กรมควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ ๑๐ จังหวัดอุบลราชธานี	วิธีปฏิบัติงาน : การตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิส Non Treponemal Test (RPR)	รหัส WI-AIDS/STI-009
		วันที่ประกาศใช้ 24 มกราคม 2567
		แก้ไขครั้งที่ 05
		หน้าที่ 1 จาก 16
กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี	ผู้จัดทำ : ผู้จัดการวิชาการ งานตรวจหาปริมาณไวรัส HIV/HCV/HBV ฯ	ผู้อนุมัติ : หัวหน้ากลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค

ผู้จัดทำ ..... (ทนพญ.พรนิภา สายธนู)
ตำแหน่ง ผู้จัดการวิชาการ งานตรวจหาปริมาณไวรัส HIV/HCV/HBV งานภูมิคุ้มกันวิทยา และงานโรคติดต่อนำ โดยแมลง (มาลาเรีย)

ผู้ทบทวน ..... (ทนพญ.ทิพวรรณ หมื่นพัน)
ตำแหน่ง ผู้จัดการวิชาการงานตรวจหาปริมาณไวรัส HIV/HCV/HBV และงานภูมิคุ้มกันวิทยา

ผู้อนุมัติ ..... (ดร.ทนพญ.วิภาวี แสนวงษา)
ตำแหน่ง หัวหน้ากลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

บันทึก การประกาศใช้ / แก้ไข / ทบทวน

วัน/เดือน/ ปี	ประกาศใช้ / การแก้ไข / ทบทวน	รายละเอียด	ผู้จัดทำ/ผู้ทบทวน
01/06/2563	ประกาศใช้ครั้งแรก	-	พรนิภา
09/04/2564	แก้ไขครั้งที่ 01 ทบทวนเอกสารคุณภาพ ประจำปี 2564	-ทบทวน แก้ไข ตามคู่มือการตรวจวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิลิสทางห้องปฏิบัติการ กรมควบคุมโรค ณ มีนาคม พ.ศ.2564	พรนิภา / ทิพวรรณ
20/07/2564	แก้ไขครั้งที่ 02	จากการตรวจติดตามภายในประจำปี 2564	พรนิภา / ทิพวรรณ
01/10/2564	แก้ไขครั้งที่ 03	จากผลการตรวจประเมินรับรองมาตรฐานสากล ISO15189:2012, 15190:2003 แก้ไขหัวข้อ WI จาก 15 หัวข้อเป็น 17 หัวข้อ	พรนิภา / ทิพวรรณ
20/06/2565	แก้ไขครั้งที่ 04	แก้ไขหัวข้อเอกสารตามข้อกำหนด ISO 15189 จาก 17 ข้อ เป็น 20 ข้อ	พรนิภา / ทิพวรรณ
01/05/2566	ทบทวนเอกสารคุณภาพ ประจำปี 2566	ทบทวนแล้วแต่ไม่แก้ไข	พรนิภา / ทิพวรรณ
24/01/2567	แก้ไขครั้งที่ 05 ตรวจประเมินเฝ้าระวังคุณภาพ ISO 15189:2022 /ISO 15190:2020	หน้าที่ 1) หัวกระดาษ แก้ไขจาก อุบลราชธานี เป็น จังหวัดอุบลราชธานี หน้าที่ 2) ตาราง บันทึก การประกาศใช้ / การแก้ไข / ทบทวน แก้ไขคอลัมน์จาก โดย เป็น ผู้จัดทำ/ผู้ทบทวน ลบคอลัมน์ ฉบับที่ ออก และตัดคำว่า ฉบับที่ ออกจากหัวกระดาษ หน้าที่ 5) ข้อ 8. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย แก้ไขความเข้มข้นการเตรียม Post-cresol จาก 0.5% เป็น 1% หน้าที่ 7) ข้อ 11. วิธีการควบคุมคุณภาพ แก้ไข IQC จาก 3 ระดับ เป็น 2 ระดับ หน้าที่ 11) ข้อ 20. เอกสารอ้างอิง / เอกสารที่เกี่ยวข้อง ยกเลิก 20.2 Syphilis Tri-Level Control (SD-AIDS/STI-006)	พรนิภา/ทิพวรรณ

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ	4
2. หลักการและวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ	4
3. ความไวและความจำเพาะของการตรวจวิเคราะห์	4
4. ประเภทหรือชนิดของตัวอย่าง	5
5. การเตรียมผู้ป่วย	5
6. ภาชนะบรรจุหรือสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง	5
7. เครื่องมือ อุปกรณ์และน้ำยาที่จำเป็น	5
8. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย	5
9. ขั้นตอนการสอบเทียบ	5
10. วิธีปฏิบัติงาน	5
11. วิธีการควบคุมคุณภาพ	7
12. สิ่งรบกวนของการตรวจวิเคราะห์	7
13. ค่าความไม่แน่นอนของการวัด	8
14. ค่าอ้างอิง	8
15. การรายงานผล/การคำนวณผล	8
16. คำแนะนำกรณีผลไม่อยู่ในช่วงการวัด	9
17. ค่าวิกฤต	9
18. การแปลผล	9
19. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวน	11
20. เอกสารอ้างอิง/เอกสารที่เกี่ยวข้อง	11
แผนภูมิที่ 1 ลำดับขั้นตอนการตรวจแบบดั้งเดิม (Traditional Algorithm)	12
แผนภูมที่ 2 ลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทาง (Reverse Algorithm)	14

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

วิธีปฏิบัติงาน (Work Instruction)
เรื่อง การตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิส Non Treponemal Test (RPR)

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ

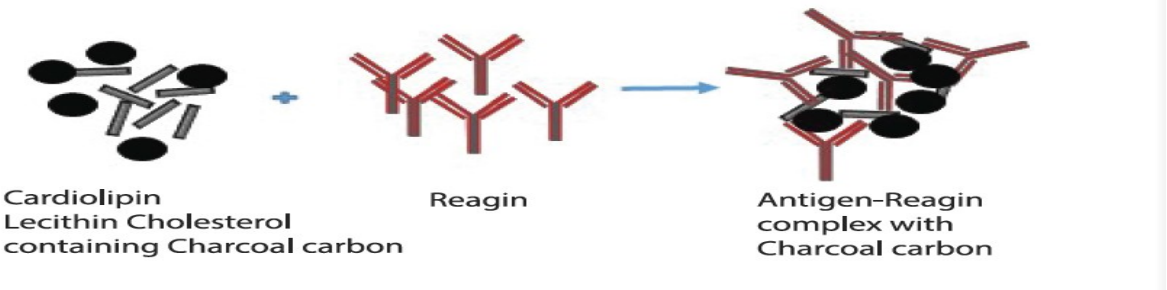
เพื่อตรวจหา non-treponemal antibody ต่อเชื้อ *Treponema pallidum* ใน Serum หรือ plasma ซึ่งช่วยวินิจฉัยระยะของโรคซิฟิลิสและติดตามผลการรักษาหรือการดำเนินของโรคซิฟิลิส

2. หลักการและวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ

การตรวจด้วยวิธี RPR card test เป็นการทดสอบในกลุ่มของ Nontreponemal test ซึ่งใช้หลักการ flocculation เหมือน VORL แต่ RPR เป็น Macroscopic flocculation ที่-ไม่ต้องใช้การอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า เพราะแอนติเจนมีส่วนประกอบของผง carbon (carbon-containing cardiolipin antigen) โดยผงถ่านนี้ได้แทรกตัวอยู่ในร่างแหของปฏิกิริยาแอนติเจนแอนติบอดี้ ช่วยในการมองเห็นปฏิกิริยาด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังไม่ต้องทำ heat inactivated ตัวอย่างซีรั่ม เพราะมี choline chloride ในส่วนประกอบแอนติเจน ที่ยับยั้งการทำงานของคอมพลีเมนท์ และยังมี Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) ที่ช่วยรักษาสภาพแอนติเจน cardiolipin, lecithin และ cholesterol ให้อยู่ได้นานยิ่งขึ้น สามารถใช้ plasma ในการทดสอบได้ แต่ไม่ สามารถใช้ตัวอย่าง CSF ในการทดสอบ RPR card test

วิธีการ RPR (Rapid Plasma Reagin) เป็นการตรวจหา Non treponemal antibody (Reagin) ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อ Cardiolipin โดยมีแอนติเจนเป็น Cardiolipin ที่สกัดจากหัวใจวัว และมีส่วนประกอบเป็น Lecithin และ cholesterol โดยสารทั้งสองชนิดจะเพิ่มประสิทธิภาพของแอนติเจน

Cardiolipin-Lecithin-cholesterol + Reagin ⟶ Flocculation จะเห็นผลของปฏิกิริยาคือ การจับกลุ่มของ charcoal particles



RPR (Rapid Plasma Reagin) เป็นการทดสอบในกลุ่ม non-specific antibody (Reagin antibody) ซึ่งเป็นแอนติบอดี้ต่อ tissue lipid ของตัวผู้ป่วยเอง เนื่องจากเชื้อ Treponema pallidum ทำลายเนื้อเยื่อของ Host และ splitting เอาส่วน lipoidal fraction ซึ่งทำหน้าที่เป็น hapten ออกมาจากนั้นรวมกับโปรตีนที่มาจาก *T.pallidum* ทำให้สามารถ เป็นแอนติเจนและกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี้ขึ้นมาได้ ซึ่งแอนติเจนในการตรวจประกอบด้วย Carbon containing Cardiolipin, Lecithin, Cholesterol โดย Cardiolipin เป็นตัวทำปฏิกิริยากับ reagin ในซีรั่มหรือพลาสมาของผู้ป่วย Lecithin, Cholesterol ช่วยทำให้ปฏิกิริยารวมตัวกันได้ดีขึ้น Carbon จะทำให้เห็นการเกิดปฏิกิริยา การเกาะกลุ่มอย่างชัดเจน มองเห็นด้วยตาเปล่า

3.ความไวและความจำเพาะของการตรวจวิเคราะห์

Reagin (RPR) มีความจำเพาะต่ำ แต่ใช้ในการคัดกรองและติดตามผลการรักษา บอกค่าเป็น titer...test ไม่จำเพาะต่อ Antigen ของ *T.Pallidum* เพราะแอนติเจนที่ใช้เป็น Cardiolipin และ Lecithin ทำให้ความไวและ ความจำเพาะต่ำ

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

4. ประเภทหรือชนิดของตัวอย่าง

- Serum, Plasma

5. การเตรียมผู้ป่วย

-

6. ภาชนะบรรจุหรือสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

- หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็ง
- หลอดบรรจุเลือดที่มี EDTA, Sodium Citrate, Lithium heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง

7. เครื่องมือ อุปกรณ์และน้ำยาที่จำเป็น

1. น้ำยาตรวจ RPR card test antigen เมื่อยังไม่เปิดใช้งาน เก็บที่ 2-8 องศาเซลเซียส เก็บให้พ้นแสง ห้ามแช่แข็ง น้ำยาที่ยังไม่เปิดใช้งานจะคงอายุที่ระบุไว้ข้างกล่องน้ำยาตามผู้ผลิตและเมื่อเปิดใช้งานแล้วปฏิกิริยาของน้ำยาจะมีความ เสถียรประมาณ 3 เดือน หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง
2. นาฬิกาจับเวลา
3. Disposable Test Card / Slide
4. Autopipette 50 ul. พร้อม tip
5. Pipette Stirrers
6. Rotator
7. 0.9 % NSS
8. Syphilis Tri-Level Control

8. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

1. สวมใส่ PPE ที่เหมาะสม ทุกครั้งที่ต้องปฏิบัติงานกับสิ่งส่งตรวจผู้ป่วย
2. สวมถุงมือทุกครั้งเมื่อทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ที่อาจจะมีโอกาสสัมผัสกับเลือดหรือน้ำเหลืองของผู้ป่วยได้ (โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าหากมือเป็นแผลหรือถลอก) และต้องล้างมือด้วยสบู่หรือน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนใส่ถุงมือและหลังถอดถุงมือออกด้วยทุกครั้ง
3. ทำความสะอาดพื้นที่ก่อนและหลังการปฏิบัติงานกับสิ่งส่งตรวจ ด้วย 70 % Alcohol และแช่อุปกรณ์ เช่น Tip ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ Post-cresol (เตรียม 1 ซอง ต่อ น้ำ 0.5 ลิตร ความเข้มข้น 1%) ก่อนทิ้งเป็นขยะติดเชื้อ
4. เครื่องมือเครื่องใช้ที่จะต้องสัมผัสกับเลือดหรือน้ำเหลืองของผู้ป่วย หลังทำการตรวจวิเคราะห์ต้องเช็คและทำความสะอาดด้วย 70 % Alcohol

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ

เครื่อง Rotator ได้รับการสอบเทียบโดย บริษัท ดอกเตอร์ คาลิเบรชั่น จำกัด ซึ่งจะดำเนินการสอบเทียบปีละ 1 ครั้ง โดยมีข้อกำหนดการสอบเทียบคือ สอบเทียบปุ่มปรับความเร็วตามช่วงที่ใช้งาน คือ 100 rpm และสอบเทียบ ปุ่มปรับเวลาที่เวลา 8 นาที และผู้ปฏิบัติงานทำการสอบเทียบนาฬิกาจับเวลา โดยเทียบเวลากับสำนักงาน สมาคม ส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น)

10. วิธีปฏิบัติงาน

10.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง การเก็บน้ำเหลือง (Serum/Plasma)

10.1.1 การเก็บตัวอย่างซีรั่ม (Serum)

- เจาะเลือด Clotted blood ประมาณ 3-5 ml (อย่างน้อย 2 ml) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที ให้ นำส่งห้องปฏิบัติการทันที หรือเก็บเลือดที่ 2-8°C ไม่เกิน 24-48 ชั่วโมง

