



Mahidol University
Faculty of Medical Technology

Final Report

The External Quality Assessment Scheme in Clinical Immunology (EQAI)

Hepatitis B Virus Serology

Trial: 2/ 2025

Issue No. 01 Issue Date: 24 July 2025

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: eqaihbv.mtmu@gmail.com

Approved by:

A handwritten signature in black ink, reading "Chaniya Leepiyasakulchai".

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



1. รายละเอียดชุดตัวอย่าง

การดำเนินการ Hepatitis B virus Serology Scheme 2025 trial ที่ 2 นี้ โครงการฯ ได้เตรียมสิ่งส่งตรวจซึ่งเป็นซีรัมมนุษย์ที่เตรียมจาก fresh frozen plasma ให้กับสมาชิก จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ หมายเลข SE 02-25-2-1 ถึง SE 02-25-2-4 โดยมีค่า assigned value ของการทดสอบแบบ qualitative จากค่าห้องจากสมาชิกรายงานตรงกันมากกว่า 80% ทางโครงการฯ ได้จำแนกค่า assigned value ตามหลักการทดสอบ และค่า assigned value จากทุกวิธีรวมกัน (all methods) ส่วนค่า assigned value แบบ quantitative ใช้การหาค่าตามหลักสถิติมาตรฐาน ISO 13528 โดยแสดงค่า mean, SD และแสดงค่า uncertainty ในทุกหลักการการทดสอบ และจากทุกวิธี (all methods) 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 02-25-2-1	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
SE 02-25-2-2	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
SE 02-25-2-3	Negative	No consensus	Negative	Negative	Negative
SE 02-25-2-4	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive

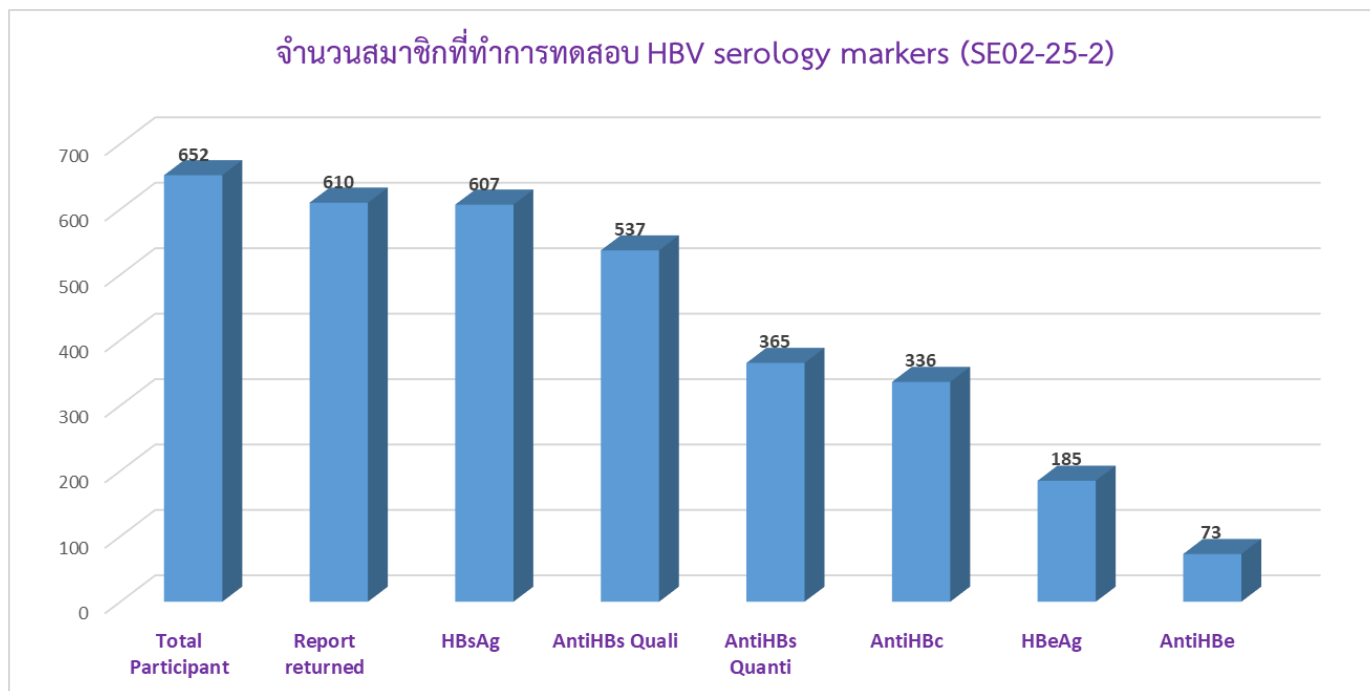
ตารางที่ 2: ค่า assigned value ชนิด quantitative ของ Anti-HBs (All method)

