



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ DIRECT BILIRUBIN

WI-LAB-017

แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะระมย์)

ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ


พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา				
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin				
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017			หน้า 1 จาก 16 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 2			วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Direct Bilirubin ในตัวอย่าง serum, plasma ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Bilirubin Direct Gen.2 (BILD2; Cat. No 05589061 190.)
- 1.2 เพื่อใช้ในการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยโรคตับ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตก และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางด้านกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย รวมถึงผู้ป่วยที่ตับอักเสบและเป็นโรคเกี่ยวกับกระเพาะปัสสาวะ

2. หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ(principle and method of procedure used for examinations)

2.1 หลักการ (Principle)

Conjugated Bilirubin ในตัวอย่าง ทำปฏิกิริยากับ 3,5 DPD ใน acid Buffer เกิดเป็นอะโซบิลิรูบินซึ่งมีสีแดง



วัดการดูดกลืนแสงของสีแดงที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ Conjugated bilirubin ในตัวอย่าง

2.2 วิธีการ(method) :ใช้วิธี Colorimetric diazo method

Traceability: This method has been standardized against the manual test performance using the Doumas method.

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)


คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบ Total bilirubin ต่อไปนี้อ้างอิงจากใบแทรกน้ำยา Bilirubin Direct Gen.2 (PI-LAB-017) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

- 3.1 ความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตาม internal protocol ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Bilirubin Gen.2 (BILD2) โดยใช้วิธีการตรวจวัดค่า Direct bilirubin ซ้ำแบบ within-day/within-run (repeatability) และ between-day run (intermediate precision) ได้ผลดังนี้

3.1.1 ตัวอย่าง Serum/Plasma

- a) Repeatability, n = 21 (ตรวจวิเคราะห์ซ้ำ 21 ครั้งในรอบการทดสอบเดียวกัน)

Serum/plasma (n=21)	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	µmol/L	mg/dL	µmol/L	mg/dL			
Control level 1	12.0	0.7	0.2	0.01	1.7	≤11.125	PASS
Control level 2	31.4	1.8	0.2	0.01	0.5	≤11.125	PASS
Human serum A	1.5	0.09	0.1	0.01	4.4	≤11.125	PASS
Human serum B	145	8.5	0.7	0.04	0.5	≤11.125	PASS
Human serum C	211	12.3	0.8	0.05	0.4	≤11.125	PASS

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 2 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

b) Intermediate precision, วิเคราะห์ 2 aliquots ต่อ run, 2 run ต่อวัน, ทำติดต่อกัน 21 วัน

Serum/plasma	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	μmol/L	mg/dL	μmol/L	mg/dL			
Control level 1	12.0	0.7	0.3	0.02	2.6	≤14.83	PASS
Control level 2	31.4	1.8	0.4	0.02	1.4	≤14.83	PASS
Human serum A	1.5	0.09	0.2	0.01	1.0	≤14.83	PASS
Human serum B	145	8.5	2.1	0.12	1.5	≤14.83	PASS
Human serum C	211	12.3	3.2	0.19	1.5	≤14.83	PASS

3.2 เปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

วิเคราะห์ Total Bilirubin โดยใช้ตัวอย่างจากมนุษย์ทั้ง Serum, Plasma, ด้วยเครื่อง cobas c 501 (y) โดยใช้น้ำยา Bilirubin Direct Gen.2 (BILD2) เทียบกับเครื่อง COBAS INTEGRA 800 (x) ได้ผลดังนี้

a) ตัวอย่าง Serum/plasma

Sample size (n) = 75

Passing/Bablok

$$y = 0.995x + 0.339 \mu\text{mol/L}$$

$$T = 0.962$$

Linear regression

$$y = 0.993x - 0.158 \mu\text{mol/L}$$

$$r = 0.999$$

The sample concentrations were between 2.2 and 200 μmol/L (0.13 and 11.7 mg/dL).

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Serum

4.2 Plasma ที่ใช้ Li-heparin, K₂-EDTA หรือ K₃ - EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง

4.3 การตรวจ Direct bilirubin แต่ละครั้ง เครื่อง cobas c 501 จะใช้ Normal sample volume 6.7 ไมโครลิตร

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)


ไม่มี

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Direct Bilirubin ได้แก่

6.1.1 Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL

6.1.2 EDTA Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Direct Bilirubin แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.3

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 3 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566


6.1.3 Clot activator Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีแดง) ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้เฉพาะกรณีที่ต้องตรวจ Direct bilirubin แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.2

6.2 ความคงตัวของระดับ Direct bilirubin ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

ชนิดตัวอย่าง	อุณหภูมิ	ความคงตัว
Serum/Plasma	15-25 °C	2 วัน
	4-8 °C	7 วัน
	-20 °C	6 เดือน

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและน้ำยาทดสอบ (required equipment and reagents)

