

วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจวิเคราะห์..Cholinesterase.....

รหัสเอกสารWI-LAB-CH023.....

ผู้จัดทำ.......... (.....นายฤชเวช.....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 8
	เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	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 8
เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase โดยกระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

กระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส สำหรับตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชใช้สำหรับตรวจหาปริมาณเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นดัชนีชี้บ่งของการเฝ้าระวังและติดตามผลอันตรายจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจำพวกออร์กาโนฟอสฟอรัสและคาร์บาเมตบางตัว

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

3.1 เอกสารคู่มือการใช้งานกระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส

3.2 สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.(2560). องค์ความรู้เกี่ยวกับการตรวจคัดกรองความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยกระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส (Cholinesterase reactive paper) สืบค้น 27 กันยายน 2567.จาก <https://www.ddc.moph.go.th/uploads/files/.pdf>

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

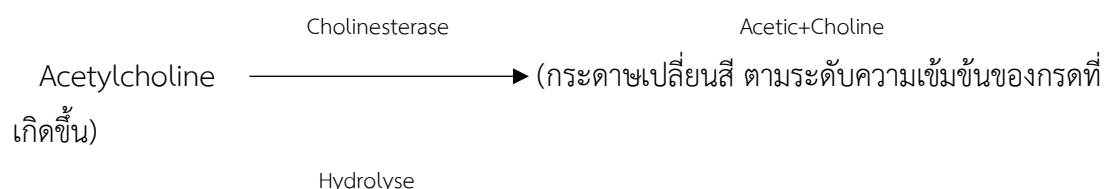
เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส มีหน้าที่ในการทำลายสาร Acetylcholine ซึ่งสารนี้เป็นตัวกลางในการส่งกระแสประสาท (nerve impulses) ของ preganglionic automatic fiber, postganglionic parasympathetic fiber และ postganglionic sympathetic fiber บางชนิด ซึ่งเส้นประสาทเหล่านี้จะส่งกระแสประสาทไปยังหัวใจ ม่านตา ต่อมน้ำลาย กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก กรเพาะปัสสาวะ bronchial gland, sweat gland รวมทั้งอวัยวะ และเนื้อเยื่ออื่นๆ ในร่างกาย นอกจากนั้น acetylcholine ยังทำหน้าที่ของตัวกลางในการส่งกระแสประสาทที่ neuromuscular junction และที่ synapse ต่างๆ ของระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) เมื่อร่างกายได้รับสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสแล้ว ก็จะมีการสะสมของสาร acetylcholine ขึ้นในร่างกาย สาร acetylcholine จะไปกระตุ้น receptor ของตัวมัน ทั้ง muscarinic และ nicotinic receptor ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการทาง over-cholinergic activity คือ มีการส่งกระแสประสาทอยู่ตลอดเวลา ซึ่งแบ่งอาการที่เกิดขึ้นตามแหล่งที่สะสมของสาร acetylcholine ได้นี้

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 8
เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1. อาการทางประสาท จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน เหงื่อออก แขนงหน้าอก หรือถ้าอาการรุนแรงขึ้น อาจปวดท้อง ท้องเดิน น้ำลายฟูมปาก น้ำตาและน้ำมูกไหลถ่ายอุจจาระ และปัสสาวะโดยกลืนไม่อยู่ หลอดลมมีเสมหะมาก หายใจหอบ หลอดลมตีบ หน้าเขียวคล้ำ เป็นต้น
 2. อาการทางกล้ามเนื้อ จะเกิดการกระตุกของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะที่ลิ้น บริเวณหน้าและลำคอ หรือกระตุกทั่วร่างกาย เกิดอาการอ่อนเพลียและเป็นอัมพาต
 3. อาการทางสมอง จะเกิดอาการปวดศีรษะมึนงง อาจชักหมดสติได้
- โดยทั่วไปในร่างกายของคนจะพบเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส 2 ประเภทด้วยกัน คือ
1. True-cholinesterase enzyme เป็นเอนไซม์ที่มีความเฉพาะเจาะจงในการสลายสาร acetylcholine มากสามารถพบได้ในเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์ประสาท และ neuromuscular junction เอนไซม์นี้จะถูกสร้างขึ้นมาพร้อมๆ กับการสร้างเม็ดเลือดแดง
 2. Pseudo-cholinesterase enzyme เป็นเอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นโดยเซลล์ตับ จะพบตามบริเวณ peripheral nervous system, plasma ตับและในอวัยวะอื่นๆ มีความเฉพาะเจาะจงในการสลายสาร acetylcholine น้อยกว่า true-cholinesterase enzyme