	Mean	SD	Uncertainty
SE 02-25-2-1	0.76	1.01	0.08
SE 02-25-2-2	4.61	1.96	0.13
SE 02-25-2-3	19.88	7.59	0.5
SE 02-25-2-4	0.81	1.22	0.1

2. สรุปผลการดำเนินงาน

2.1. การเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

ในรอบปีนี้มีสมาชิกเข้าร่วมโครงการจำนวน 652 แห่ง มีห้องปฏิบัติการที่ส่งผล trial ที่ 2 กลับมาจำนวน 610 แห่ง (ร้อยละ 93.6) โดยห้องปฏิบัติการจำนวน 610 แห่งนี้ ทำการทดสอบ HBV makers ต่าง ๆ ดังแสดงตามแผนภาพที่ 1



แผนภาพที่ 1: จำนวนสมาชิกที่ทำการทดสอบ HBV marker ต่าง ๆ

3.รายละเอียดผลการทดสอบของสมาชิก

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

การรายงานผลแบบเชิงคุณภาพ ทางโครงการฯ พบว่าสมาชิกกลุ่มที่ใช้การทดสอบหลักการ CLIA ในการทดสอบ antiHBs ตัวอย่างที่ SE02-25-2-3 รายงานผลไม่พ้องกันมากกว่า 80% ทำให้ไม่สามารถออกค่า assigned value เฉพาะกลุ่มได้ โดยมีสมาชิกที่ใช้หลักการ CLIA จำนวน 45 แห่งรายงานผลเป็น negative ทางโครงการจึงแจกแจงรายละเอียด ผลการทดสอบของสมาชิกที่ใช้หลักการ CLIA โดยแยกยี่ห้อ/บริษัท ดังตารางที่ 3 และพบว่ากลุ่มที่ใช้ immunochromatography test (ICT) ในการทดสอบ antiHBs ตัวอย่างที่ SE02-25-2-3 รายงานผลสอดคล้องกันมากกว่า 80% สามารถออกค่า assigned value เฉพาะกลุ่ม ได้ แต่มีผลตรงข้ามกับกลุ่มที่ใช้ machine based test ดังแสดงในตารางที่ 4 ทางโครงการฯ จึงขอให้ท่านพิจารณาเลือกใช้ชุดทดสอบให้เหมาะสม และทำ internal quality control ในการทำการทดสอบ สัดส่วนการใช้ ICT จากสมาชิกที่รายงานแสดงในแผนภาพที่ 2



