-23-4-2	No Consensus	Positive
	SE02-23-4-4	No Consensus	Positive
Anti-HBc	SE02-23-4-2	No Consensus	Positive
	SE02-23-4-4	Negative	Positive
Anti-HBe	SE02-23-4-2	Negative	Positive



แผนภาพที่ 3: สัดส่วนการใช้น้ำยา ICT จากสมาชิกที่รายงานน้ำยาที่ใช้



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

**SE02-23-4-2**

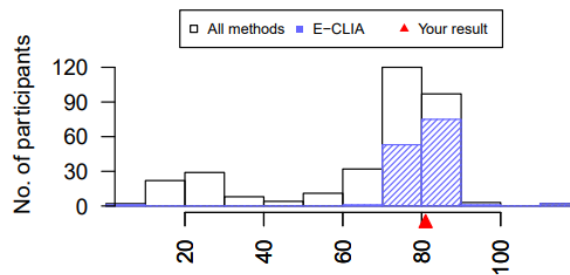
Number of result submitted: 334

**A. Your result**

Method	N	Result	Median	nIQR	z-score
E-CLIA	133	80.99	80.76	4.31	0.05

**B. All Participants Results**

Method	N	Median	nIQR	Uncer
CLIA: Beckman Coulter	3	NA	NA	NA
CLIA: Liaison	17	84.7	5.56	1.69
CLIA: Mindray	22	24.48	3.46	0.92
CLIA: Siemens	6	67.68	18.1	9.24
CLIA: Snibe Maglumi	11	28	2.27	0.86
CLIA: Sysmex	3	NA	NA	NA
CLIA: Vitros	19	14.9	1.11	0.32
CMIA	111	73.09	8.05	0.96
E-CLIA	133	80.76	4.31	0.47
FEIA	1	NA	NA	NA
Other	4	NA	NA	NA
All methods	330	76.26	13.64	1.13



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

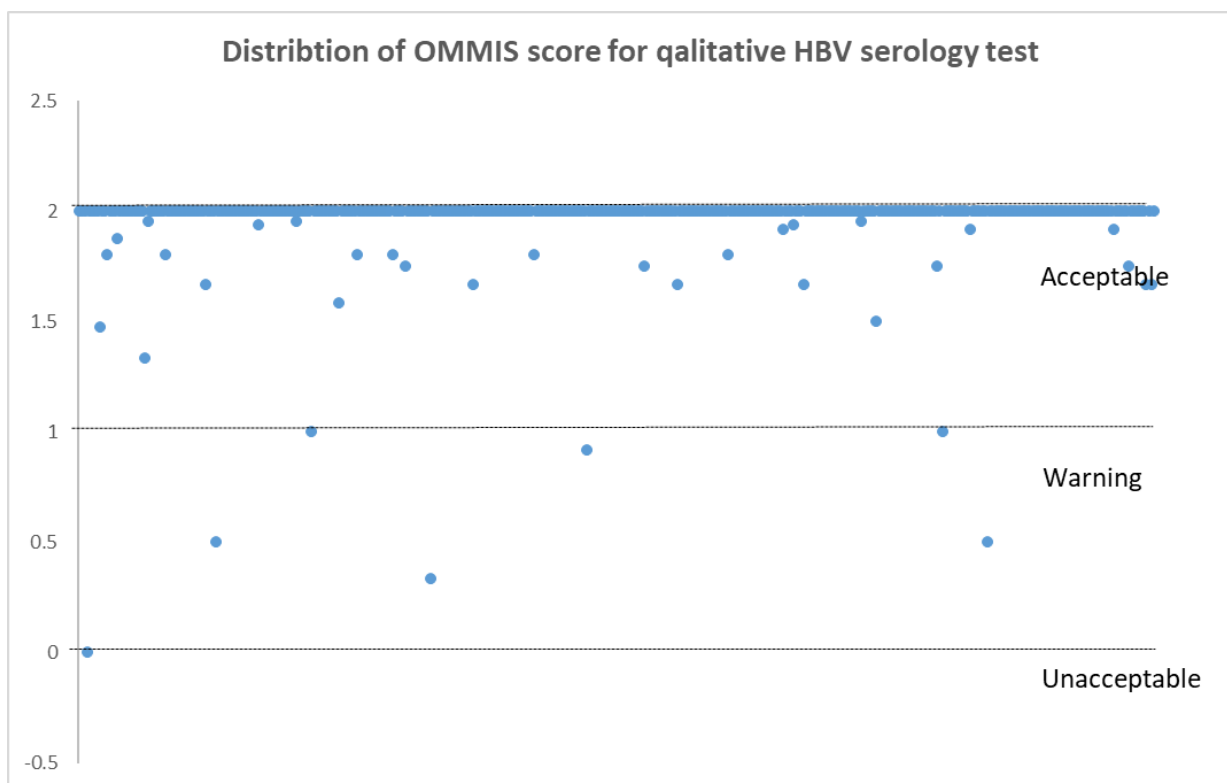


ตารางที่ 4: Performance of participants (qualitative test)