- 7.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ : ใช้เครื่อง cobas c 501 ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่อง cobas e 601, Control unit และ Core unit เป็นระบบวิเคราะห์ที่เรียกชื่อว่า cobas 6000 analyzer series ทุกส่วนเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Roche Diagnostic ประเทศเยอรมัน
- 7.2 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่นแยก
- 7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา Bilirubin Direct Gen.2 (BILD2; Cat. No 05589061 190.) เป็น cassette ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน (ready-to-use) ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 cassette ตรวจได้ 350 Tests เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C วางให้ตั้งตรง จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานบนเครื่อง cobas c 501 แล้วจะมีอายุการใช้งาน 6 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา BILD2 มีดังนี้
- R1 Phosphoric acid: 85 mmol/L; HEDTA: 4.0 mmol/L; NaCl:50 mmol/L; detergent;pH 1.9
- R2 3,5-Dichlorophenyl diazonium: 1.5 mmol/L; pH 1.3
- 7.4 สารปรับแต่งมาตรฐาน
- 7.4.1 Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)
- 7.4.2 Standard 2: Calibrator for automated system (C.f.a.s), Cat. No. 10759350 190 ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 3 mL
- 7.5 สารวัดควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ทันทีหลังจากทำ daily maintenance เครื่อง cobas c 501 แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน
- 7.6 Auto pipette, Volumetric pipette 3 mL, 5 mL และ Pipette tip สำหรับใช้เตรียมสารละลาย calibrator และ control ที่อยู่ในรูปแบบเป็นผงแห้ง(Lyophilize)
- 7.7 Distilled water สำหรับใช้ละลาย control/calibrator

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 4 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566


- 7.8 Diluent NaCl 9 % (50 mL) สำหรับใช้เจือจางตัวอย่างอัตโนมัติกรณีตัวอย่างตรวจมีค่าสูงเกิน น้ำยา Diluent NaCl 9% เมื่อยังไม่เปิดใช้งานควรเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานแล้วจะมีอายุ 12 สัปดาห์
- 7.9 ภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากหลอดเก็บตัวอย่างเริ่มต้น ได้แก่ Sample cup (Hitachi cup) Cat No. 10394246001, Plastic plain tube, Hitachi micro cup
- 7.10 Rack มี 8 ชนิด
- 7.10.1 Rack สีดำ สำหรับวาง calibrator
 - 7.10.2 Rack สีขาว สำหรับวาง control
 - 7.10.3 Rack สีเทา สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Routine
 - 7.10.4 Rack สีแดง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น STAT
 - 7.10.5 Rack สีเหลือง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Urine
 - 7.10.6 Rack สีน้ำเงิน สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น CSF
 - 7.10.7 Rack สีน้ำตาล สำหรับวางตัวอย่างอื่นๆ
 - 7.10.8 Rack สีเขียว ใช้เพื่อบำรุงรักษาเครื่อง

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

- 8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ
- 8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวส่วนประกอบของน้ำยา ไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง
- 8.3 Cassette น้ำยาที่ใช้หมดแล้วให้ทิ้งในถังขยะเคมี

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ(calibration procedures)

- 9.1 ข้อกำหนดในการสอบเทียบ
- 9.1.1 ทำการสอบเทียบแบบ 2-point calibration กับน้ำยา BILD2 ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ
- เปิดใช้งานน้ำยา BILD2 ครั้งแรก
 - น้ำยา BILD2 เปลี่ยนรุ่นการผลิต(Lot) ใหม่
 - มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไข ปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่ (re-calibration)
- 9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารปรับแต่งมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารปรับแต่งมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบประกอบด้วย
- Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)
 - Standard 2: Calibrator for automated system (C.f.a.s)
- 9.2 วิธีการสอบเทียบ
- 9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ C.f.a.s ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับ Lot ที่

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 5 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

เคย download ข้อมูลการกำหนดค่าความเข้มข้นของ Direct bilirubin เก็บไว้ในเครื่อง cobas c 501 ถ้าหาก Lot ที่จะใช้งานไม่ตรงกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ให้ download ข้อมูล C.f.a.s Lot ใหม่ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby โดยปฏิบัติตามหัวข้อ “การตรวจสอบ lot และการ download calibrator” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

- 9.2.2 นำขวดที่บรรจุผง C.f.a.s มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10-20 นาที แล้วละลายด้วยน้ำกลั่น 3 mL โดยใช้ Volumetric pipette ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันโดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้อง หรือแบ่งเก็บที่อุณหภูมิ (-25°C) – (-20°C) ใน Hitachi cup 300-500 ไมโครลิตร /cup กรณีมีการนำ C.f.a.s. ที่เก็บแช่แข็งไว้มาใช้งาน ให้นำออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10-20 นาที หรือจนกว่าจะหายเย็น แล้วจึงผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์
- 9.2.3 บรรจุน้ำกลั่นประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample cup(Hitachi cup) แล้วใส่ลงไปในช่องที่ติดฉลากว่า “H₂O” ของ Rack สีดำ
- 9.2.4 บรรจุ C.f.a.s ที่ละลายจนพร้อมใช้งานแล้วประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample Cup (Hitachi cup) ใส่ลงไปใน Rack สีดำอันเดียวกันกับในข้อ 9.2.3 แล้วทำการ calibrate น้ำยา โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ calibration” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator s manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