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

-ปั่นเลือดที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็ว 3000 rpm 10 นาที หากมีก้อน clot ให้แยกออกก่อนการตรวจ ตรวจภายใน 4 ชั่วโมง เก็บที่ 2-8°C หากนานกว่า 5 วัน เก็บที่ -20°C ไม่ควร freeze-thaw ซ้ำ

10.1.2 การเก็บตัวอย่างพลาสมา (Plasma)

-เจาะเลือดใส่ที่มี EDTA, Sodium Citrate, Lithium heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ประมาณ 3 ml ให้นำส่งห้องปฏิบัติการทันที หรือ เก็บเลือดที่ 2-8°C ไม่เกิน 24-48 ชั่วโมง

- ปั่นเลือดที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็ว 3000 rpm 10 นาที ตรวจภายใน 4 ชั่วโมง เก็บที่ 2-8°C หากนานกว่า 5 วัน เก็บที่ -20°C ไม่ควร freeze-thaw ซ้ำ

10.2 ขั้นตอนการเตรียมน้ำยา

10.2.1 ก่อนทำการทดสอบต้องวางน้ำยาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) 15-30 นาที

10.2.2 เขย่าขวดก่อนนำมาใช้ทดสอบ ติดสติกเกอร์ระบุ วันที่เตรียมเปิด/, วันที่ Exp และ ผู้เตรียม

10.2.3 น้ำยาที่ยังไม่เปิดใช้งานจะคงอายุที่ระบุไว้ข้างกล่องน้ำยาตามผู้ผลิต และเมื่อเปิดใช้งานแล้วปฏิกิริยาของน้ำยาจะมีความเสถียรประมาณ 3 เดือน หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง

10.3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์

10.3.1 ใช้ Autopipette ดูดซีรัมหรือพลาสมา 50 ul หยดลงบน RPR card

10.3.2 กรณีเปิดน้ำยาขวดใหม่ ก่อนเปิดขวด ต้องเขย่าน้ำยา RPR Carbon Antigen ประมาณ 10-15 วินาที เพื่อให้ผสมกันดี แล้วเติมลงในขวดพลาสติกที่มีเข็มสำหรับใช้หยดน้ำยา เขย่าให้เข้ากัน ติดสติกเกอร์ระบุ วันที่ เตรียมเปิด/, วันที่ Exp และ ผู้เตรียม

10.3.3 หยด RPR antigen ลงบนแผ่นสไลด์ทดสอบที่หยดซีรัมหรือพลาสมาไว้ แล้ว 1 หยด ในแนวตั้งตรง ใช้ปลายของ stirrer pipette ผสมซีรัมหรือพลาสมากับ antigen ให้เต็มแผ่นวงของ disposable test card

10.3.4 นำ disposable test card ไปวางบน rotator แล้วเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm. นาน 8 นาที

10.3.5 อ่านผลทันทีด้วยตาเปล่า สังเกตการเกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่ม (flocculation)

กรณีผล reactive ให้ dilute เพื่อหา dilution สุดท้าย การอ่านผล endpoint โดยดูที่ dilution สูงสุดที่ให้ผล reactive ที่ weakly reactive ไม่ถือว่าเป็น endpoint

วิธีการตรวจวิเคราะห์กึ่งปริมาณ (Semi-quantitative card test)

1. ก่อนทำการทดสอบต้องวางน้ำยาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) 15-30 นาที

2. ใช้ Autopipette ดูดซีรัมหรือพลาสมา 50 µl หยดลงใน disposable test card วงที่ 1

3. ใช้ Autopipette ดูด 0.9% NSS 50 µl หยดลงใน disposable test card จำนวน 4 วง วงที่ 2-5 (ห้ามเกลี่ยน้ำเกลือ)

4. ใช้ Autopipette ดูด ซีรัมหรือพลาสมา 50 µl หยดลงในวงที่ 2 ดูดขึ้น-ลง 8 ครั้ง หลีกเลี่ยงการเกิดฟอง แล้วดูดส่วนผสม 50 µl หยดลงในวงที่ 3 ทำแบบนี้ไปเรื่อยๆ จนถึงวงที่ 5 วงสุดท้ายดูดส่วนผสมทิ้งไป 50 µl จะได้ dilution ดังนี้

Circle	1	2	3	4	5
Dilution	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16

5. ใช้ปลายของ stirrer pipette เกลี่ยแต่ละวง

6. เขย่าน้ำยา RPR Carbon Antigen ให้ผสมกันดี หยดลงใน disposable test card ที่ 1 ถึง 5 บน ที่ทำ dilution ไว้แล้ว หลุมละ 1 หยด ในแนวตั้งตรง (ห้ามผสม) จะได้ titer 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 ตามลำดับ

7. นำสไลด์ไปวางบน rotator แล้วเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm. นาน 8 นาที

8. สังเกตการเกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่ม (flocculation) อ่านและรายงานผล titer สุดท้ายที่ยังให้ผล reactive

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

9. ถ้าถึง dilution 1/16 แล้วยังเกิดปฏิกิริยา ต้องทำ dilution ต่อไปอีก โดยเตรียม dilution 1/16 ดังนี้

9.1 เตรียม dilution ต่อจาก 4. โดยเริ่มจาก dilution 1/16

9.2 เตรียม dilution 1/16 โดยใช้ Autopipette ดูด ซีรัมหรือพลาสมา 100 µl ผสมกับ 0.9%NSS 1500 µl ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันแล้วดูดส่วนผสม 50 µl หยดลงใน disposable test card วงที่ 1 และ 2

9.3 Disposable test card วงที่ 2,3,4 และ 5 ซึ่งมี 0.9%NSS ดูดขึ้น-ลง 8 ครั้งหลีกเลี่ยงการเกิดฟอง แล้วดูดส่วนผสม 50 µl หยดลงในวงที่ 3 ทำแบบนี้ไปเรื่อยๆ จนถึงวงที่ 5 วงสุดท้ายดูด ส่วนผสมทิ้งไป 50 µl จะได้ dilution ดังนี้

Circle	1	2	3	4	5
Dilution	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256

เพื่อหา end-point titer

10. ระยะเวลาการเก็บสิ่งส่งตรวจหลังตรวจวิเคราะห์

- Primary tube เก็บ 7 วัน

10.4 ขั้นตอนการรายงานผล

บันทึกผลการตรวจลงใน แบบฟอร์มบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์งาน Serology (Syphilis) (F-AIDS STI-030)

11. วิธีการควบคุมคุณภาพ

11.1 การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control: IQC)

- ทำการทดสอบ IQC ตัวควบคุม 2 ระดับ คือ nonreactive และ reactive Kit control วันแรกของสัปดาห์ที่มีการทดสอบ ซึ่ง reactive control มีระดับ titer ที่ 1:8 บันทึกการ ทดสอบลงในแบบบันทึก IQC (F-LAB-004) และเก็บผลการทดสอบในแฟ้ม IQC-RPR

