

วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจหาปริมาณ..Direct..bilirubin..ใน..plasma,.serum.....

รหัสเอกสารWI-LAB-CH008.....

ผู้จัดทำ.......... (.....นายกฤษฎา.....แซ่ท้าว.....) ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	วันที่จัดทำ.....5..มกราคม..2569.....
ผู้ทบทวน.......... (.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....) ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	วันที่ทบทวน.....5..มกราคม..2569.....
ผู้อนุมัติ.......... (.....น.ส.จิราพร.....ใจชื่น.....) ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ.....	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.....

	วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 2 ของ 7
	เรื่อง : การตรวจหาปริมาณ Direct bilirubin ใน serum, plasma	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH008	แก้ไขครั้งที่ : 02
ผู้จัดทำ : นายฤทธิเดช 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

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 3 ของ 7
เรื่อง : การตรวจหาปริมาณ Direct bilirubin ใน serum, plasma	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

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

2.การนำไปใช้ (Application)

ใช้สำหรับตรวจหาปริมาณค่า Direct bilirubin โดยตรวจจากสิ่งส่งตรวจ serum หรือ plasma เพื่อใช้ในการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยโรคตับ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตก และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางด้านกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย รวมถึงผู้ป่วยที่ตับอักเสบและเป็นโรคเกี่ยวกับกระเพาะปัสสาวะ

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

- 3.1 เอกสารกำกับน้ำยา Direct 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.
- 3.5 Henry, R.J. (Ed), Clinical Chemistry: Principles and Techniques (2nd Ed.) Harper and Row (1974). P. 1042.

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

Direct bilirubin หรือ Conjugated bilirubin คือ ค่าบิลิรูบินชนิดที่ละลายน้ำได้ ซึ่งเกิดจากการที่ตับนำเอา Bilirubin ที่ลอยอยู่ในกระแสเลือดมาผสมเข้ากับกรดชนิดหนึ่งจนมันมีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้และเป็นสารของเหลวสีเหลืองที่พร้อมที่จะถูกทิ้งออกนอกร่างกายโดยอวัยวะตับและไต โดยตับจะจับ Direct bilirubin ไปผสมกับน้ำดีแล้วระบายออกทางท่อน้ำดีเข้าสู่ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ ปนกับกากอาหารออกพ้นจากร่างกายไปกับอุจจาระ (หากท่อน้ำดีเกิดอักเสบจนปิดกั้นการไหลหรือเกิดมีนิ่วในท่อน้ำดีก็ย่อมปิดกั้นการไหลและมีผลทำให้ Direct bilirubin ท่วมท้นจากตับเข้าสู่กระแสเลือด) ส่วนไตจะจับ Direct bilirubin ที่ละลายปนท่วมท้นมากับเลือดกรองออกทิ้งไปกับน้ำปัสสาวะ (หากไตเสื่อมก็ย่อมกรอง Direct bilirubin ออกทิ้งไม่ได้ จึงทำให้ค่า Direct bilirubin ในเลือดสูงขึ้น)

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 7
เรื่อง : การตรวจหาปริมาณ Direct bilirubin ใน serum, plasma	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

Direct bilirubin ค่าย่อ DB

5.หลักการ (Principle)

Walter & Gerarde method

Conjugated bilirubin + diazonium salt / sulfanilic acid $\longrightarrow$ azobilirubin

Conjugated bilirubin ทำปฏิกิริยากับ diazonium salt / sulfanilic acid ในสถานะที่เป็นกรด เกิดเป็น azobilirubin ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 550 nm เป็นสัดส่วนแปรผันตรงกับปริมาณ direct bilirubin ในสิ่งส่งตรวจ

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 Direct bilirubin ใช้สำหรับตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกเท่านั้น

7.4 ชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์ Direct bilirubin ใน R1 บรรจุ sulphanilic acid อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ต่อผิวหนัง

7.5 ชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์ Direct bilirubin ใน R2 บรรจุ <0.02% sodium nitrite จัดเป็นสารพิษและสารอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 7
เรื่อง : การตรวจหาปริมาณ Direct bilirubin ใน serum, plasma	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

8.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์ Erba Mannheim XL- 640

8.2 R1

8.2.1 Sulphanillic acid 28.87 mmol/l

8.2.2 HCL 23 mmol/l

8.3 R2

8.3.1 Sodium Nitrite 2.9 mmol/l

9.สารมาตรฐาน (Standard)

9.1 Erba Norm

9.2 Erba Path

9.3 Erba XL multi-Calibration

10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

10.1 ใส่ตัวอย่าง Direct 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

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 7
เรื่อง : การตรวจหาปริมาณ Direct bilirubin ใน serum, plasma	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

การควบคุมคุณภาพภายใน

- ทำ IQC ทุกวัน ใช้สารควบคุมคุณภาพที่มีค่า Direct 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	0-0.5 mg/dl
เด็ก	0-0.2 mg/dl

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ serum, plasma (heparin, EDTA)

15.2 การรักษาคงสภาพของสิ่งส่งตรวจ

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

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 7 ของ 7
เรื่อง : การตรวจหาปริมาณ Direct bilirubin ใน serum, plasma	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH008	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

15.3 ค่าช่วงที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ 0.18-23 mg/dl

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

15.5 ควรทำการวิเคราะห์ทันที สิ่งส่งตรวจควรเก็บให้พ้นแสง เนื่องจาก Bilirubin ไวต่อแสง

15.6 สิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์

Hemoglobin $\leq$ 10 g/l ไม่รบกวนการเกิดปฏิกิริยา

Lipaemia หาก Triglyceride $\leq$ 1,000 mg/dl ไม่รบกวนการเกิดปฏิกิริยา