10. ขั้นตอนของกระบวนการงาน (procedural steps)

10.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ น้ำยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์


10.1.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ

- ผู้ตรวจวิเคราะห์จะทำ Daily begin เครื่องตรวจวิเคราะห์เวลา 06.00 น. ทุกวัน
- ลงชื่อเข้า (Operator ID) และรหัสผ่าน (Password) เพื่อเข้าใช้งานระบบ (login)เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas 6000
- ตรวจสอบปริมาณน้ำยา Auxiliary ที่บรรจุในรูปแบบ cassette ได้แก่ NaOH-D cassette, SMS cassette, 9%NaCl cassette ที่เหลือในเครื่อง ถ้าปริมาณน้ำยาต่ำกว่าระดับที่กำหนดไว้ หน้าจอจะแสดงพื้นหลังรายการน้ำยานั้นเป็นสีม่วง ให้ใส่น้ำยา cassette ใหม่เข้าไปแทน
- ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ำยา Auxiliary อื่นๆ ได้แก่ NaOH-D, Cell Detergent 1, Acid Wash Solution, Cell Detergent 2 ถ้าปริมาณน้ำยาต่ำกว่าระดับที่กำหนดไว้ หน้าจอจะแสดงพื้นหลังรายการน้ำยานั้นเป็นสีม่วง ให้ใส่น้ำยาขวดใหม่เข้าไปแทน

10.1.2 วิธีการเตรียมน้ำยา (reagent preparation)

- นำ Cassette น้ำยา Bilirubin Direct Gen.2 (BILD2; Cat. No 05589061 190.) ออก

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 6 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

จากตู้เย็น แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัสแถบ barcode

- เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ํายา BILD2 ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้ น้ํายาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ํายา สารมาตรฐาน วัสดุ อ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
- นำ Cassette น้ํายา BILD2 ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ํายาเข้าไปในเครื่องขณะเครื่องอยู่ในสถานะ preparation เครื่องจะเจาะรูที่ผ่าน้ํายาและนำไปเก็บใน reagent disk พร้อมกับ register น้ํายาโดยอัตโนมัติ โปรแกรมของระบบเครื่องมือจะเริ่มนับอายุของน้ํายา ถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 6 สัปดาห์

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวน การทดสอบ
- เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจได้ Serum/Plasma แล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟอง หรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และควรมีส่วนของ Serum/Plasma อย่างน้อย 500 µL

10.2 ถ้ายังไม่มี การสอบเทียบน้ํายา BILD2 Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.


10.3 ถ้ายังไม่มี การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น ให้ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 11.

10.4 นำตัวอย่างผู้ป่วยเข้าเครื่อง cobas c 501 ผ่าน core unit ของเครื่อง cobas 6000 analyzer series โดยสามารถใช้ Primary tube ขนาด 13x75 mm. ที่มีตัวอย่างไม่น้อยกว่า 500 ไมโครลิตร(sample dead volume 500 µL) วางบน Rack สีเทา(กรณีไม่เร่งด่วน)หรือ Rack สีแดง(กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร_(sample dead volume 100 µL) ใส่ใน Sample cup (Hitachi cup) วางบน Rack

10.5 สั่งทำการตรวจวิเคราะห์และเรียกดูผลตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065) โดยเครื่อง cobas c 501 จะทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบอัตโนมัติ ตาม Test definition ที่กำหนดไว้ ดังนี้

Direct Bilirubin test definition

Assay type	:	2-Point End
Reaction time / Assay points	:	10 / 10-13
Wavelength (sub/main)	:	800/546 nm
Reaction direction	:	Increase
Units	:	µmol/L (mg/dL, mg/L)
Reagent pipetting		Diluent (H ₂ O)
R1	:	120 µL -
R2	:	24 µL -

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 7 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Sample volumes	Sample	Sample dilution	
		Sample	Diluent (NaCl)
Normal	: 6.7 μ L	-	-
Decreased	: 3.4 μ L	-	-
Increased	: 6.7 μ L	-	-

Calibration

Calibrators	S1: H ₂ O S2: C.f.a.s.
Calibration mode	Linear
Calibration frequency	2-point calibration - after reagent lot change - as required following quality control Procedures


10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น mg/dL ในกรณีที่มีค่าสูงเกิน 13.8 mg/dL ให้นำตัวอย่างออกมาจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องอีกครั้งเพื่อส่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะ dilute อัตโนมัติ 1:2 เมื่อตรวจเสร็จจะแสดงค่า Direct Bilirubin ที่คูณด้วย 2 ให้เรียบร้อย

