วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสาร .....การตรวจหาปริมาณ..Total..bilirubin..ใน..plasma,.serum.....

รหัสเอกสาร .....WI-LAB-CH007.....

ผู้จัดทำ..... (.....นายกฤษเวท.....แซ่ท้าว.....) **ตำแหน่ง** .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	**วันที่จัดทำ**.....5..มกราคม..2569.....
ผู้ทบทวน..... (.....น.ส..จิราพร.....ใจชื่น.....) **ตำแหน่ง** .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	**วันที่ทบทวน**.....5..มกราคม..2569.....
ผู้อนุมัติ..... (.....น.ส..จิราพร.....ใจชื่น.....) **ตำแหน่ง** .....นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	**วันที่อนุมัติ**.....6..มกราคม..2569.....
สำเนาฉบับที่.....01.....	**ผู้ถือครอง**.....เทคนิคการแพทย์.....
แก้ไขครั้งที่.....00.....	**วันที่เริ่มใช้**.....2..ตุลาคม..2558.....
แก้ไขครั้งที่.....01.....	**วันที่เริ่มใช้**.....2..มกราคม..2566.....
แก้ไขครั้งที่.....02.....	**วันที่เริ่มใช้**.....6..มกราคม..2569.....
แก้ไขครั้งที่.....	**วันที่เริ่มใช้**.....
แก้ไขครั้งที่.....	**วันที่เริ่มใช้**.....

ผู้จัดทำ : นายกฤษเวท แซ่ท้าว	ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์	วันที่ 5 มกราคม 2569
ผู้รับรอง : นางสาวจิราพร ใจชื่น	ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์	วันที่ 5 มกราคม 2569
ผู้อนุมัติ : นางสาวจิราพร ใจชื่น	ตำแหน่ง หัวหน้างานเทคนิคการแพทย์	วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569

รายการทบทวนและแก้ไข

แก้ไขครั้งที่	วันที่	รายละเอียดการแก้ไข
00	1 ตุลาคม 2558	- เริ่มจัดทำ
00	2 ตุลาคม 2558	- ประกาศใช้
01	1 มกราคม 2566	- ทบทวนเอกสาร
01	2 มกราคม 2566	- ประกาศใช้
02	5 มกราคม 2569	- ทบทวนเอกสาร
02	6 มกราคม 2569	- ประกาศใช้

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจหาปริมาณ Total bilirubin ใน serum, plasma โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Erba Mannheim XL- 640 ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

ใช้สำหรับตรวจหาปริมาณค่า Total bilirubin โดยตรวจจากสิ่งส่งตรวจ serum หรือ plasma เพื่อใช้ในการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยโรคตับ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตก และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางด้านกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย รวมถึงผู้ป่วยที่ตับอักเสบและเป็นโรคเกี่ยวกับกระเพาะปัสสาวะ

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

3.1 เอกสารกำกับน้ำยา Total Bilirubin เครื่องตรวจ Erba Mannheim XL-640 โดย Erba Lachema