11.2 การควบคุมคุณภาพภายนอก (External quality assurance; EQA)

- สมัครเป็นสมาชิก กองทดสอบความชำนาญ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โครงการประเมิน คุณภาพการตรวจวิเคราะห์ สาขาภูมิคุ้มกันวิทยา รายการทดสอบซิฟิลิส ความถี่ในการจัดส่งตัวอย่างทดสอบ 3 ครั้ง/ปี มีจำนวนตัวอย่าง ทดสอบต่อรอบ โครงการละ 3 ตัวอย่าง/ครั้ง บันทึกการทดสอบลงในแบบบันทึก แผนการรับส่ง EQA (F- AIDS/STI- 011) และเก็บผลการทดสอบในแฟ้ม EQA-RPR/TPPA

12. สิ่งรบกวนของการตรวจวิเคราะห์

12.1 Serum ที่มีไขมันสูง ๆ ไม่ควรใช้ ทำให้อ่านผลผิดพลาด

12.2 Serum Hemolysis ไม่ควรใช้ ทำให้อ่านผลผิดพลาด

12.3 Serumที่ปนเปื้อน(Contaminated serum) ทำให้เกิดผลบวกปลอมได้

12.4 Intravenous drug use และ lymphoma อาจทำให้เกิด false positive ได้สามารถ exclude โดย การทำ Repeat หรือ Confirm ด้วยวิธีอื่นต่อ เช่น TPHA หรือ FTA-ABS ซึ่งมีความจำเพาะสูงกว่า

12.5 เนื่องจากการตรวจ RPR เป็นการตรวจหา Reagin จึงอาจเกิด False Positive ได้จากการติดเชื้อหรือ พยาธิสภาพของผู้ป่วยได้ เช่น Malaria, Autoimmune, Rheumatoid arthritis, Hemolytic anemia, SLE, Viral hepatitis, Mycoplasma pneumonia, Typhoid febrile disease, Infections mononeucleosis, Leprosy, Vaccinia, Virus pneumonia หรือระหว่างตั้งครรภ์

12.6 อาจให้ผล False Positive ประมาณ 1-2% ได้ในคนทั่วไป/คนตั้งครรภ์

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

12.7 Humeral Ab ทั้ง IgM และ IgG สำหรับ Syphilis ที่ตรวจหาโดยวิธีนี้ มักจะไม่ปรากฏจนกว่า 1-2 สัปดาห์ หลังเกิด Chancre ครั้ง แรก ดังนั้น Sensitivity ในระยะนี้อาจเปลี่ยนแปลงได้ แต่ภายใน 2 เดือน หลังเกิด Lesion จะตรวจพบ Reactive 100 %

12.8 Low Titer ก็สามารถเกิดได้ใน Latent หรือ Late Syphilis

13. ค่าความแน่นอนของการวัด

-

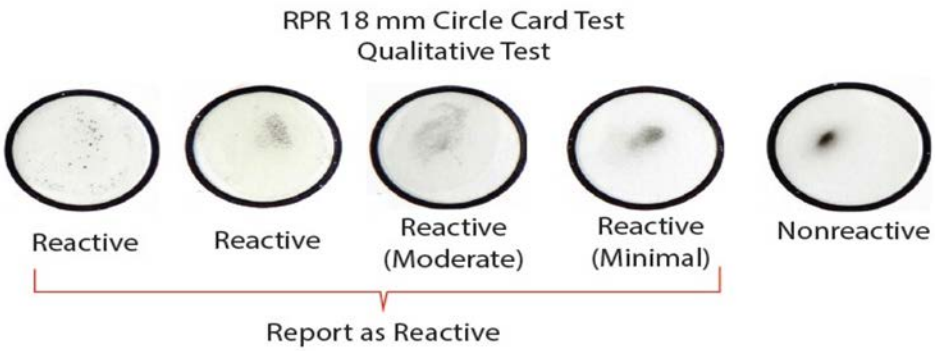
14. ค่าอ้างอิง

Non – Reactive (NR)

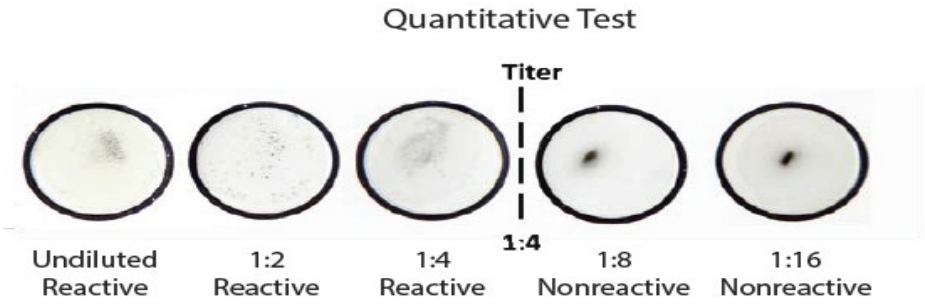
15. การรายงานผล / การคำนวณผล

Reactive (R) ผลบวก : มีการเกาะกลุ่มกันของเม็ดคาร์บอน ในกรณีที่ผลเป็น Reactive จะต้องรายงาน titer ให้แพทย์ทราบ เช่น Reactive titer 1:16 เป็นต้น ถ้าผลการทดสอบเป็นบวก ควรตรวจยืนยันผลด้วยวิธี TPPA

Non-reactive (NR) ผลลบ : ไม่มีการเกาะกลมของเม็ดคาร์บอน กระจายตัวตามปกติ หรือมารวมกันบริเวณ ตรงกลาง เนื่องจากการเหวี่ยงของการหมุน



ตัวอย่างการอ่านผล RPR card test แบบ Qualitative



เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

ตัวอย่างการอ่านผล RPR card test แบบ Quantitative

การอ่านผล RPR เชิงปริมาณ (quantitative test)Undilute serum(1:1)	**Serum dilution**				**Report**
	1:2	**1:4**	**1:8**	**1:16**	
Rm	N	N	N	N	Reactive titer 1:1 dilution or 1 dilution
R	Rm	N	N	N	Reactive titer 1:2 dilution or 2 dilution
R	R	Rm	N	N	Reactive titer 1:4 dilution or 4 dilution
R	R	R	Rm	N	Reactive titer 1:8 dilution or 8 dilution
R	R	R	R	Rm	Reactive titer 1:16 dilution or 16dilution

Rm = Final dilution

การตรวจเลือด เป็นการตรวจเลือดเพื่อหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อซิฟิลิส มี 2 วิธี คือ

2.1 การเจาะเลือดเพื่อตรวจหาภูมิคุ้มกันเบื้องต้นซึ่งไม่เฉพาะเจาะจงต่อเชื้อซิฟิลิส เช่น การตรวจ VDRL หรือ RPR