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

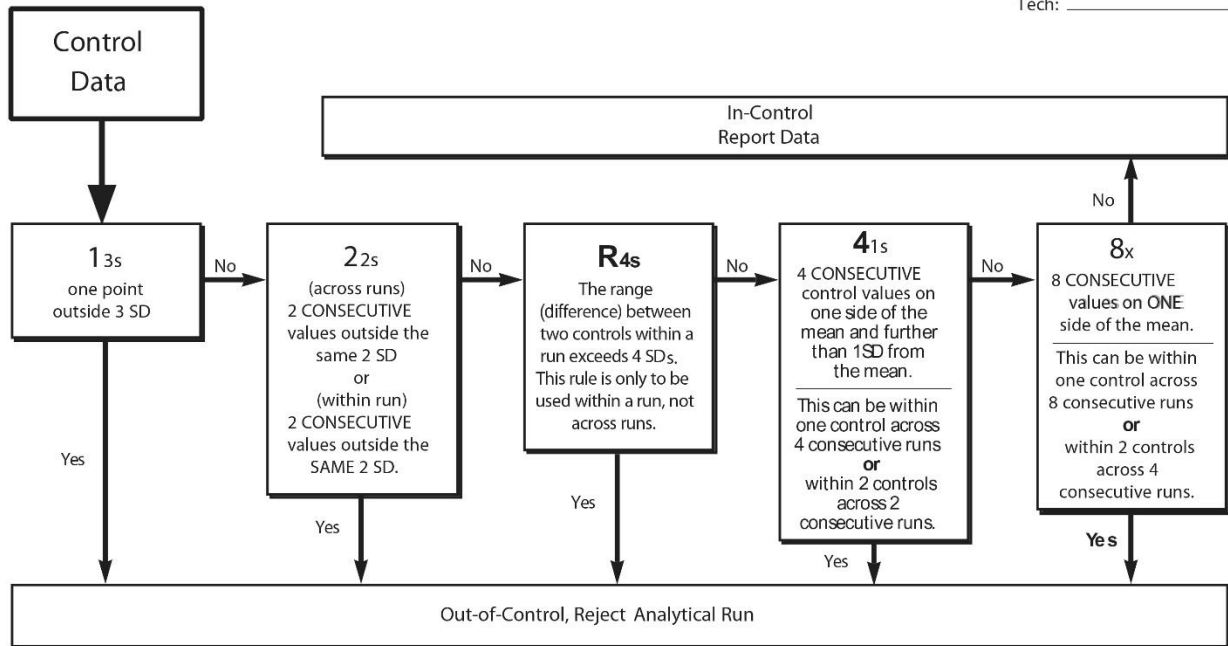
11.1.1 เกณฑ์การตัดสินผลการควบคุมคุณภาพภายใน ให้พิจารณาเลือกใช้กฎบางกฎที่แนะนำไว้ใน Modern “Westgard Rules” ได้แก่ 1-3S, 2-2S หรือ 2of3-2S, R-4S ร่วมกับเกณฑ์ between run $CV \leq 0.33TEa$ และ Peer group $SDI \leq 1$ โดยการติดตามตรวจสอบและประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจวิเคราะห์ Direct bilirubin ใน Quality control chart (Levey-Jennings chart) ที่สร้างขึ้นมาจากการหาค่า Mean, SD ของห้องปฏิบัติการ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 8 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Modern "Westgard Rules": N's of 2 and 4

Date: _____


Tech: _____



Problem: _____

Resolution: _____

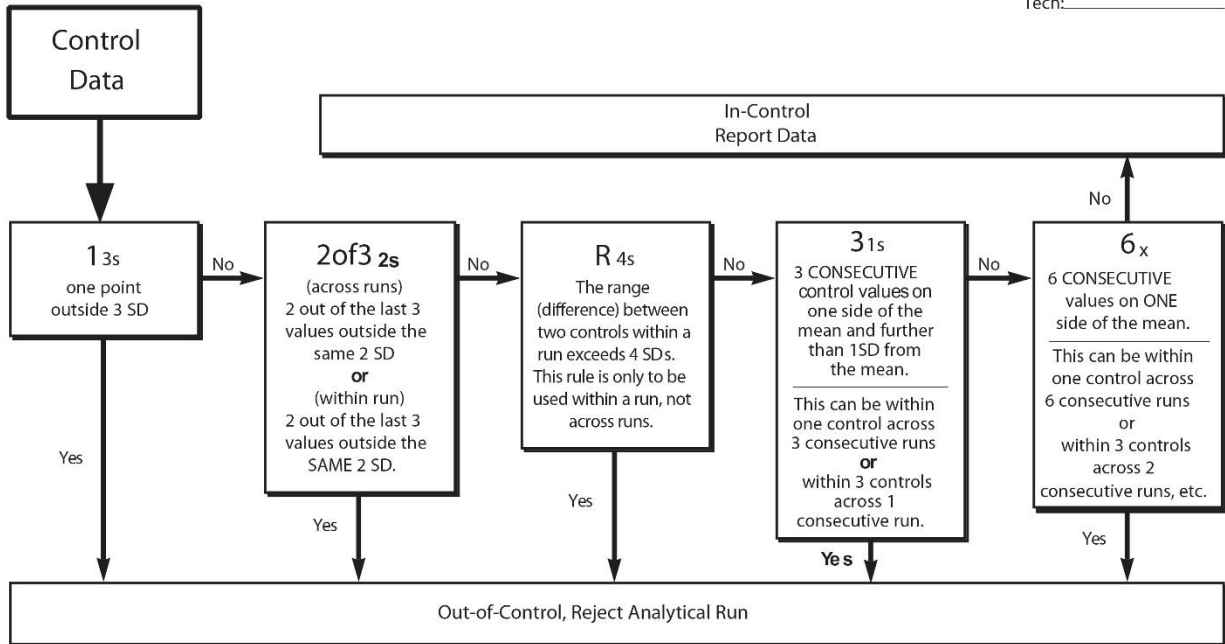
Find out more at <http://www.westgard.com>

