วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง
การตรวจหาระดับ Direct bilirubin
โดยเครื่อง AU680 /DxC700AU
โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

จัดเตรียมเอกสารโดย	ตรวจสอบเอกสารโดย	อนุมัติใช้เอกสารโดย
(ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส) นักเทคนิคการแพทย์	(ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส) ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	(ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้) ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-089	00		1 สิงหาคม 2562

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน **เรื่อง :**การตรวจหาระดับ Direct bilirubin โดยเครื่อง AU680 /DxC700AU	**เอกสารเลขที่** MSUH-WI-LAB-089	**หน้า 1 จาก 8**
		แก้ไขครั้งที่ 00	**วันที่เริ่มใช้** **1 สิงหาคม 2562**
	ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	**หน่วยงาน :** งานเทคนิคการแพทย์	
	ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	**ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้** ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

การควบคุมระบบเอกสารคุณภาพ

แก้ไขครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติการแก้ไข	วันที่เริ่มใช้เอกสารฉบับแก้ไข

บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง

การตรวจหาระดับ Direct bilirubin โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU

วัตถุประสงค์ เพื่อให้นักเทคนิคการแพทย์สามารถตรวจหาระดับ Direct bilirubin โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU ได้อย่างถูกต้อง

ขอบข่าย นักเทคนิคการแพทย์ที่ปฏิบัติการในหน่วยเคมีคลินิค

คำจำกัดความ DBIL = Direct Bilirubin

รายละเอียด

1. วัตถุประสงค์การตรวจวิเคราะห์ (Purpose of the examination)

80-85 % ของ bilirubin ได้มาจาก haemoglobin ในเม็ดเลือดแดงที่สิ้นสุดอายุการทำงาน ที่เหลืออีก 15-20 % มาจากการสลายของ haem ซึ่งจับกับโปรตีน เช่น myoglobin , cytochromes, catalases และจากการสลายเม็ดเลือดแดงที่หมดอายุ ในไขกระดูก Bilirubin จะจับกับ albumin เป็น unconjugated bilirubin (Indirect bilirubin) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำและถูกส่งไปที่ตับ ในเซลล์ตับ bilirubin จะจับกับ glucoronic acid เปลี่ยนเป็น bilirubin mono-และ diglucoronide (direct bilirubin) ซึ่งจะถูกขับออกมาทางน้ำดี

การเพิ่มปริมาณของ Unconjugated bilirubin จะทำให้เกิดภาวะดีซ่าน (เช่น haemolytic anemia และภาวะตัวเหลืองในทารกแรกเกิด) การตรวจดูปริมาณของ direct bilirubin มีประโยชน์ในการตรวจสภาวะของตับและในการติดตามการรักษา ในผู้ป่วยดีซ่าน ภาวะโรคที่มีต้นกำเนิดจากภายในตับที่ทำให้เกิด Conjugated hyperbilirubinemia ได้แก่ ไวรัสตับอักเสบชนิดเฉียบพลัน และชนิดเรื้อรัง , liver cirrhosis และ hepatocellular carcinoma ภาวะโรคที่เกิดภายนอกตับ (post hepatic) ทำให้เกิด Conjugated hyperbilirubinemia ได้แก่ extrahepatic cholestasis และ liver transplant rejection ภาวะ Chronic congenital conjugated hyperbilirubinemia ได้แก่ Dobin-Johnson and Rotor syndrome

ความแตกต่างของ chronic congenital hyperbilirubinemia กับ acquired type คือ ในทารกแรกเกิดจะเป็นการวัด bilirubin fraction ส่วนใน acquired จะเป็นการวัด การทำงานของเอนไซม์ในตับ

2. หลักการและวิธีการในการวิเคราะห์ (Principle of the procedure used for examination)

3,5 Dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborate (DPD) จะจับกับ direct (conjugate) bilirubin โดยตรงในตัวกลางที่เป็นกรด และเปลี่ยนเป็น azobilirubin ค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมในการวัด direct bilirubin ในสิ่งส่งตรวจคือ 570 nm

Bilirubin + DPD ⟶ Azobilirubin

3. รายละเอียดเพิ่มเติมในการปฏิบัติงาน (Performance specifications)

ข้อมูลที่บรรจุอยู่ภายในส่วนนี้เป็นตัวแทนของประสิทธิภาพการทำงานบนระบบ Beckman Coulter ข้อมูลที่ได้ในห้องปฏิบัติการของคุณอาจแตกต่างจากค่าเหล่านี้

- **Method Comparison**

เปรียบเทียบตัวอย่างตรวจ Serum คนไข้ ด้วยน้ำยา Direct Bilirubin OSR6111 บนเครื่อง AU640 เปรียบเทียบกับน้ำยาสำเร็จรูป Direct bilirubin อื่น ได้ผล Linear regression ดังนี้

y = 0.789x – 0.7	r = 0.998	n = 99	Sample range = 0.2 – 151.5 µmol/L

- **ความแม่นยำ (Precision)**

ทดสอบความแม่นยำจาก 3 serum pools บนเครื่อง AU600 โดยการทำมากกว่า 10 วัน ได้ผลดังนี้

n = 60	Within Run		Total	
Mean µmol/L	SD	CV%	SD	CV%
10	0.18	1.78	0.33	3.24
17	0.26	1.51	0.50	2.92
116	1.34	1.16	2.55	2.20

- **Linearity**

Serum/Plasma = 0 – 10 mg/dL (0 -171 umol/L)

- **Sensitivity**

ค่าต่ำสุดที่วัดได้บนเครื่อง AU600 = 0.24 µmol/L

4. ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจปฐมภูมิ (Primary sample system)[3]

