

วิธีปฏิบัติ (Work instruction)

ชื่อเอกสารการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย..โดยชุดตรวจ..Gebiokit..DCIP..reagent..test.....

รหัสเอกสารWI-LAB-H012.....

ผู้จัดทำ.....  (.....นายภุชเวท.....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.....
ลำเนาฉบับที่.....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 6
	เรื่อง : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยชุด ตรวจ Gebiokit DCIP reagent test	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H012	แก้ไขครั้งที่ : 02
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

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 3 ของ 6
เรื่อง : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยชุดตรวจ Gebiokit DCIP reagent test	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H012	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

1.ความมุ่งหมาย (Purpose)

เพื่อใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยชุดตรวจ Gebiokit DCIP reagent test ให้ปฏิบัติงานให้มีคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ได้อย่างถูกต้อง

2.การนำไปใช้ (Application)

ใช้สำหรับตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียได้แก่ Hemoglobin E

3.เอกสารอ้างอิง (Reference)

3.1 เอกสารใบแนบน้ำยา Gebiokit DCIP reagent test บริษัท จี.เอ็ม.ไบโออินโนเวชั่น จำกัด

3.2 รวิวรรณ ไชยเสน, สุพัตรา ศิริโชติยะกุล, ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี, ชเนนทร์ วนาภิรักษ์ และธีระพร วุฒยวนิช.(2545). ความไวและความจำเพาะของ DCIP ในการตรวจคัดกรองพาหะ HbE ในสตรีตั้งครรภ์.ภาควิชาสูติศาสตร์และนรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สืบค้นจาก https://w1.med.cmu.ac.th/obgyn/files/2021/11/Rawiwan_Chaisen-1.pdf

4.นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

Hemoglobin E : หมายถึง ฮีโมโกลบินที่สายเบต้าโกลบินมีโครงสร้างผิดปกติไป (hemoglobinopathies) โดยมีจุดมิวเตชันของยีนบนตำแหน่งโคดอน (codon) ที่ 26 ของสายเบต้าคือ โคดอน GAG กลายเป็น AAG ทำให้กรดอะมิโนในตำแหน่งที่ 26 เปลี่ยนจาก glutamine เป็น lysine

พาหะ HbE หมายถึง ผู้ที่มีมิวเตชันชนิด HbE gene อยู่บนแอลลีลข้างหนึ่งของเบต่ายีน (บนโครโมโซมคู่ที่ 11) แต่อีกแอลลีลหนึ่งปกติ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะมีปริมาณ HbE ประมาณร้อยละ 20-35 ของฮีโมโกลบิน ทั้งหมด ผู้เป็นพาหะจะมีสุขภาพปกติเหมือนคนทั่วไป แต่สามารถถ่ายทอดยีนผิดปกติไปให้ลูกได้

Homozygous HbE หมายถึง ผู้ที่มีมิวเตชันชนิด HbE gene อยู่บนแอลลีลทั้งสองข้างของเบต่ายีน (บนโครโมโซมคู่ที่ 11) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะพบ HbE ประมาณร้อยละ 80-90 ของฮีโมโกลบินทั้งหมด มักจะไม่มีอาการโลหิตจาง หรืออาจจะมียี่เพียงเล็กน้อย

โรค β -thalassemia/HbE หมายถึงโรคธาลัสซีเมียที่มีความผิดปกติของเบต้าโกลบินร่วมกับความผิดปกติทางด้านโครงสร้างของฮีโมโกลบินชนิด HbE เกิดจากแอลลีลข้างหนึ่งของเบต่ายีนเป็นมิวเตชันชนิด β thalassemia และอีกข้างมิวเตชันชนิด HbE gene ความรุนแรงของโรคนี้มีความแปรปรวนได้มาก บางคนอาจมีความรุนแรงเหมือน β -thalassemia major บางคนมีภาวะโลหิตจางไม่มาก ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 4 ของ 6
เรื่อง : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยชุดตรวจ Gebiokit DCIP reagent test	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H012	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

ซีดปานกลาง และอาจไม่เจริญเติบโตตามปกติ อายุขัยโดยเฉลี่ยประมาณ 30 ปีจะมีภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญคือ ภาวะเหล็กเกินทำให้ผิวหนังดำคล้ำเป็นโรคเบาหวาน ตับแข็ง หรือหัวใจล้มเหลว

Hemoglobin E ค่าย่อ HbE

Dichloro phenol-indol phenol precipitation test ค่าย่อ DCIP

5.หลักการ (Principle)