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์เสนา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 9 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Modern "Westgard Rules": N's of 3 and 6

Date: _____

Tech: _____




Problem: _____

Resolution: _____

Find out more at <http://www.westgard.com>

- 11.1.2 PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 เป็นสารวัสดุควบคุมคุณภาพชนิดซีรัมแห้ง ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ Total bilirubin ทั้ง 2 ระดับทันทีหลังจากทำ Daily End maintenance เครื่อง cobas c 501 (ได้แก่ การทำ Clean probe and nozzles+Process green wash rack) แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน ความถี่วันละ 1 ครั้ง (N=2, R=1)
- 11.1.3 ใช้ค่า Allowable total error (TEa) ของการทดสอบ Total bilirubin ใน Serum/Plasma = $\pm 44.50\%$ (อ้างอิงจาก BV Desirable)
- 11.1.4 การติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV_{bd}) หรือ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 1/3TEa - Serum/Plasma: between-day run CV $\leq 14.83\%$
- 11.1.5 การละลายสารวัสดุควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ที่เป็นผงซีรัมแห้ง (Lyophilized serum) ก่อนละลายให้นำขวดบรรจุซีรัมแห้งนี้มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน 10-20 นาที จนมั่นใจว่าได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง และในเวลาเปิดฝาขวดให้เปิดด้วยความระมัดระวัง เพราะการบรรจุขวดใช้ระบบสุญญากาศ ถ้าเปิดทันทีจะทำให้ผงซีรัมแห้งที่อยู่ภายในขวดปลิวออกมาได้ ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นไม่ถูกต้อง ใช้ Volumetric pipette ดูดจ่ายตัวทำละลาย (น้ำกลั่น) 5 mL ลงไป เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 10 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

ละลายผงซีรัมแห้ง ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน โดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน จนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายเข้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้องหรือแช่แข็งที่อุณหภูมิน้อยกว่าเท่ากับ -20°C ถ้ามีการแช่แข็งในช่องแช่แข็ง (-25°C) – (-20°C) ใน Hitachi cup 300-500 ไมโครลิตร ก่อนนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ต้องนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10-20 นาที เพื่อให้ได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้องก่อน และให้ใช้แนวทางเดียวกันนี้ในการละลาย Calibrator


11.2 วิธีการควบคุมคุณภาพ

- 11.2.1 ตรวจสอบ Lot ของสารวัสดุควบคุมคุณภาพระหว่าง Lot ที่จะใช้งานกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ถ้า Lot ไม่ตรงกันให้ download ข้อมูลของสารวัสดุควบคุมคุณภาพให้ตรงกันกับ Lot ใหม่ ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby เท่านั้น
- 11.2.2 เตรียมสารวัสดุควบคุมคุณภาพ(control material) ให้พร้อมใช้ตามวิธีการที่ผู้ผลิตกำหนดไว้ในเอกสารแนบของสารวัสดุควบคุมคุณภาพที่ใช้งาน
- 11.2.3 บรรจุสารวัสดุควบคุมคุณภาพปริมาตร 300-500 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 μL) ลงใน Sample cup (Hitachi cup) แล้วนำไปวางใน Rack สีขาว ในตำแหน่งที่กำหนดไว้
- 11.2.4 สั่งให้เครื่องทำ control โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ Control” ในคู่มือปฏิบัติงาน Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)
- 11.2.5 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ Total bilirubin ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ (control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้

-การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ Direct bilirubin ในรูปแบบกราฟผ่าน control unit ของเครื่อง cobas 6000 ได้ 3 รูปแบบที่เมนู QC > run status (แสดงผล QC ของทุก test ในกราฟเดียวกัน แสดงค่าของแต่ละ test ว่าตกอยู่ในขอบเขต $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ หรือไม่), QC > individual(ใช้ตรวจสอบผล IQC โดยละเอียดเป็นราย test มีกราฟแบบ (Levey-Jennings chart) และ QC > cumulative (คล้ายหน้า individual เป็นข้อมูลในหน้า individual ซึ่งถูกเลือกเป็นตัวแทนมาเก็บไว้ที่หน้า cumulative)

- ติดตามตรวจสอบผล IQC ให้ละเอียดมากขึ้นใน Levey-Jennings chart สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Direct bilirubin โดยใช้โปรแกรม TIQCon (Total Integrated Quality Control for clinical laboratory)ผลิตภัณฑ์ Roche ช่วยประมวลผล รวมถึงการเปรียบเทียบผลกับ Peer group และ ตรวจสอบผล IQC แบบอัตโนมัติตาม control rule ที่กำหนดไว้

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 11 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

11.2.6 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Direct bilirubin มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งงดผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่นำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025) เมื่อทำการแก้ไขสาเหตุของความคลาดเคลื่อนแล้ว จึงจะตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยซ้ำ รวมทั้งย้อนกลับไปพิจารณารายงานผลวิเคราะห์ที่ออกผลไปแล้วนับตั้งแต่การทำควบคุมคุณภาพภายในรอบก่อนหน้า

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดและเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ ดังนี้

- 12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม EQAS Clinical Chemistry (Monthly) Program เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ Direct bilirubin ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย BIO-RAD Laboratories มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในห้วงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี
- 12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า Direct bilirubin ร่วมกันกับรายการทดสอบอื่นๆ ในตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS โดยการตรวจพร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง EQAS ของแต่ละเดือน
- 12.3 บันทึกส่งรายงานผล online เข้าประเมิน (submit results) ดูผลหรือพิมพ์ผลการประเมิน (view or print EQAS reports) ทาง www.QCNet.com
- 12.4 เมื่อโปรแกรม EQAS ประเมินผลเสร็จแล้ว ให้ Download รายงานผลมาเก็บไว้ใช้ทบทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ
- 12.5 ตรวจสอบผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ สำหรับตัวอย่าง Serum/Plasma โดยใช้เกณฑ์และเป้าหมายดังนี้
 - เกณฑ์ Absolute Z-score < 3.0, เป้าหมาย < 1.5
 - เกณฑ์ TE < TEa, เป้าหมาย TE < 22.25%,
เมื่อ TEa = $\pm 44.50\%$ (BV Desirable), $\%TE = \%Bias + 1.65\%CV$
 - Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 20.0305%
- 12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน EQAS การตรวจ Direct bilirubin ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 12 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

13. สิ่งรบกวน (interferences)

13.1 ซีรัม/พลาสมา ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ

Criterion: Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value at a direct bilirubin concentration of $34.2 \mu\text{mol/L}$ (2.0 mg/dL).

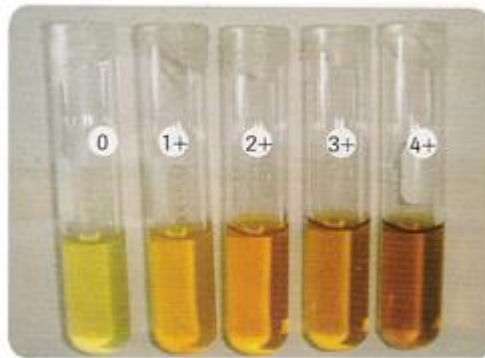
ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา		ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Hemolysis	H index ≤ 25	hemoglobin $\leq 25 \text{ mg/dL}$	1+
Lipemic (Intralipid)	L index ≤ 750	L index หรือความขุ่น ไม่สัมพันธ์กับ ปริมาณ Triglyceride	4+

- Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels

Exception: Phenylbutazone causes artificially low bilirubin results.

- Samples containing indocyanine green must not be measured.

- In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.



ซีรัมเหลือง (Icteric serum)

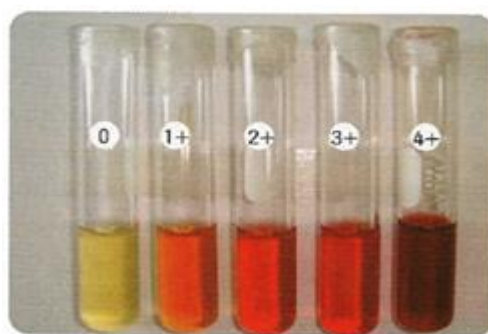
Bilirubin concentration

1+ = $2.5 \text{ mg/L} = 0.25 \text{ mg/dL}$

2+ = $5.0 \text{ mg/L} = 0.50 \text{ mg/dL}$

3+ = $10.0 \text{ mg/L} = 1.00 \text{ mg/dL}$

4+ = $20.0 \text{ mg/L} = 2.00 \text{ mg/dL}$



ซีรัมที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolysed serum)