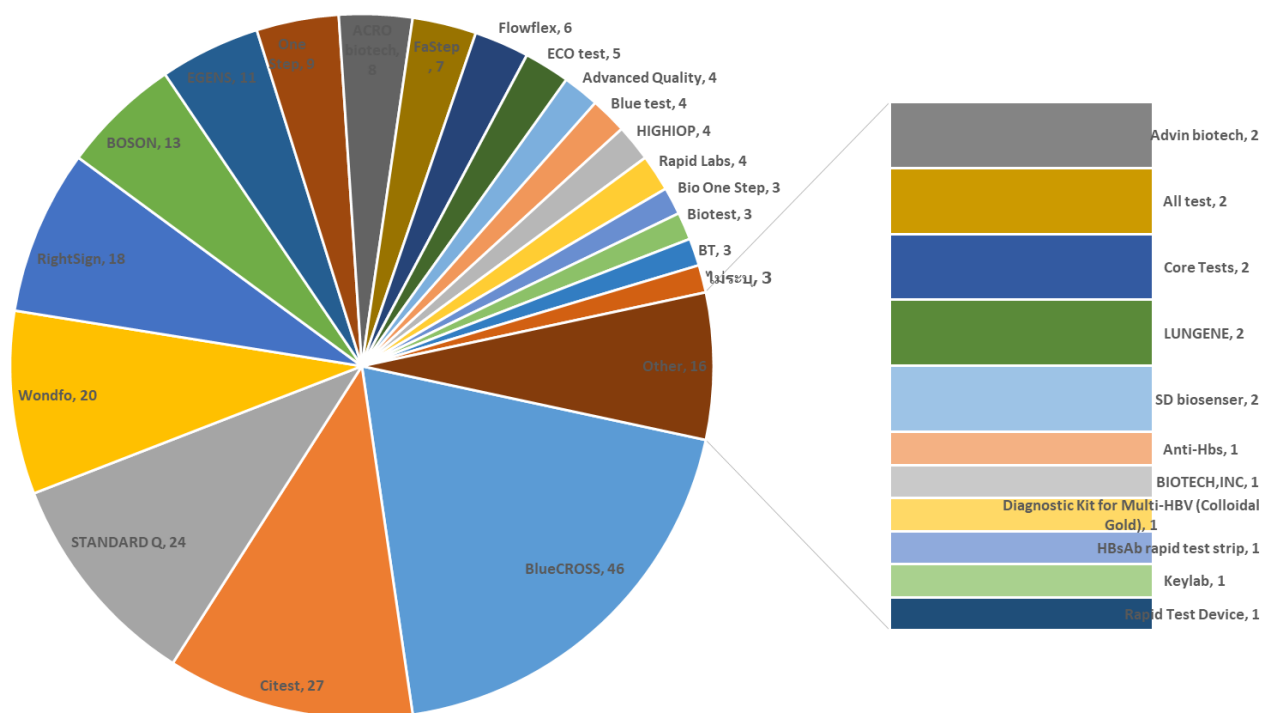
ตารางที่ 3: ผลของการทดสอบ antiHBs SE02-25-2-3 ที่ใช้หลักการ CLIA

CLIA	N	Negative	Weakly Positive	Positive
CLIA: Liaison	18	1		17
CLIA: Mindray	28	24		4
CLIA: Siemens	6	3		3
CLIA: Snibe Maglumi	7	2	1	4
CLIA: Sysmex	3			3
CLIA: Vitros	19	15	4	
Total	81	45	5	31

ตารางที่ 4: ผลของการทดสอบที่ใช้หลักการ immunochromatography ต่างจาก automation

Marker	Sample	ICT	CLIA	Automation based method
Anti-HBs	SE02-25-2-3	Negative	No Consensus	Positive

ชุดทดสอบแบบ immunochromatography ที่สมาชิกใช้ตรวจ antiHBs



แผนภาพที่ 2: สัดส่วนการใช้น้ำยา ICT จากสมาชิกที่รายงานน้ำยาที่ใช้



การประเมิน anti-HBs เชิงปริมาณ ทางโครงการฯ ได้ประเมินแยกตามกลุ่มวิธีการทดสอบ โดยประเมินตามหลักสถิติมาตรฐาน ISO 13528 สมาชิกสามารถศึกษาผลการประเมินดังตัวอย่างแสดง อนึ่งหากวิธีใดมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ ทางโครงการฯ จะไม่ประเมินให้ แต่ให้สมาชิกศึกษาผลรายงานของสมาชิกเองเทียบกับกลุ่มอื่นและเทียบกับทุกวิธีรวมกัน

3.2 การประเมินความเที่ยง

ในรอบนี้ทางโครงการฯ ส่งตัวอย่างหมายเลข SE 02-25-2-1 และ SE 02-25-2-4 ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวกัน และทำการประเมินสมาชิก พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่รายงานผลแบบเชิงคุณภาพทั้ง 2 ตัวอย่างตรงกัน แต่มีสมาชิกบางรายที่รายงานผลไม่ตรงกัน ซึ่งสรุปผลได้ดังนี้

ตารางที่ 5: ผลการประเมินความเที่ยง

HBV marker	Non-agreement between SE 02-25-2-1 & SE 02-25-2-4	
	Number	%
HBsAg	0	0
Anti-HBs	2	0.4
Anti-HBc	2	0.5
HBeAg	0	0
Anti-HBe	1	1.36