	การทดสอบ	Performance (qualitative test)			
		Acceptable (labs)	Warning (labs)	Unacceptable (labs)	Total (labs)
OMIS	HBs Ag	475	17	10	502
	Anti-HBs	452	0	0	452
	Anti-HBc	285	4	3	292
	HBe Ag	157	3	0	160
	Anti-HBe	55	1	0	56
OMMIS	HBV serology	495	4	5	504

โครงการฯ ยึดหลักเกณฑ์การประเมิน HBV serology (Qualitative test) ดังนี้

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



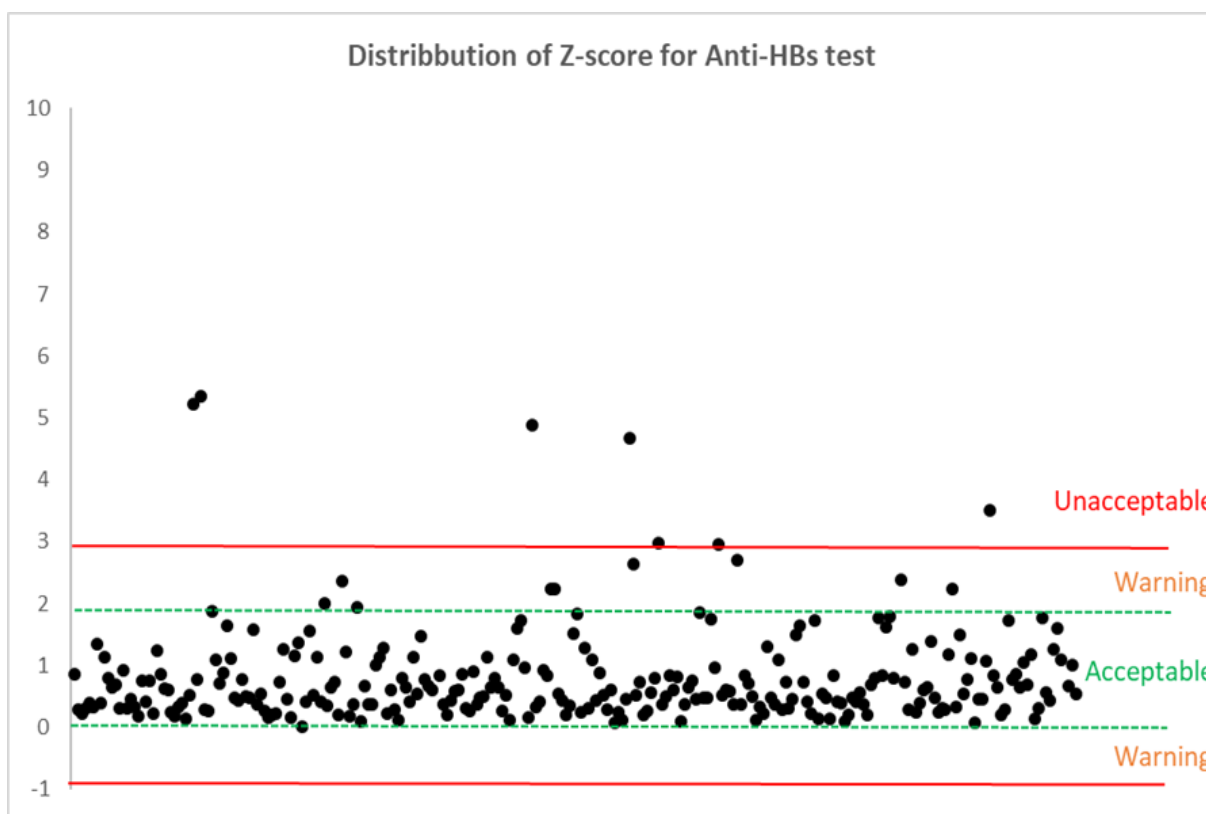
แผนภาพที่ 5: แสดงค่า OMMIS Qualitative test HBV serology



3.3 ผลของ laboratory performance quality ของการทดสอบ Anti-HBs แบบ quantitative ซึ่งวิเคราะห์โดยอิงกลุ่มที่ใช้วิธีเดียวกัน คำนวณจากค่า Z-Score มีผลการประเมินดังแสดงในตารางที่ 5 และแผนภาพที่ 6 ซึ่งจากแผนภาพแสดงค่า Z-Score ของสมาชิกที่รายงาน Anti-HBs แบบเชิงปริมาณ พบว่ามีสมาชิก 9 รายที่มีค่า Z-score  $>|3|$  และมีสมาชิกจำนวน 11 ห้องปฏิบัติการไม่ถูกนำมาประเมินในแผนภาพเนื่องจากการทดสอบมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 5: Performance of Participants performed Anti-HBs

Performance quality	score	Number of Participants
Acceptable	$0 -  2 $	304
warning	$>  2  -  3 $	10
unacceptable	$>  3 $	9