Hemoglobin concentration

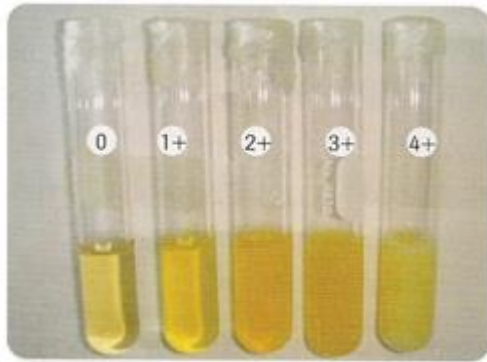
1+ = $0.9 \text{ g/L} = 90 \text{ mg/dL}$

2+ = $1.8 \text{ g/L} = 180 \text{ mg/dL}$

3+ = $3.5 \text{ g/L} = 350 \text{ mg/dL}$

4+ = $6.7 \text{ g/L} = 670 \text{ mg/dL}$

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 13 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566



ซีรัมขุ่นมีไขมัน (Turbid serum)

Absorbance 660 นาโนเมตร

1+ = 0.4

2+ = 0.8

3+ = 1.0

4+ = 1.2

14. หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งค่าความไม่แน่นอนของการวัดของการทดสอบเชิงปริมาณ (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)

14.1 เครื่อง cobas c 501 จะคำนวณค่าความเข้มข้นของ Direct bilirubin ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor $\mu\text{mol/L} \times 0.0585 = \text{mg/dL}$
 $\text{mg/dL} \times 10 = \text{mg/L}$
 $\text{mg/dL} \times 17.1 = \mu\text{mol/L}$

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด Direct bilirubin ให้ปฏิบัติตาม “หัวข้อ 4.4 การตรวจสอบความไม่แน่นอนของการวัดจากค่าเชิงปริมาณ ในเรื่องระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)” ลงบันทึกไว้ใน “ตารางการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดในการทดสอบเชิงปริมาณวิเคราะห์ (FM-LAB-281)”

15. ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก(biological reference intervals or clinical decision values)

ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพ (biological reference intervals) : 0.0 – 0.2 mg/dL


16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้(reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range คือ 0.08 – 13.8 mg/dL

17. คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด

(instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)

ถ้าผลการทดสอบ Direct bilirubin > 13.8 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะแจ้งจางสิ่งส่งตรวจในอัตราส่วน 1:2 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคูณ dilution factor = 2 ให้โดยอัตโนมัติ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 14 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือนที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 ค่า Direct bilirubin ที่ต่ำกว่าปกติ

ค่า Direct bilirubin ที่ต่ำกว่าปกติ อาจแสดงผลได้ว่า มีการจับทั้ง Direct bilirubin โดยตับและไตได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ในความเป็นจริงแล้วยากที่จะเป็นเช่นนั้นได้ ดังนั้นตัวเลขที่มีค่าน้อยกว่าปกติหรือค่อนข้างใกล้มาทาง 0 mg/dL จึงไม่มีนัยสำคัญแต่อย่างใด

19.2 ค่า Direct bilirubin ที่สูงกว่าปกติ

ค่า Direct bilirubin ที่สูงกว่าปกติ อาจแสดงผลได้ว่า

19.2.1 อาจเกิดจากท่อน้ำดีภายนอกตับถูกปิดกั้นการไหลผ่านของน้ำดี เช่น อาจเกิดจากนิ่วในท่อน้ำดี นิ่วในถุงน้ำดีที่ไปปิดช่องทางท่อน้ำดี เนื่องจากที่ตับอ่อน จึงเป็นผลทำให้ Direct bilirubin ไหลผ่านออกไปเป็นน้ำดีไม่ได้และคั่งค้างท่วมท้นจากตับเข้าสู่กระแสเลือด


19.2.2 อาจเกิดการอุดตันของท่อน้ำดีภายในตับเอง น้ำดีจึงไม่สามารถไหลผ่านออกจากตับมาสู่ถุงน้ำดีได้ เป็นผลทำให้ Direct bilirubin ไม่ถูกนำไปใช้ผลิตเป็นกรดน้ำดี จึงทำให้ล้นออกสู่กระแสเลือดอย่างมาผิดปกติ โดยการอุดตันของท่อน้ำดีภายในตับนั้นอาจเกิดจากโรคตับ (อาจเกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์), ตับกำลังเสียหายจากแบคทีเรียบางชนิด, ตับแข็งระยะเริ่มต้นจากบริเวณท่อน้ำดี, ตับอักเสบจากเชื้อไวรัส, เกิดอาการบวมอักเสบหรือมีการติดเชื้อเกิดขึ้นที่ท่อน้ำดีในชั้นต้น, เกิดจากโลหิตในร่างกายนี้อาจเกิดการติดเชื้อ, ร่างกายได้รับสารอาหารด้วยวิธีการให้ผ่านสายน้ำเกลือมานานเกินไป, การตั้งครรภ์ เป็นต้น