3.2 คู่มือการใช้งานเครื่อง Erba Mannheim XL-640 บริษัท Biozen

3.3 Tietz, N W, (ed) Textbook of Clinical Chemistry, W, B. Saunders (1986).

3.4 Pearlman, P.C & Lee, R.T. Clin. Chem. (1974), 20:447.

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

Total bilirubin คือ ค่าบิลิรูบินทั้งหมด ซึ่งเกิดเนื่องมาจากการที่เมื่อเม็ดเลือดแดงหมดอายุขัย (ปกติจะมีอายุขัยประมาณ 120 วัน) ก็จะถูกม้ามจับตัว แล้วทำการสลาย Hemoglobin ที่อยู่ภายในเม็ดเลือดแดงให้ส่วนหนึ่งกลายเป็นกรดอะมิโนเช่นเดียวกับสารอาหารที่ร่างกายใช้ประโยชน์ในฐานะสารโปรตีน และอีกส่วนหนึ่งที่เรียกว่า “Hema” ซึ่งละลายในน้ำ (เลือด) ไม่ได้ จึงต้องอาศัยการเกาะติดมากับ Albumin เพื่อจะได้ล่องลอยไปสู่ที่ตับได้ ซึ่งทันทีที่ Hema + Albumin จับตัวกันลอยได้ในกระแสเลือดก็จะเรียกว่า “Bilirubin” แต่เมื่อยังไม่ไปถึงตับก็จะถูกเรียกว่า “Indirect bilirubin” (บางตำราก็เรียกว่า “Unconjugated bilirubin” ถ้ากล่าวถึง Direct bilirubin เฉย ๆ เมื่อใดก็คือหมายตัวนี้เสมอ) และเมื่อ Bilirubin ลอยตามกระแสเลือดไปจนถึงตับ ก็จะถูกตับจับไปผสมกับกรดชนิดหนึ่งจนมีคุณสมบัติที่สามารถ

ละลายน้ำได้และปรากฏเป็นสารของเหลวสีเหลือง ซึ่งตรงนี้จะได้ชื่อใหม่ว่า “Direct bilirubin” (บางตำราก็เรียกว่า “Conjugated bilirubin” หรือ “บิลิรูบินที่ผสมแล้ว”)

ต่อจากนั้น Direct bilirubin ก็จะถูกตับจัดการผสมกับน้ำดี (Bile) แล้วระบายออกทางท่อน้ำดีเข้าสู่ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่เพื่อให้ช่วยกันย่อยอาหารและกลายเป็นกากอาหารต่อไป (แต่ในกรณีนี้ถ้าตับทำหน้าที่ไม่ได้ เช่น เกิดโรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง ฯลฯ จึงย่อมปล่อยของเหลวสีเหลืองออกทิ้งไม่ได้ ทำให้วนเวียนอยู่ในกระแสเลือดและเกิดดีซ่านหรืออาการตัวเหลืองนั่นเอง) ซึ่งในขณะที่ยังอยู่ในช่องทางเดินอาหารนับตั้งแต่ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ Direct bilirubin ที่ปนอยู่กับกากอาหารนั้นจะมีบางส่วนที่ถูกดูดซึมให้ร่างกายกลับมาใช้โดยผ่านเข้าทางผนังลำไส้ และบางส่วนจะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียประจำถิ่นภายในลำไส้แล้วเกิดเป็นของเสียสีเหลืองปนมากับกากอาหาร (จึงทำให้เห็นอุจจาระเป็นสีเหลือง ๆ หรือสีน้ำตาล) แต่ Direct bilirubin ส่วนน้อยบางส่วนในตับที่ปล่อยออกทิ้งทางท่อน้ำดีไม่ทันนั้นก็จะล้นจากตับเข้าสู่กระแสเลือด (จึงทำให้เมื่อตรวจเลือดจึงอาจพบ Direct bilirubin ได้) ทำให้ตกเป็นหน้าที่ของไตต่อไปที่จะต้องกรองเอา Direct bilirubin ออกจากเลือด แยกทิ้งปนออกมากับน้ำปัสสาวะ (จึงทำให้เห็นปัสสาวะเป็นสีเหลืองนั่นเอง)

Total bilirubin คำย่อ TB

5.หลักการ (Principle)

Walter & Gerarde method

$$\text{Bilirubin + diazotized sulfanilic acid} \xrightarrow{\text{Ethylene glycerol}} \text{Diazo dye}$$

Dimethylsulphoxide (DMSO) ทำหน้าที่ละลาย unconjugate bilirubin จากนั้น bilirubin ทั้งหมดในสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับ diazotized sulfanilic acid ในสถาวะที่มี ethylene glycol เกิดเป็น diazo dye โดย Diazo dye ที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนแปรผันตรงกับปริมาณ Bilirubin ในสิ่งส่งตรวจวัดความเข้มข้นสีที่ 546 nm

6.เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated documents)

6.1 QP-LAB-001

6.2 QP-LAB-002

7.ความปลอดภัย (Safety)

7.1 ปฏิบัติงานโดยนักเทคนิคการแพทย์

7.2 สวมถุงมือ เสื้อกาวน์ (gown) แว่นตา และหน้ากากอนามัยป้องกันการปนเปื้อนขณะปฏิบัติงาน