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

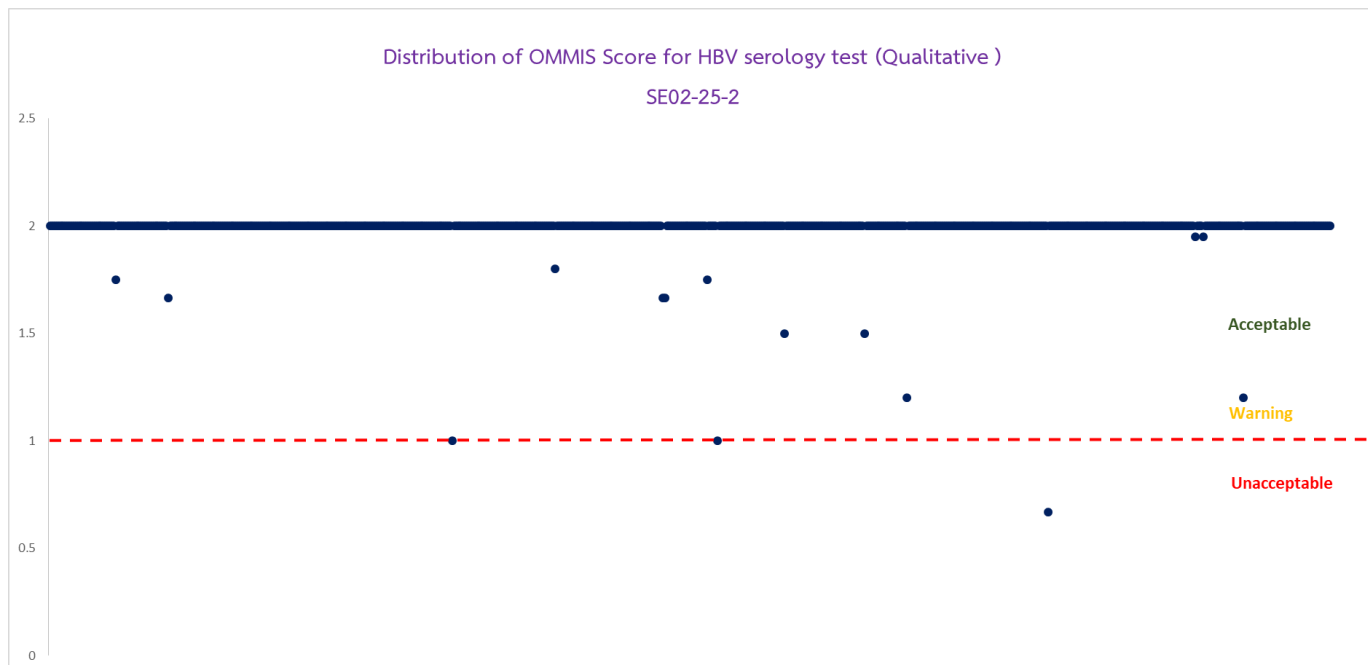
ตารางที่ 6: Performance of participants (qualitative test)

	การทดสอบ	Performance (qualitative test)			
		Acceptable (labs)	Warning (labs)	Unacceptable (labs)	Total (labs)
OMIS	HBs Ag	605	0	2	607
	Anti-HBs	535	0	2	537
	Anti-HBc	327	5	4	336
	HBe Ag	184	0	1	185
	Anti-HBe	71	1	1	73
OMMIS	HBV serology	606	2	1	609