19.2.3 อาจเกิดโรคสำคัญขึ้นภายในตับเอง เช่น โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคมะเร็งตับ อาการฟกช้ำหรือได้รับการผ่าตัด ฯลฯ จึงทำให้ตับหมดสมรรถภาพที่จะนำ Direct bilirubin ไปผลิตเป็นกรดน้ำดีได้ จึงส่งผลทำให้ Direct bilirubin ล้นออกจากตับเข้าสู่กระแสเลือดมาผิดปกติ

19.2.4 อาจเกิดจากโรคทางพันธุกรรมชนิดหนึ่งที่มีชื่อเรียกว่า “Dubin-Jhonson syndrome” ที่ทำให้ตับปล่อย Direct bilirubin ออกมาทางท่อน้ำดีได้น้อยกว่าปกติ จึงทำให้ตรวจ Direct bilirubin ในเลือดสูงผิดปกติ (โรคนี้พบเกิดได้น้อยและมักพบความผิดปกติเมื่อพ้นจากวัยรุ่นขึ้นมาแล้ว) หรืออาจเกิดจากโรคทางพันธุกรรมอีกโรค คือ “Rotor syndrome”

19.2.5 อาจเกิดจากยาบางชนิดที่ทำให้เกิดอาการตัวเหลืองตาเหลือง เช่น ยาอนาบอลิกสเตียรอยด์ (Anabolic steroids), คลอร์โพรมาซีน (Chlorpromazine), อิริโทรมัยซิน (Erythromycin), ไอโซไนอาซิด (Isoniazid)

19.2.6 สาเหตุอื่น ๆ ที่อาจพบได้ เช่น โรคเฮตส์, โรควิลสัน (Wilson's disease), โลหิตเป็นพิษ (Sepsis), ความดันโลหิตต่ำ (Shock), ภาวะเหล็กเกาะที่ตับ (Hemochromatosis), การติดเชื้อต่าง ๆ (เช่น เชื้อพยาธิ เชื้อ CMV ท่อน้ำดีอักเสบ ถุงน้ำดีอักเสบ) ฯลฯ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 15 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)

- เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน BILD2 cassette อันใหม่
- มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ
- เก็บรักษา BILD2 cassette โดยไม่ตั้งให้ตรง อาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 วัสดุสอบเทียบ (Calibrator)


- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด (การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายให้ได้อุณหภูมิห้อง (freeze-thaw) ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก (ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator
- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นาน หรือน้ำ Calibrator ที่เหลือซึ่งผ่านการใช้แล้วมาใช้สอบเทียบซ้ำอีก
- เปลี่ยน lot ใหม่
- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน (ควรเปลี่ยนทุกๆ 1 เดือน)
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- Probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration
- Measurement syringe รั่ว/เสื่อม
- หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ หรือเปลี่ยนอะไหล่ใหม่ เช่น source Lamp, reagent probe, sample probe แล้วไม่ได้ calibration ใหม่
- ทำ maintenance check หรือทำ preventive maintenance เลยวงรอบหรือไม่ทำตามเงื่อนไขคำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด

20.4 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (Sample)

- ตัวอย่างมีการ clot ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องวิเคราะห์
- ตัวอย่างมีการระเหยเนื่องจากตั้งทิ้งไว้นานเกินไปก่อนถูก sample probe ดูดไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ sample cup/small sample cup
- ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เมื่อดเครื่องตีและอาหารก่อนเจาะเลือด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Direct Bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-017	หน้า 16 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

21. เอกสารอ้างอิง(references)

- 21.1 ใบแทรกนํ้ายา Bilirubin Direct Gen.2 (BILD2) (PI-LAB-017)
- 21.2 คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)
- 21.3 ใบแทรกสารเทียบ Calibrator f.a.s. (PI-LAB-110)
- 21.4 ใบแทรกสารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed and Unassayed Multiquel® (PI-LAB-149)
- 21.5 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.6 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร.....WI-LAB-017 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Direct bilirubin

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายสิปปนนท์ฯ
1 พ.ย. 63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	นายสิปปนนท์ฯ
1 ก.ย. 64	1	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์
1 ก.ย. 65	2	แก้ไขข้อ 7.5 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ ยกเลิกหัวข้อ 7.5.1 แก้ไขข้อ 11 ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ ยกเลิกข้อ 11.1.2, 11.1.7 และ 11.2.5.2 แก้ไขข้อ 21 เอกสารอ้างอิง ยกเลิกข้อ 21.4	นายสิปปนนท์
1 ก.พ. 66	2	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ DIRECT BILIRUBIN

WI-LAB-017

แก้ไขครั้งที่.....

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรัมย์)
ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก
...../...../.....

ผู้ทบทวน

ร.ท.หญิง
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการคุณภาพ
...../...../.....

ผู้อนุมัติ

พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)