7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งลงในถังขยะติดเชื้อ

7.4 ชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์ Total bilirubin ใช้สำหรับตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกเท่านั้น

7.5 ชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์ Total bilirubin ใน R1 บรรจุ 2.5% cetrimonium bromide และ 0.5% sulphanilic acid จัดเป็นสารระคายเคืองต่อตาและผิวหนัง อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อผิวหนัง

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

8.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์ Erba Mannheim XL- 640

8.2 R1

8.2.1 sulphanilic acid 28.87 mmol/l

8.2.2 HCL 58.8 mmol/l

8.2.3 Cetrimonium bromide 68.6 mmol/l

8.3 R2

8.3.1 Sodium nitrite 2.90 mmol/l

9.สารมาตรฐาน (Standard)

9.1 Erba Norm

9.2 Erba Path

9.3 Erba XL multi-Calibration

10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

10.1 ใส่น้ำยา Total Bilirubin เข้าเครื่อง ระบบจะทำการ scan bar code อัตโนมัติ

10.2 เมื่อมีการสั่งทำ Calibrate, Control หรือ Unknown เครื่องจะดูดน้ำยาและสิ่งส่งตรวจไปทำการวิเคราะห์ให้อัตโนมัติ

10.3 โปรแกรมการวิเคราะห์

Sample	11.3 µl
Reagent 1	180 µl
Reagent 2	45 µl
Test temperature 37 °C Wavelength 546 & 660	

11.การคำนวณ (Calculation)

ผลที่ได้เป็นค่าคำนวณอัตโนมัติโดยเครื่อง Erba Mannheim XL- 640

mg/dl x 16.95 = µmol/l

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

การควบคุมคุณภาพภายใน

- ทำ IQC ทุกวัน ใช้สารควบคุมภาพที่มีค่า Total bilirubin ซึ่งแนะนำให้ใช้

Erba Norm สำหรับค่าปกติ

Erba Path สำหรับค่าผิดปกติ

การควบคุมคุณภาพภายนอก

- เข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพทางห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (EQAS) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล เดือนละ 1 ครั้ง

13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

14. การรายงานผล (Report of analysis)

ผู้ใหญ่	0-1.5 mg/dl
เด็กแรกเกิด (คลอดก่อนกำหนด)	
0-1 วัน	1.0-8.0 mg/dl
1-2 วัน	6.0-12.0 mg/dl
3-5 วัน	10.0-14.0 mg/dl
เด็กแรกเกิด (คลอดตามกำหนด)	
0-1 วัน	2.0-6.0 mg/dl
1-2 วัน	6.0-10.0 mg/dl
3-5 วัน	4.0-8.0 mg/dl

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ serum, plasma (heparin, EDTA)

15.2 การรักษาคงสภาพของสิ่งส่งตรวจ

สิ่งส่งตรวจ	เก็บได้นาน	อุณหภูมิ
Serum	1 วัน	15-25 °C
	7 วัน	2-8 °C
	3 เดือน	-20 °C

15.3 ค่าช่วงที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ 0.08-23 mg/dl

15.4 ควรทำการวิเคราะห์ทันที สิ่งส่งตรวจควรเก็บให้พ้นแสง เนื่องจาก Bilirubin ไวต่อแสง

15.5 ถ้าค่าที่ตรวจวัดใน Serum/Plasma เกินกว่า 23 g/dl ควรเจือจางตัวอย่างตรวจด้วยน้ำเกลือ (ตัวอย่างตรวจ 1 ส่วน: น้ำเกลือ 1 ส่วน) แล้วทำการวิเคราะห์ซ้ำ นำค่าที่ได้คูณด้วย 2 (เครื่องมีระบบ Auto-rerun)

15.6 สิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์

Hemoglobin ≤ 7.5 g/l ไม่รบกวนการเกิดปฏิกิริยา

Lipaemia หาก Triglyceride ≤ 1,500 mg/dl ไม่รบกวนการเกิดปฏิกิริยา