โครงการฯ ยึดหลักเกณฑ์การประเมิน HBV serology (Qualitative test) ดังนี้

Score Evaluation	2.00	Acceptable
	1.0	Warning
	<1	Unacceptable

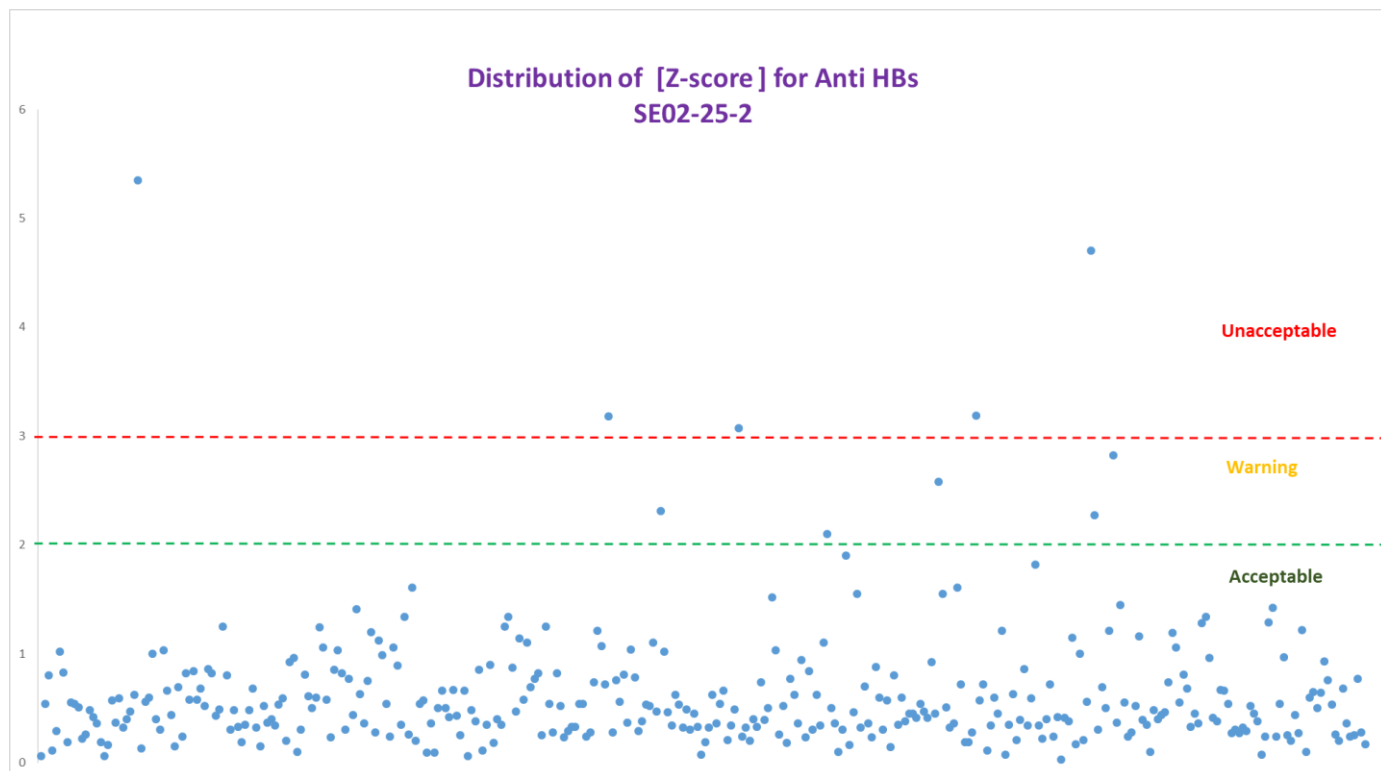


แผนภาพที่ 3: แสดงค่า OMMIS Qualitative test HBV serology

3.4 ผลของ laboratory performance quality ของการทดสอบ Anti-HBs แบบ quantitative ซึ่งวิเคราะห์โดยอิงกลุ่มที่ใช้วิธีเดียวกัน คำนวณจากค่า Z-Score มีผลการประเมินดังแสดงในตารางที่ 6 และแผนภาพที่ 5 ซึ่งจากแผนภาพแสดงค่า Z-Score ของสมาชิกที่รายงาน Anti-HBs แบบเชิงปริมาณ พบว่ามีสมาชิกจำนวน 5 รายที่มีค่า Z-score > |3| มีสมาชิกจำนวน 4 ห้องปฏิบัติการไม่ถูกนำมาประเมินในแผนภาพเนื่องจากวิธีการทดสอบมีจำนวนน้อยกว่า 5 ห้องปฏิบัติการ (หลักการ CLIA: Beckman Coulter 1 ห้องปฏิบัติการ หลักการ CLIA: Sysmex 3 ห้องปฏิบัติการ)