แผนภาพที่ 6: Distribution of Z-score for anti-HBs



#### 4. สรุปและวิจารณ์

ในครั้งที่ 4/2023 นี้ อัตราผลตอบของสมาชิกถือว่าอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (ร้อยละ 88.6) แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่า มีสมาชิกไม่รายงานผลกลับซึ่งถือว่าเป็นการเสียโอกาสในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการและอาจจะส่งผลกระทบต่อการขอรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ สมาชิกสามารถส่งผลและรับผลการประเมิน รวมทั้งข่าวสารต่างๆ จากทางโครงการผ่านเว็บไซต์ <https://eqamt.mahidol.ac.th/>

ทางโครงการฯ มีความกังวลถึงวิธีการที่สมาชิกเลือกใช้ชุดทดสอบ Immunochromatography Test ของห้องปฏิบัติการสมาชิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับตรวจหา Anti-HBs Anti-HBc และ Anti-HBe ซึ่งทางโครงการฯ สังเกตเห็นว่าชุดทดสอบแบบรวดเร็วนี้ให้ผล False negative เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ใช้ automation ดังนั้นจึงขอแนะนำห้องปฏิบัติการสมาชิกเลือกใช้ชุดทดสอบที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานการประเมินประสิทธิภาพการทดสอบ และทำการควบคุมคุณภาพภายในของแต่ละการทดสอบด้วย

#### 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 ของค่า antiHBs ตัวอย่างที่ SE02-23-4-2 และ SE02-23-4-4 โดยเกณฑ์ผ่านคือ  $s_r \leq 0.3 nIQR$  ดังแสดงในตารางที่ 2 และ ตารางที่ 3

#### ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

SE02-23-4-1				
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

SE02-23-4-3				
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

SE02-23-4-2				
HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
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	POS	NEG	POS

SE02-23-4-4				
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
NEG	POS	POS	NEG	NEG



ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชนปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-23-4-2

Position <i>t</i>	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $\bar{x}_{t..}$	Between-test-portion range	
				$w_t$	$w_t^2$
23	84.26	96.69	90.48	-12.43	154.50
65	85.93	88.72	87.33	-2.79	7.78
161	85.31	85.85	85.58	-0.54	0.29
186	85.49	90.36	87.93	-4.87	23.72
260	85.21	86.43	85.82	-1.22	1.49
351	84.46	85.24	84.85	-0.78	0.61
373	85.97	86.29	86.13	-0.32	0.10
459	84.77	85.50	85.14	-0.73	0.53
488	87.49	86.72	87.11	0.77	0.59
550	87.26	85.25	86.26	2.01	4.04
				$= \sum w_t^2$	193.66

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

General average of sample mean	86.66
Standard deviation of sample averages ( $s_x$ )	1.66
Within-samples standard deviation ( $s_w$ )	3.11
Between-samples standard deviation ( $s_s$ )	0.00

$nIQR = 4.35$

Thus,  $0.3 nIQR = 1.31$

$S_s < 0.3nIQR \Rightarrow PASS$

**Conclusion: EQAI sample is adequately homogeneous**



ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชงปริมาณ ตัวอย่างที่ SE02-23-4-4

Position <i>t</i>	Replicate 1 (g) 1	Replicate 2 (g) 2	Sample mean $X_{t.}$	Between-test- portion range	
				$w_t$	$w_t^2$
5	255.10	256.90	256.00	-1.80	3.24
81	260.60	259.40	260.00	1.20	1.44
150	259.10	255.10	257.10	4.00	16.00
230	252.20	255.80	254.00	-3.60	12.96
255	254.50	260.50	257.50	-6.00	36.00
316	260.40	258.30	259.35	2.10	4.41
368	268.50	262.70	265.60	5.80	33.64
476	260.10	253.10	256.60	7.00	49.00
526	263.30	259.00	261.15	4.30	18.49
552	260.90	258.40	259.65	2.50	6.25
$= \sum w_t^2$					181.43

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

General average of sample mean	258.70
Standard deviation of sample averages ( $s_x$ )	3.24
Within-samples standard deviation ( $s_w$ )	3.01
Between-samples standard deviation ( $s_s$ )	2.44

$nIQR = 9.23$

Thus,  $0.3 nIQR = 2.77$

$S_s < 0.3nIQR \Rightarrow PASS$

**Conclusion: EQAI sample is adequately homogeneous**



## 2.ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง

โครงการฯ ดำเนินการทดสอบความคงทนใน 2 สภาวะ คือ

- เก็บตัวอย่างไว้ที่ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันที่ส่งตัวอย่างให้สมาชิกจนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก  
จึงนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูงตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
- ตัวอย่างที่ส่งไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิก 4 ห้องปฏิบัติการ ตามภูมิภาคต่างๆ และได้รับตัวอย่างกลับคืน  
โดยไม่มีการเปิดกล่อง เมื่อได้รับตัวอย่างคืนทางโครงการเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส จนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก จึง  
นำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูงตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่างทั้ง 2 สภาวะ มีผลการทดสอบที่ไม่ต่างจากผลของการทดสอบ  
ความเป็นเนื้อเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

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

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