2.2 การเจาะเลือดที่เจาะจงต่อตัวเชื้อซิฟิลิส เพื่อยืนยันการวินิจฉัย เช่น FTA-ABS (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test) หรือ MHA-TP (Microhemagglutination Treponema Pallidum) สำหรับการตรวจนี้สำหรับผู้ ที่เคยเป็นซิฟิลิสมาก่อนถึงจะรักษาแล้ว อาจจะให้ผลบวกได้โดยไม่เป็นโรคในขณะนั้น

ในผู้ป่วย syphilis จะมีการสร้าง antibody ซึ่งสามารถตรวจพบภายหลังที่ได้รับเชื้อ 4-6 สัปดาห์ ซึ่ง antibody โรคนี้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. Non-specific antibody (reagin) เป็น antibody ต่อ tissue lipid ของตัวผู้ป่วยเอง เนื่องจากเชื้อ *T.pallidum* ทำลาย tissue ของ host และ splitting เอาส่วนของ lipoidal fraction ออกมา ซึ่งทำหน้าที่เป็น hapten จากนั้นรวมกับโปรตีนที่มาจาก *T.pallidum* ทำให้สามารถเป็น Antigen และกระตุ้นการสร้าง antibody ขึ้นมาได้ การตรวจทาง serology คือ VDRL test, RPR test เป็นต้น
2. Specific antibody คือ antibody ที่ร่างกายสร้างขึ้นมาต่อต้านตัว *T.pallidum* โดยตรงและเป็นคนละตัวกับ reagin การตรวจทาง serology คือ Treponema Pallidum Immobilization(TPI), Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test(FTA-ABS), Treponema Pallidum hemagglutination (TPHA) หรือ Treponema Pallidum partical agglutination (TPPA)

16. คำแนะนำกรณีผลไม่อยู่ในช่วงการวัด

-

17. ค่าวิกฤต

-

18. การแปลผล

18.1 RPR Reactive : เป็นโรคซิฟิลิส จะรายงานผลเป็น titer เพื่อประโยชน์ในการติดตามผลการรักษา กรณีติดเชื้อระยะแรกจะพบการ เพิ่มขึ้นของtiter เป็น 4 เท่าหรือมากกว่าภายในระยะเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ และเมื่อได้รับการรักษา titer จะลดลงอย่างน้อย 4 เท่าภายใน 3-4 เดือน และลดลง 8 เท่าภายใน 6-8 เดือน ถ้าtiterสูงขึ้นแสดงว่ามีโรคกลับมา การรักษาไม่ได้ผลหรือได้รับเชื้ออีก

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

18.2 RPR titer สูงกว่า 1:8 โอกาสเป็น Biological false positive น้อยมาก

18.3 Latent syphilis จะให้ผล RPR titer ต่ำ ต้องแยกให้ออกจาก Biological false positive โดยการส่งตัวอย่างตรวจ TPHA, FTA-ABS ซึ่งเป็นการตรวจหา Antibody ต่อเชื้อ Treponema pallidum โดยตรงเป็น specific test

Syphilis เป็นกามโรคที่เกิดจากเชื้อ *Treponema pallidum* ซึ่งไม่สามารถเลี้ยงได้เหมือนแบคทีเรียชนิดอื่น ดังนั้นการ ตรวจทาง serological test จึงมีความสำคัญในการวินิจฉัย syphilis

การตรวจเชื้อตัวนี้ขึ้นอยู่กับประวัติของผู้ป่วย อาการทางคลินิก การตรวจหาตัวเชื้อจากแผลและผื่น (primary และ secondary syphilis) ด้วยกล้องจุลทรรศน์พิเศษที่เรียกว่า darkfield microscope หรือการย้อมพิเศษ คือ silver impregnation technique และการทดสอบทางน้ำเหลือง (serology test) ของผู้ป่วย

การตรวจเชื้อจากแผลของผู้ป่วยจะทำได้ผลในเฉพาะใน primary และ secondary stage เท่านั้น เพราะตัวเชื้อจะไม่พบ ใน latent period และ tertiary syphilis ดังนั้นการวินิจฉัยจึงขึ้นอยู่กับการตรวจทาง serology จาก serum และ spinal fluid ของผู้ป่วยเท่านั้น

คนไข้ที่ได้รับเชื้อ *Treponema Pallidum* จะมีการสร้าง regain และ specific Ab หลังได้รับเชื้อแล้ว 4-6 สัปดาห์ หรือ 1-3 สัปดาห์หลังเกิด hard chancre ในระยะต่างๆของโรคสามารถตรวจหา Ab ต่อ syphilis ได้ในเปอร์เซนต์ที่แตกต่างกัน

อาการของซิฟิลิส

ในช่วงแรกอาจมีแผลที่อวัยวะเพศหรือไม่มีอาการใดก็ได้ และถ้าไม่ได้รักษาแผลดังกล่าวอาจหายเองได้ แต่ยังมีความเสี่ยงที่จะเกิดผลแทรกซ้อนตามมา โรคนี้มีระยะต่างๆ คือ

1. ซิฟิลิสระยะแรก (Primary syphilis)

อาการที่สำคัญในระยะนี้ คือ แผลริมแข็ง ในตำแหน่งที่ติดเชื้อซิฟิลิส ซึ่งมีลักษณะสำคัญ คือ

- มีตุ่มแดงแล้วแตกออกเป็นแผลบริเวณอวัยวะเพศชาย อัณฑะ ทวารหนัก ช่องคลอด หรือ ริมฝีปาก หลังจากได้รับเชื้อ 10-90 วัน
- มักเป็นแผลเดียว ไม่เจ็บ ขอบนูน ต่อมน้ำเหลืองจะโต กดไม่เจ็บ
- แผลจะเป็นอยู่ 1-5 สัปดาห์ และส่วนใหญ่จะหายไปเอง
- การตรวจเลือดในช่วงนี้ให้ผลบวกได้ประมาณสองในสาม

2. ซิฟิลิสระยะที่สอง (Secondary syphilis)

อาการสำคัญในระยะนี้ คือ ผื่นที่เกิดในช่วง 2-3 สัปดาห์ หลังจากแผลริมแข็งหายแล้ว

- ผื่นมีสีแดงน้ำตาล ไม่คัน สามารถพบได้ทั่วตัวรวมทั้ง ฝ่ามือ ฝ่าเท้า และอาจมีไข้ และมีอาการปวดตามข้อเนื่องจากข้ออักเสบ
- ต่อมน้ำเหลืองโต ผมร่วงเป็นหย่อมๆ
- อาการเหล่านี้จะเป็น 1-3 เดือนแล้วหายไปเอง อาจกลับเป็นซ้ำได้ในบางคน
- การตรวจเลือดในช่วงนี้ส่วนใหญ่จะให้ผลบวก

3. ซิฟิลิสระยะแฝง (Latent syphilis)

ช่วงนี้ไม่มีอาการใดๆ เป็นช่วง 2-30 ปี หลังจากรับเชื้อ การวินิจฉัยโรคระยะนี้ ทำได้โดยการเจาะเลือด อาจจะ เกิดผื่นเหมือนในระยะที่สอง มารดาที่ตั้งครรภ์ และเป็นโรคระยะนี้ เชื้อซิฟิลิสสามารถติดต่อไปยังลูกได้