ตารางที่ 7: Performance of Participants performed Anti-HBs

Performance quality	score	Number of Participants
Acceptable	0 - 2	348
warning	> 2 - 3	5
unacceptable	> 3	5



แผนภาพที่ 6: แสดงค่า Z-Score ของสมาชิกที่รายงาน Anti-HBs แบบเชิงปริมาณ

4. สรุปและวิจารณ์

ในครั้งที่ 2/2025 นี้ อัตราผลตอบของสมาชิกถือว่าอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (ร้อยละ 93.6) แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่าสมาชิกไม่รายงานผลกลับซึ่งถือว่าเป็นการเสียโอกาสในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการและอาจจะส่งผลต่อการขอรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ สมาชิกสามารถส่งผลและรับผลการประเมิน รวมทั้งข่าวสารต่างๆ จากทางโครงการผ่านเว็บไซต์ <https://eqamt.mahidol.ac.th/> ทางโครงการฯ พบว่าสมาชิกบางรายมีผลประเมินความเที่ยงไม่ถูกต้อง ซึ่งอาจเกิดจากการสลับตัวอย่าง หรือลงผลผิด นอกจากนี้ยังพบว่าห้องปฏิบัติการบางรายลงผลไม่ครบ ดังนั้นจึงขอแนะนำห้องปฏิบัติการสมาชิกทำการควบคุมคุณภาพการทดสอบภายในด้วย

5.รายนามที่ปรึกษาสถิติและผู้ดำเนินแผน

5.1 รายนามที่ปรึกษาทางสถิติ:

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประสงค์ แคนน้ำ

5.2 รายนามผู้ดำเนินแผน:

ผู้ประสานแผน (Scheme Coordinator) :

รองศาสตราจารย์ ดร. ชนียา ลีปิยะสกุลชัย

ผู้จัดการวิชาการ (Technical Manager) :

รองศาสตราจารย์ ดร. ชนียา ลีปิยะสกุลชัย

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโครงการฯ (Operator):

นางสาววิศรา ประทีบอาราม



ภาคผนวก

1.ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (Homogeneity test)

ตัวอย่างที่ถูกแบ่งบรรจุแล้วถูกนำไปตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการสุ่มเลือกตัวอย่างด้วยโปรแกรมเอ็กซ์เซล จำนวน 10 ตัวอย่าง เพื่อทำการทดสอบ ที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะเทคนิคการแพทยมหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้รับการรับรอง ISO15189 หลักการทดสอบที่ใช้ คือ E-CLIA จากผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงคุณภาพของ ตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ผลการทดสอบทั้งหมดของตัวอย่าง (ร้อยละ 100) มีผลการทดสอบที่เหมือนกันทั้ง 10 ตัวอย่าง และผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงปริมาณโดยหลัก สติติ ISO 13528 ของค่า anti-HBs ดังแสดงใน ตารางที่ 2 3 และ 4

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

หมายเลขตัวอย่าง		SE-02-25-2-(1-4)					หมายเลขตัวอย่าง		SE-02-25-2-2				
ลำดับที่	ลำดับสุ่ม	HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe	ลำดับที่	ลำดับสุ่ม	HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
1	105	POS	NEG	POS	NEG	POS	1	53	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
2	221	POS	NEG	POS	NEG	POS	2	108	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
3	343	POS	NEG	POS	NEG	POS	3	183	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
4	427	POS	NEG	POS	NEG	POS	4	241	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
5	571	POS	NEG	POS	NEG	POS	5	303	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
6	683 (3)	POS	NEG	POS	NEG	POS	6	361	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
7	887 (210)	POS	NEG	POS	NEG	POS	7	471	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
8	983 (306)	POS	NEG	POS	NEG	POS	8	502	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
9	1107 (430)	POS	NEG	POS	NEG	POS	9	545	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
10	1271 (594)	POS	NEG	POS	NEG	POS	10	623	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG

หมายเลขตัวอย่าง		SE-02-25-2-3				
ลำดับที่	ลำดับสุ่ม	HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
1	18	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
2	118	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
3	172	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
4	241	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
5	287	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
6	344	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
7	473	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
8	484	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
9	604	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
10	663	NEG	POS	NEG	NEG	NEG



ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างเชิงปริมาณ antiHBs(mIU/mL) ตัวอย่างที่ SE02-25-2-3

ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยหลัก สถิติ ISO 13528					
Position	Replicate 1	Replicate 2	Sample mean	Between-test-portion range	
t	(g) 1	(g) 2	$\bar{x}_t$	wt	$wt2$
18	29.84	31.44	30.64	-1.60	2.56
118	29.28	32.05	30.67	-2.77	7.67
172	29.91	31.22	30.57	-1.31	1.72
241	29.50	30.60	30.05	-1.10	1.21
287	29.59	30.88	30.24	-1.29	1.66
344	30.77	29.59	30.18	1.18	1.39
473	32.05	30.49	31.27	1.56	2.43
484	30.37	29.72	30.05	0.65	0.42
604	31.34	31.00	31.17	0.34	0.12
663	30.60	30.42	30.51	0.18	0.03
					19.22

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

General average of sample mean	30.53
Standard deviation of sample averages (s_x)	0.43
Within-samples standard deviation (s_w)	0.98
Between-samples standard deviation (s_s)	0.00

zigmaPT 3.55

Thus, $0.3 \text{ zigmaPT} = 1.07$

$S_s < 0.3 \text{ zigmaPT} \Rightarrow \text{PASS}$



2. ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง

โครงการฯ ดำเนินการทดสอบความคงทนใน 2 สภาวะ คือ

1. เก็บตัวอย่างไว้ที่ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ณ วันที่ส่งตัวอย่างให้สมาชิกจนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก จึงนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2. ตัวอย่างที่ส่งไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิก 4 ห้องปฏิบัติการ ตามภูมิภาคต่างๆ และได้รับตัวอย่างกลับคืน โดยไม่มีการเปิดกล่อง เมื่อได้รับตัวอย่างคืนทางโครงการเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส จนถึงวันปิดรับผลจากสมาชิก จึงนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการสถานเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ผลการทดสอบความคงตัวเชิงคุณภาพของตัวอย่างทั้ง 2 สภาวะ มีผลการทดสอบที่ไม่ต่างจากผลของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง เชิงคุณภาพ

Conditions		SE-02-25-1-(1-4)					SE-02-25-1-2				
		HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe	HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
Transportation	1	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	2	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	3	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	4	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
Keep at 4°C	1	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
	2	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG

Conditions		SE-02-25-1-3				
		HBsAg	AntiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
Transportation	1	HBsAg	antiHBs	AntiHBc	HBe Ag	AntiHBe
	2	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
	3	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
	4	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
Keep at 4°C	1	NEG	POS	NEG	NEG	NEG
	2	NEG	POS	NEG	NEG	NEG



ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง เจริญปริมาณ

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง				ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่าง			
antiHBs (mIU/ml)				antiHBs (mIU/ml)			
No.	Position	Replicate 1	Replicate 2	No.	Position	Replicate 1	Replicate 2
1	18	29.84	31.44	Transportation condition			
2	118	29.28	32.05	1	46	24.33	24.64
3	172	29.91	31.22	2	132	24.29	24.08
4	241	29.50	30.60	3	285	23.80	23.13
5	287	29.59	30.88	4	398	24.28	23.80
6	344	30.77	29.59	Initial to end point at 2-8 0C condition			
7	473	32.05	30.49	5	555	26.51	26.27
8	484	30.37	29.72	6	569	27.16	26.71
9	604	31.34	31.00				
10	663	30.60	30.42				
				Transportation condition		2-8 0C condition	
Mean from homogeneity test (y1) =				30.53		30.53	
Mean from stability test (y2) =				24.04		26.66	
Difference from homo. mean =				6.48925		3.8705	
σ_{pt}				3.55		3.55	
$0.3\sigma_{pt}$				1.065		1.065	
				FAIL		FAIL	
Expanded criterion							
u(y1)				2.43		2.43	
u(y2)				1.91		2.12	
Thus, $0.3 \sigma_{pt} + 2\sqrt{u(y1)+u(y2)}$ =				7.25		7.52	
Summary:				PASS		PASS	