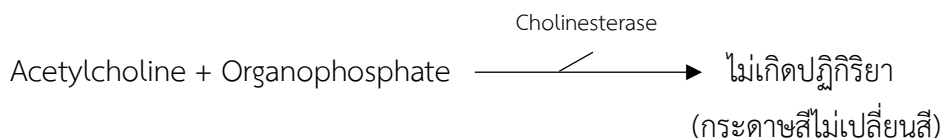
5. หลักการ (Principle)

สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตบางชนิดเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงและในน้ำเหลือง (Serum หรือ Plasma) ซึ่งในภาวะปกติเอนไซม์นี้จะทำหน้าที่สลายสารอะซีทิลโคลีน (Acetylcholine) เป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) และโคลีน (Choline) ดังสมการเคมีที่ 1



แต่ถ้าในภาวะที่ร่างกายได้รับสารออร์กาโนฟอสเฟตการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสจะถูกยับยั้งทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาจึงไม่เกิดกรดอะซิติก ดังสมการเคมีที่ 2

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 8
เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		



หลักการของกระดาษทดสอบโคลีนเอสเตอเรส ใช้คุณสมบัติของกรดอะซิติกที่เกิดขึ้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) ดังนั้น ถ้าสารผสมระหว่างเลือดหรือน้ำเหลือง และสารเคมีคืออะซิลโคลีนและอินดิเคเตอร์ (ซึ่งอาจจะใช้สาร Bromthymol blue หรือสารอื่น ๆ) การเปลี่ยนแปลงความเป็น กรด - ด่าง ที่เกิดขึ้นสามารถตรวจได้โดยการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษทดสอบที่ชุบสารเคมีไว้เทียบสัดส่วนกรดอะซิติกที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสได้ การอ่านและแปลผลการตรวจใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานที่จำลองสีที่เกิดจากสารละลาย กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ทำปฏิกิริยากับอินดิเคเตอร์

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 กระดาษ Cholinesterase reactive paper ใช้สำหรับตรวจเทียบกับสีมาตรฐานที่จำลองสีที่เกิดจากสารละลายในการหาปริมาณเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในเลือดที่ตรวจทางเคมีคลินิกเท่านั้น

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

- 8.1 กระดาษโคลีนเอสเตอเรส
- 8.2 สำลีชุบแอลกอฮอล์สำหรับฆ่าเชื้อโรค

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 8
เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

8.3 เข็มเจาะเลือดหรือ Blood Lancet

8.4 Clotted blood หรือ Micro Hematocrit tube (Red)

8.5 Slide ขนาด 2.5x7.5 ซม.

8.6 ปากคีบ (Forceps)

8.7 Pipette Tip with Dropper Bulb

8.8 ภาชนะน้ำมัน

9.สารมาตรฐาน (Standard)

-

10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

10.1 ทำความสะอาดปลายนิ้วที่จะทำการเจาะเลือดด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์

10.2 เจาะเลือดด้วยอุปกรณ์เจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเลือดด้วยหลอดแก้วขนาดเล็ก (Capillary tube)

10.3 ตั้งหลอดเลือดดังกล่าวจนกระทั่งแยกชั้นน้ำเหลืองและเม็ดเลือดแดง หรือเอาไปปั่นแยกชั้นน้ำเหลืองกับเม็ดเลือดแดง

10.4 นำกระดาดทดสอบโคลีนเอสเตอเรสวางลงบนแผ่นสไลด์โดยใช้ปากคีบ

10.5 หยดน้ำเหลืองที่ได้จากข้อ 10.3 ลงบนกระดาดทดสอบ 1 หยด

10.6 นำสไลด์อีกแผ่นมาปิดทับ

10.7 ตั้งทิ้งไว้ 7 นาที

10.8 อ่านผลโดยการเปรียบเทียบกับสไลด์ที่เปลี่ยนแปลงกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

11.การคำนวณ (Calculation)