4. ซิฟิลิสระยะหลัง (Tertiary syphilis)

ซิฟิลิสระยะ Late stage ระยะนี้เป็นช่วง 2-30 ปี หลังรับเชื้อ เชื้อซิฟิลิสจะทำลายอวัยวะภายในต่างๆ เช่น หัวใจและหลอดเลือดสมอง ทำให้อ่อนแรง หรืออาจจะตาบอดได้ หากรักษาไม่ทันท่วงที อวัยวะต่างๆจะถูก ทำลาย และไม่สามารถกลับคืนเป็นปกติ การตรวจเลือดอาจให้ผลบวกได้ประมาณหนึ่งในสาม

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

19. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวน

19.1 Reagent เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ เมื่อใช้ RPR test kit เสร็จควรรีบเก็บในตู้เย็นสำหรับเก็บน้ำยาทันที หรือไม่เขย่าน้ำยาก่อนใช้

19.2 เครื่องมือ Rotator ไม่ได้รับการ Calibration ตามวงรอบที่กำหนด (ปีละ 1 ครั้ง) หรือ การเลื่อนของปุ่มปรับ หมุนความเร็วรอบ ทำให้ความเร็วรอบไม่ได้ตามที่กำหนด

19.3 การอ่านผลด้วยสายตา การอ่านผลอาจผิดพลาดได้ กรณีที่เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มแบบอ่อนๆ ซึ่งความสามารถในการมองเห็นของแต่ละบุคคลอาจแตกต่างกัน

19.4 การไม่อ่านผลทันทีที่ครบเวลา หรือเขย่าเกินเวลา 8 นาที ทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ หรือ การอ่านผลก่อนครบเวลาอาจทำให้เกิดผลลบปลอมได้

20. เอกสารอ้างอิง / เอกสารที่เกี่ยวข้อง

20.1 ชุดตรวจ RPR carbon antigen	(SD-AIDS/STI-005)
20.2 Syphilis Tri-Level Control	(SD-AIDS/STI-006)
20.3 ใบขอส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (STIs Lab)	(F-AIDS/STI-034)
20.4 แบบบันทึกรับ-ส่ง ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ	(F-AIDS/STI-032)
20.5 แบบฟอร์มบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์งาน Serology (Syphilis)	(F-AIDS STI-030)
20.6 แบบบันทึก IQC	(F-LAB-004)
20.7 แบบบันทึก แผนการรับส่ง EQA	(F- AIDS/STI-011)
20.8 คู่มือการตรวจวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิ กรมควบคุมโรค มี.ค.2564	(SD-AIDS/STI-251)

ภาคผนวก

แผนภูมิที่ 1 แผนภูมิที่ 2

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

แผนภูมิที่ 1
ลำดับขั้นตอนการตรวจแบบดั้งเดิม (Traditional Algorithm)

Ref.ค

หมายเหตุ แผนภูมิที่ 1 Nontreponemal test (NTT)= RPR , Treponemal test (TT)= TPPA

(1) Treponemal test (TT) ให้ใช้ conventional 1T เช่น TPHA หรือ TPPA เท่านั้น

(2) รายงานผลที่ตรวจได้แต่ละวิธีตามลำดับขั้นตอน โดยไม่ต้องสรุปผลรวม (conclusion) เช่น รายงานผลว่า "RPR

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

nonreactive" หรือ "RPR reactive 1:128, TPHA reactive" หรือ "RPR reactive 1:2, TPPA nonreactive" เป็นต้น
(3) แปลผลตรวจ (interpretation) โดยแพทย์พิจารณาร่วมกับประวัติและอาการทางคลินิกห้องปฏิบัติการไม่ต้องแปลผลตรวจในใบรายงานผล สำหรับความ เกี่ยวกับการแปลผลของห้องปฏิบัติการ ดูในตารางที่ 1
(4) ถ้าผู้ป่วยมีประวัติเสี่ยงสัมผัสโรคมาไม่นานให้เจาะเลือดส่งตรวจซ้ำหลังจากตรวจครั้งแรก 2-4 สับดาห์ หรือถ้าแพทย์สงสัยว่าผู้ป่วยเป็นโรคซิฟิลิส ระยะ ที่ 2 (secondary syphilis) ให้เจือจางสิ่งส่งตรวจด้วย 0.9% NSS ที่ dilution 1:16 (Serum 100 µl + 0.9%NSS 1500) แล้วนำไปตรวจ
ตามลำดับขั้นตอนต่อไป

คำแนะนำสำหรับลำดับขั้นตอนการตรวจแบบดั้งเดิม (traditional algorithm)