Hemoglobin E เมื่อทำปฏิกิริยากับ DCIP reagent จะถูกออกซิไดซ์ได้เป็นโกลบินสายเดี่ยวที่มีหมู่ sulfhydryl (-SH) เกิดเป็นตะกอนแขวนลอยในสารละลายสีน้ำเงินของ DCIP และน้ำยา DCIP จะถูกรีดิวซ์ด้วยน้ำยา E Stable clearing solution ทำให้สีเงินจางหายไป เห็นเป็นสารละลายสีส้มแดง ทำให้มองเห็นตะกอนละเอียดได้ง่ายขึ้น ต่างจากเลือดคนที่ไม่มี hemoglobin E ที่ผลการทดสอบจะใสไม่มีตะกอน มองเห็นความแตกต่างกันอย่างชัดเจน

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 และหน้ากากอนามัย ป้องกันการปนเปื้อนขณะ

ปฏิบัติงาน

7.3 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจยังมีความสามารถในการก่อโรค ดังนั้น จึงควรจัดการทิ้งลงในถังขยะติดเชื้อ

8.เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

8.1 ชุดตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดย Gebiokit DCIP reagent test

8.2 นาฬิกาจับเวลา

8.3 Auto pipette (20 µl)

8.4 แผ่นการอ่านผลการตรวจสอบด้วยตาเปล่า

8.5 Dry bath incubator

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 5 ของ 6
เรื่อง : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยชุดตรวจ Gebiokit DCIP reagent test	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H012	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

9.มาตรฐาน (Standard)

-

10.วิธีดำเนินการ (Procedure)

10.1 นำชุดน้ำยาที่ต้องการทดสอบออกจากตู้เย็น ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที หรือจนอุณหภูมิ น้ำยาเป็นอุณหภูมิห้อง

10.2 เติม EDTA Blood ปริมาตร 20 µl ลงในหลอดน้ำยา Gebiokit DCIP reagent test

10.3 ผสมโดยกลับหลอดทดลองไปมา แล้วอุ่นในอ่าง dry bath หรือ water bath incubator อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที

10.4 เมื่อครบเวลาให้นำหลอดทดลองออกจากอ่าง dry bath หรือ water bath incubator แล้วหยด E stable clearing solution ลงในหลอดทันที หลอดละ 1 หยด

10.5 ผสมโดยการกลับหลอดทดลองไปมา แล้วอ่านผล

11.การคำนวณ (Calculation)

-

12.การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

การควบคุมคุณภาพภายใน

- ทำการทดสอบ Control เมื่อมีตัวอย่างที่ให้ผลการทดสอบ DCIP Positive และ ได้รับการยืนยันโดยการตรวจ Hb typing

การควบคุมคุณภาพภายนอก

- ได้เข้าร่วมกับศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก แผนการทดสอบความ
ชำนาญทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาคลินิก ปีละ 2 ครั้ง
- ได้เข้าร่วมกับคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีละ 2 ครั้ง

13.การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and documentation)

บันทึกลงในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ โดยระบบจะเชื่อมต่อเข้าสู่ระบบ HIS อัตโนมัติ

วิธีปฏิบัติงาน: วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	ชื่อหน่วยงาน : กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวังเจ้า	หน้า 6 ของ 6
เรื่อง : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยชุดตรวจ Gebiokit DCIP reagent test	เอกสารเลขที่ : WI-LAB-H012	แก้ไขครั้งที่ : 02
วันที่บังคับใช้ : 6 มกราคม 2569		

14. การรายงานผล (Report of analysis)

Negative : สารละลายในหลอดมีลักษณะใสไม่มีตะกอน

Positive : สารละลายในหลอดมีตะกอนละเอียดแขวนลอย มองเห็นความขุ่น

15.รายละเอียดอื่น (Supplementary note)

15.1 สิ่งส่งตรวจ EDTA Blood

15.2 การรักษาคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ นำส่งตรวจภายใน 2 ชั่วโมง หลังจากเจาะเลือด หากไม่สามารถตรวจได้ทันทีให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C เก็บได้นาน 7 วัน

15.3 ข้อควรระวัง

15.3.1 การทดสอบนี้จะให้ผล strong positive กับผู้ที่เป็น homozygous HbE, และให้ผล positive กับผู้ป่วย HbE trait และผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มี HbE ทุกชนิด โดยความขุ่นจะสัมพันธ์กับปริมาณ HbE ในเลือดผู้ป่วย และจะให้ผล negative กับคนปกติ และในผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่มี HbE

15.3.2 กรณีผู้ป่วยมีภาวะซีด ที่มีค่า Hb น้อยกว่า 7 g% ควรทำเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น หรือเพิ่มเลือดเป็นสองเท่าในการทดสอบเพื่อให้การอ่านผลง่ายขึ้น

15.3.3 ผลบวกเท็จเกิดได้จากเลือดผู้ป่วยมี HbH, HbBarts ปริมาณสูง รวมทั้งการ Incubate เกินเวลา 15 นาที หรืออุณหภูมิที่ Incubate ที่สูงเกิน 37 °C มาก