-

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

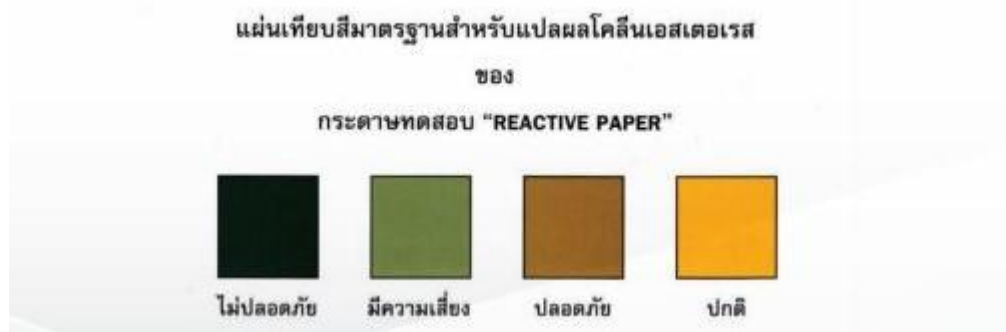
-

13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 7 ของ 8
เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

14. การรายงานผล (Report of analysis)



สีของกระดาษทดสอบ	ระดับความปลอดภัย	การแปลผล
สีเหลือง	ปกติ	ไม่มีแนวโน้มเกิดสารพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
สีเหลืองอมเขียว	ปลอดภัย	มีแนวโน้มเกิดสารพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในระดับต่ำ
สีเขียว	มีความเสี่ยง	มีแนวโน้มเกิดสารพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในระดับปานกลาง
สีเขียวเข้มถึงสีเขียวน้ำเงิน	ไม่ปลอดภัย	มีแนวโน้มเกิดสารพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในระดับสูง

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ Clotted blood หรือ Capillary blood

15.2 การรักษาคงสภาพของสิ่งส่งตรวจ ควรนำส่งห้องปฏิบัติการทันที หากไม่สามารถนำส่งหรือตรวจได้ทันทีสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิดังนี้

คงสภาพ	อุณหภูมิที่เก็บรักษา
คงตัวได้นานถึง 8 ชั่วโมง	18-25°C
คงตัวได้นานถึง 7 วัน	2-8°C
คงตัวได้นานถึง 6 เดือน	-70°C

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 8 ของ 8
เรื่อง : การตรวจวิเคราะห์ Cholinesterase	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-CH023	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

15.3 การอ่านผล สถานที่และสิ่งแวดล้อมในการทดสอบ สถานที่ควรทำงานได้สะดวกสิ่งแวดล้อมต้องคำนึงถึงอุณหภูมิของอากาศขณะทำการทดสอบ เพราะมีผลต่อปฏิกิริยาของน้ำเหลืองและสารเคมีที่เคลือบบนกระดาษทดสอบ อากาศร้อนปฏิกิริยาจะเกิดเร็วขึ้น การรอเวลาอ่านผลจึงต้องทำให้ถูกต้อง

อุณหภูมิ 25°C	รอเวลา 7 นาที	เทียบสีจากแผ่นเทียบสีมาตรฐาน
อุณหภูมิ 35°C	รอเวลา 6 นาที	เทียบสีจากแผ่นเทียบสีมาตรฐาน
อุณหภูมิ 40°C	รอเวลา 5 นาที	เทียบสีจากแผ่นเทียบสีมาตรฐาน
อุณหภูมิ 45°C	รอเวลา 4 นาที	เทียบสีจากแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

15.4 ข้อควรระวังและสิ่งรบกวน

15.4.1 เอนไซม์ที่เคลือบบนกระดาษทดสอบโคลินเอสเตอเรสความคงตัวค่อนข้างต่ำที่อุณหภูมิมากกว่า 25 องศาเซลเซียส เอนไซม์จะเสื่อมคุณภาพต้องเก็บแช่ในถังน้ำแข็งอุณหภูมิที่ทำปฏิกิริยากันจะไม่เกิน 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิปกติของร่างกาย ถ้านำไปใช้ในภาคสนามต้องเก็บแช่ในถังน้ำแข็งเสมอ

15.4.2 ไม่ควรใช้เข็มหรือใบมีดที่ไม่สามารถควบคุมความลึกของการเจาะได้

15.4.3 ไม่ควรใช้ที่เจาะเลือดแบบปากกาเพราะอาจเป็นพาหะติดเชื้อให้กับผู้ที่เจาะเลือดรายต่อไปได้

15.4.4 ไม่ควรบิหรือเคঁ้นให้เลือดออกเพราะอาจทำให้เม็ดเลือดแดงแตกหรือทำให้ของเหลวจากเนื้อเยื่อไหลปนเข้ามา

15.4.5 หลีกเลี้ยงสถานที่ตรวจที่มีอุณหภูมิสูงเกินไปขณะทำการตรวจ ปกติไม่ควรเกิน 40 องศาเซลเซียส