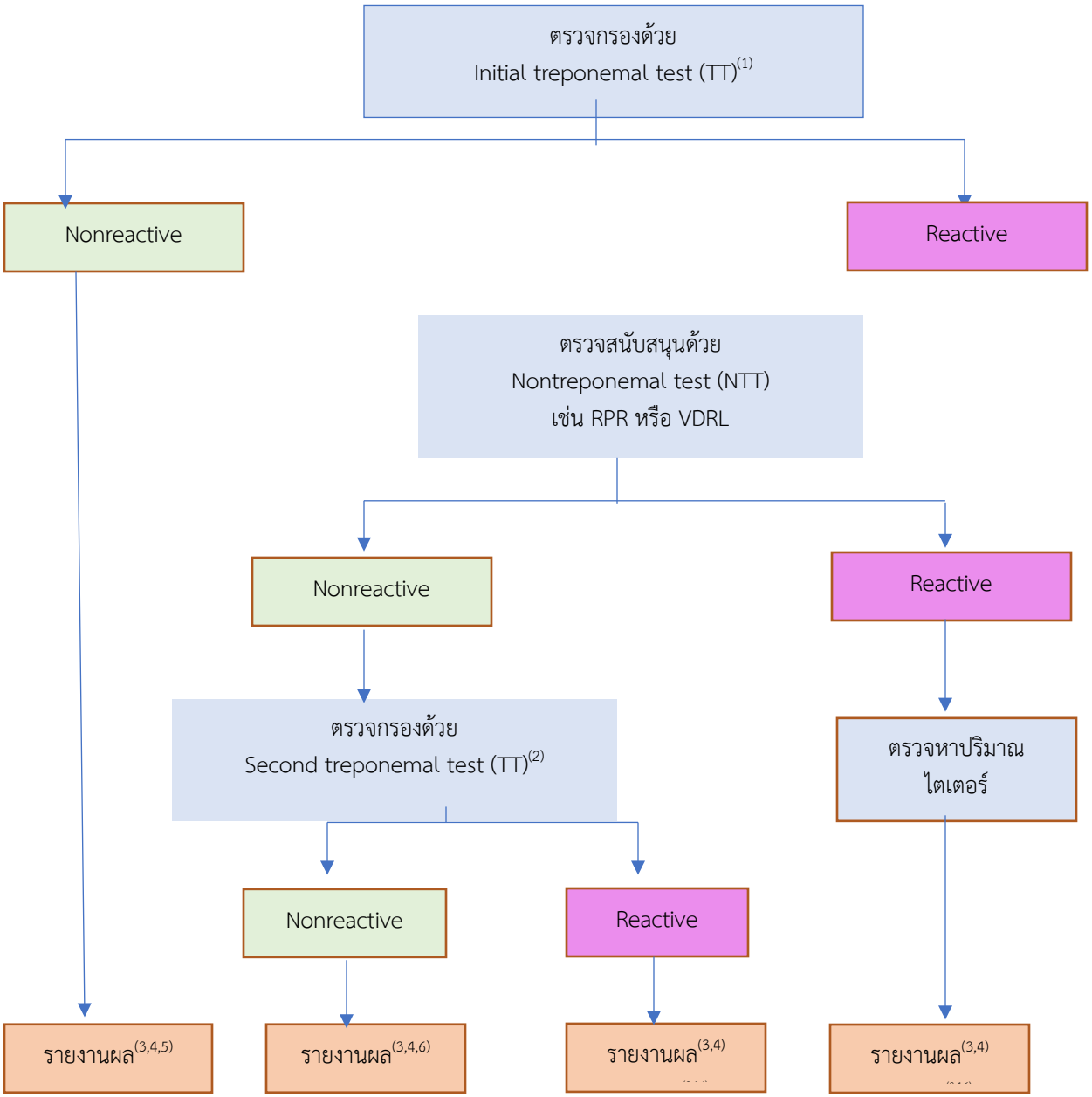
เลือกใช้ชุดตรวจที่ขึ้นทะเบียนกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย) แล้ว และ/หรือ
มีข้อมูลผลการศึกษาประสิทธิภาพจากหน่วยงานภายในประเทศหรือต่างประเท เช่น องค์การอนามัยโลก เป็นต้น
TT ในลำดับขั้นตอนการตรวจแบบดั้งเดิม ให้ใช้ conventional TT เช่น TPHA หรือ TPPA เท่านั้น
ห้องปฏิบัติการควรมีวิธีตรวจครบทั้งชนิด NTT และ TT เพื่อให้สามารถดำเนินการตรวจตามลำดับขั้นตอนได้ครบถ้วนทั้งกระบวนการ เพื่อให้แพทย์ได้รับผลตรวจที่ครบถ้วนภายในวันเดียว และใช้ผลตรวจตั้งแต่ครั้งแรกเพื่อรักษาผู้ป่วยได้อย่างทันเวลา
ถ้าห้องปฏิบัติการมีวิธีตรวจ NTT เพียงชนิดเดียว ในกรณีที่ NTT เกิดปฏิกิริยาจะต้องรายงานผลเบื้องต้น (preliminary report) ให้แพทย์ทราบก่อน และจัดให้มีระบบส่งตรวจต่อไปยังห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อที่ได้รับมาตรฐาน และเมื่อได้รับผลกลับมาแล้วให้รีบรายงานผลที่ครบถ้วนตามลำ ดับขั้นตอนเพิ่มเติม (final report) ให้แพทย์ทราบต่อไป

ข้อควรระวัง/ควรทราบสำหรับลำดับขั้นตอนการตรวจแบบดั้งเดิม (traditional algorithm)

ห้องปฏิบัติการที่ใช้น้ำยาตรวจ RPR ต้องระบุในใบสั่งตรวจให้ชัดเจน ว่าตรวจด้วยวิธี RPR และรายงานผลด้วยชื่อ RPR ห้ามรายงานผลด้วยชื่อ VDRL โดยเด็ดขาด เพราะจะทำให้เกิดผลเสียต่อผู้รับบริการ
NTT มีความไวเชิงวินิจฉัยต่ำ ในโรคซิฟิลิส ระยะที่ 1 ดังนั้น ถ้าผู้ป่วยมีประวัติเสี่ยงสัมผัสโรคมาไม่นานและตรวจไม่พบแอนติบอดีด้วยวิธี NTT ให้เจาะเลือดส่งตรวจซ้ำหลังจากตรวจครั้งแรก 24 สัปดาห์
ผู้ที่ติดเชื้อมาเป็นเวลานานและอยู่ในระยะแฝง (Late latent Syphilis) ประมาณร้อยละ 25-30 จะมีระดับ reagin antibody ลดลงไปเองแม้ไม่ได้รับการรักษา จึงตรวจไม่พบด้วยวิธี NTT ดังนั้น การใช้ลำดับขั้นตอนการตรวจแบบดั้งเดิม อาจทำให้วินิจฉัยผู้ติดเชื้อระยะแฝงกลุ่มนี้ผิดพลาด (missed diagnosis) และไม่ให้ใช้ลำดับชั้นตอนแบบดั้งเดิม อาจทำให้วินิจฉัยผู้ติดเชื้อระยะแฝงกลุ่มนี้ผิดพลาด (missed diagnosis) และไม่ให้ใช้ลำดับขั้นตอนแบบดั้งเดิมตรวจฝากครรภ์ในหญิงตั้งครรภ์ และคู่เพศสัมพันธ์ของหญิงตั้งครรภ์
ในผู้ป่วยโรคซิฟิลิสระยะที่ 2 ประมาณร้อยละ 1-2 จะมีระดับ reagin antibodies สูงมากจน NTT ตรวจไม่พบ ให้ผลลบปลอม (false negative) เนื่องจากมี prozone phenomenon ถ้าผู้ป่วยมีลักษณะอาการทางคลินิกและแพทย์สงสัยโรคซิฟลิสระยะที่ 2 ให้เจือจางสิ่งสิ่งตรวจด้วย 0.9% NSS ที่ dilution 1:16 แล้วนำไปตรวจ NTT ตามขั้นตอนต่อไป

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

แผนภูมิที่ 2
ลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทาง (Reverse Algorithm)



Ref.คู่มือการตรวจวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิลิสทางห้องปฏิบัติการ กรมควบคุมโรค มี.ค.2564

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

หมายเหตุ แผนภูมิที่ 2 Nontreponemal test (NTT) = RPR , Treponemal test (TT) = TPPA

(1) Initial treponemal test (initial TT) ให้เลือกใช้หลักการ CLIA หรือ ELISA ที่ตรวจหาแอนติบอดีได้ทั้งชนิด IgM และ IgG ใช้แอนติเจนที่หลากหลาย ในกรณีห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก หรือจุดบริการนอกสถานที่ หรือการตรวจที่ต้องการผลด่วน อาจ เลือกใช้ชุดตรวจที่ให้ผลรวดเร็ว (RDT) ได้

(2) Second treponemal test (second TT) ให้ใช้ conventional TT เช่น TPHA หรือ TPPA เท่านั้น