Serum หรือ plasma เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15-25°C และป้องกันการโดนแสง จะอยู่ได้นาน 3 วัน สิ่งส่งตรวจที่มี slight haemolysis อาจเป็นสาเหตุให้ได้ค่าลดลง ดังนั้นควรหลีกเลี่ยง และ ควรหลีกเลี่ยงสิ่งส่งตรวจที่ Lipemic ด้วยเช่นกัน

5. ชนิดของภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจและสารที่เติมเพื่อรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ (Type of container and additives)

Serum และ heparinised plasma

6. เครื่องมือของห้องปฏิบัติการที่จำเป็นและน้ำยา (Required equipment and reagents)

6.1 เครื่องอัตโนมัติ AU480/AU680/AU5800

6.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ Cholesterol

การเตรียมน้ำยา

Direct Bilirubin เป็นน้ำยาที่พร้อมใช้งาน

การจัดเก็บและเสถียรภาพ

น้ำยาจะคงเสถียรภาพได้นานตามอายุข้างขวดเมื่อถูกปิดฝาสนิทและเก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิ 2-8°C แต่เมื่อเปิดฝาใช้งานแล้ว น้ำยาจะมีอายุ 21 วัน ที่อุณหภูมิตู้เย็น ในเครื่อง

น้ำยา Direct Bilirubin ประกอบด้วย

Final concentration of reactive ingredients:

3,5 Dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborate 0.07 mmol/L

6.3 เครื่อง Centrifuge

6.4 สารมาตรฐาน

System Calibrator Cat. No. 66300.

ค่า Direct Bilirubin นี้แสดง traceability ตามมาตราฐาน Beckman Coulter Master Calibrator

วิธีการเตรียม Calibrator

System Calibrator Cat. No. 66300.

1. ก่อนเปิดฝาควรตั้งขวดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน

2. เคาะแตะฝาด้านบนขวดก่อนเปิดเพื่อให้ขับสาร lyophilsate ที่ติดอยู่ด้านบน และเปิดผาอย่างระมัดระวัง
3. เติมSterile deionised water 5 mL ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 20°C) ในสาร lyophilised โดยใช้ Volumetric pipette
4. ปิดฝา , ละลายสารอย่างสมบูรณ์โดยการผสมแบบ Invert 3 ครั้ง และทิ้งไว้ 10 นาที ต่อจากนั้นละลายสารทั้งหมดโดยการผสมอย่างเบาๆบน Roller นาน 30 นาที ห้ามเขย่าขวดเพราะอาจทำให้เกิดฟองได้
5. ดำเนินต่อไปจนกว่าการผสมสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันและสาร Lyophilized ทั้งหมดเป็นสารละลาย
6. บันทึกวันที่ถูกละลายบนฉลากขวด

<u>การจัดเก็บและเสถียรภาพของ Calibrator</u>

Calibrator ที่มีเสถียรภาพ , ถูกปิดสนิท มีอายุได้ถึงวันที่ระบุไว้ เมื่อเก็บรักษา Calibrator ที่อุณหภูมิ 2-8°C Calibrator , มีอายุหลังการละลายนาน 30 ชั่วโมง เมื่อเก็บรักษา Calibrator ที่อุณหภูมิ 2-8°C สามารถแบ่งเก็บและแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C จะมีอายุนาน 1 เดือน

7. <u>การสอบเทียบ (Calibration)</u>

7.1 ใช้ Calibrator รหัส 66300

7.2 ควรทำการ Calibrate ทุก 21 วัน หรือเมื่อเกิดเหตุการณ์ดังต่อไปนี้ขึ้น: มีการเปลี่ยนขวดน้ำยาใหม่ หรือค่า Control มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ , มีการทำ preventative maintenance หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่สำคัญ

<u>8. ขั้นตอนกระบวนการ (Procedural steps)</u>

ขั้นตอนและรายละเอียดวิธีการใช้เครื่อง AU480/AU680/AU5800 ให้ปฏิบัติตามการใช้ และการบำรุงรักษาเครื่อง AU480/AU680/AU5800

9. วิธีการควบคุมคุณภาพ (Quality control procedures)

9.1 ใช้สารสารควบคุมคุณภาพ รหัส ODC0003 และ ODC0004

9.2 ทำการทดสอบคุณภาพภายในทุกวันที่มีการตรวจวัดคนไข้ หรือทุกครั้งที่ทำ Calibration

10. สิ่งหรือปัจจัยรบกวน (Interferences)

Lipemia: Interference less than 10% up to 300 mg/dL Intralipid®
พบได้น้อยมากใน โรค gammopathy โดยเฉพาะ monoclonal IgM (Waldenström's macroglobulinemia) ที่อาจทำให้ผลการตรวจวัดไม่น่าเชื่อถือ

11. หลักการในการคำนวณและค่าความไม่แน่นอน (Principle of procedure for calculating results, including measurement uncertainty)

เครื่องวิเคราะห์จะคำนวณระดับของสารในแต่ละสารตัวอย่างโดยอัตโนมัติ ค่าความไม่แน่นอนให้ดู รายละเอียดในเอกสารเรื่องการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของการวัดเชิงปริมาณ

12. ค่าอ้างอิง (Biological reference intervals)[1]

ผู้ใหญ่และเด็ก < 3.4 μmol/L (< 0.2 mg/dL)

13. ช่วงในการรายงาน (Reportable interval of examination results)

ช่วงการตรวจวิเคราะห์ Direct Bilirubin ของเครื่องคือ 0 – 171 μmol/L (0 – 10 mg/dL)

เอกสารอ้างอิง

AU System(s) : Clinical Chemistry Reagent Guide (Version .15 Revision date: 2012-01), AU480/AU680 User Guide.