(3) รายงานผลที่ตรวจได้แต่ละวิธีตามลำดับขั้นตอน โดยไม่ต้องสรุปผลรวม (conclusion) เช่น รายงานผลว่า "Treponemal antibodies (ELISA) nonreactive" หรือ " Treponemal antibodies (CLIA) reactive, RPR reactive 1:256" หรือ "Treponemal antibodies (ELISA) reactive, RPR nonreactive, TPPA reactive" เป็นต้น

(4) แปลผลตรวจ (interpretation) โดยแพทย์พิจารณาร่วมกับประวัติและอาการทางคลินิก ห้องปฏิบัติการไม่ต้องแปลผลตรวจในใบรายงานผล ดูรายละเอียดเพิ่มเติมในตารางที่ 1

(5) ถ้าผู้ป่วยมีประวัติเสี่ยงสัมผัสโรคมาไม่นานให้เจาะเลือดส่งตรวจซ้ำหลังจากตรวจครั้ง แรก 2-4 สัปดาห์

(6) แนะนำให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ ถ้าผู้ป่วยมีประวัติเสี่ยงสัมผัสโรคมาไม่นาน ให้เจาะเลือดส่งตรวจซ้ำหลังจากตรวจครั้งแรก 2-4 สัปดาห์ โดยพิจารณาผลร่วมกับประวัติการรักษา

คำแนะนำสำหรับลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทาง (reverse algorithm)

เลือกใช้ชุดตรวจที่ขึ้นทะเบียนกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) แล้ว และ/หรือ

มีข้อมูลผลการศึกษาประสิทธิภาพจากหน่วยงานภายในประเทศหรือต่างประเทศ เช่น องค์การอนามัยโลก เป็นต้น

Initial TT เป็นวิธีแรกในลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทาง

- ต้องเลือกใช้ชุดตรวจที่มีความไวสูงสุด เพื่อให้สามารถตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อได้มากที่สุด
- ควรเลือกใช้ชุดตรวจที่ตรวจจับแอนติบอดีได้ทั้งชนิด IgM และ IgG
- ควรเลือกใช้ชุดตรวจที่มีแอนติเจนที่หลากหลาย เพื่อให้สามารถตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อได้ครอบคลุมทุกระยะ
- ควรเลือกใช้ชุดตรวจที่ใช้เครื่องอัตโนมัติ (automated immunoassay) โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการที่มีการส่ง ตรวจจำนวนมาก หรือห้องปฏิบัติการที่มีการใช้เครื่องอัตโนมัติสำหรับการตรวจอื่นๆอยู่แล้ว เช่น เครื่อง อัตโนมัติที่ตรวจ Anti-HIV เป็นต้น
- ห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก หรือจุดบริการนอกสถานที่ หรือการตรวจที่ต้องการผลด่วน อาจเลือกใช้ชุดตรวจที่ ให้ผลรวดเร็ว (RDT) ได้

ห้องปฏิบัติการหรือจุดบริการควรมีวิธีการตรวจครบทั้งชนิด initial TT และ NTT เพื่อให้แพทย์ได้รับผลตรวจที่จำเป็นต่อการวินิจฉัยโรคครบถ้วนภายในวันเดียว

ถ้าห้องปฏิบัติการหรือจุดบริการตรวจเฉพาะ initial TT เพียงอย่างเดียวในกรณีที่ initial TT เกิดปฏิกิริยา จะต้องรายงานผลเบื้องต้น (preliminary report) ให้แพทย์ทราบทันที และจัดให้มีระบบการส่งตรวจต่อไปยังห้องปฏิบัตการรับตรวจต่อที่ได้รับมาตรฐาน และเมื่อได้รับผลตรวจกลับมาแล้วให้รีบรายงานผลที่ครบถ้วนตามลำดับขั้นตอนเพิ่มเติมให้แพทย์ทราบต่อไป

ห้องปฏิบัติการควรมี second TT หรือมีระบบส่งตรวจต่อเพื่อยืนยันผล ในกรณีที่ initial TT เกิดปฏิกิริยา และ NTT ไม่เกิดปฏิกิริยา แต่ถ้าไม่สามารถตรวจหรือส่งตรวจต่อได้ ให้แพทย์ประเมินผลร่วมกับประวัติและอาการทางคลินิกต่อไป

Second TT ในลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทาง ให้ใช้ conventional TT เช่น TPHA หรือ TPPA เท่านั้น

การตรวจที่ต้องการผลด่วน (urgent test) เช่น ตรวจคลอดฉุกเฉิน ตรวจหญิงตั้งครรภ์ที่มาฝากครรภ์หลัง 32 สัปดาห์ ตรวจกลุ่มเสี่ยงที่จะไม่กลับมาฟังผลตรวจและเข้ารับการรักษา สามารถใช้ชุดตรวจที่ให้ผลรวดเร็ว (RDT) ได้ และให้รีบรายงานผลโดยเร็วที่สุด ทั้งนี้

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต

- ถ้าตรวจพบแอนติบอดีให้รีบรายงานผลเบื้องต้น เพื่อแพทย์จะประเมินผล ร่วมกับประวัติ แล้วรีบให้การรักษาเบื้องต้น จากนั้นจึงตรวจสนับสนุนหรือยืนยันผลตามลำดับขั้นตอนแบบย้อนทาง และรายงานผลเพิ่มเติมต่อไป
- ถ้าตรวจไม่พบแอนติบอดี แพทย์จะประเมินความเสี่ยงประกอบการพิจารณาให้การรักษาเบื้องต้น และอาจส่งตรวจซ้ำตามลำดับขั้นตอนมาตรฐานต่อไป

ข้อควรระวัง/ควรทราบสำหรับลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทาง (reverse algorithm)

ถ้าผู้ป่วยมีประวัติเสี่ยงสัมผัสโรคมาไม่นาน และตรวจไม่พบแอนติบอดี ให้เจาะเลือดส่งตรวจซ้ำ หลังจากตรวจครั้งแรก 2-4 สัปดาห์

Treponemal antibody จะตรวจพบด้วยวิธี TT ต่อไปได้หลังหายจากโรคแล้ว ดังนั้นถ้าตรวจ initial TT เกิดปฏิกิริยา แต่ NTT ไม่เกิดปฏิกิริยา ให้พิจารณา ประวัติการรักษาร่วมด้วยทุกครั้ง ถ้าไม่ทราบประวัติแพทย์อาจพิจารณา ให้การรักษาเหมือนโรคซิฟิลิสระยะแฝง

ลำดับขั้นตอนการตรวจแบบย้อนทางให้ผลบวกปลอมได้สูงโดยเฉพาะในกลุ่มประชากรที่มีความชุก ของโรคต่ำ ในกรณีที่ initial TT และ second TT ได้ผลไม่สอดคล้องกัน ให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญและ พิจารณาผลร่วมกับประวัติการรักษาทุกครั้ง

เอกสารควบคุมสำหรับใช้ในหน่วยงานที่ระบุภายในสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 อุบลราชธานี ห้ามทำสำเนาก่อนได้รับอนุญาต