



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ GLUCOSE

WI-LAB-001

แก้ไขครั้งที่ 3

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 Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 1 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Glucose ในตัวอย่าง serum, plasma, cerebrospinal fluid, Urine ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Glucose HK (GLUC3; Cat. No. 04404483 190)
- 1.2 เพื่อตรวจหาระดับ glucose ในรายการทดสอบต่างๆ ได้แก่
 - 1.2.1 ตรวจหาระดับ Glucose ในพลาสมาขณะอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (Fasting plasma glucose, FPG)
 - 1.2.2 ตรวจหาระดับ Glucose ในพลาสมาเมื่อเวลาใดก็ได้ (random plasma glucose, R-PG)
 - 1.2.3 การทดสอบความทนต่อ Glucose ในผู้ใหญ่และเด็ก (Oral glucose tolerance test, OGTT)
 - 1.2.4 การทดสอบความทนต่อ Glucose ในสตรีตั้งครรภ์ (Glucose challenge test, GCT)
 - 1.2.5 ตรวจหาระดับ Glucose ในน้ำไขสันหลัง (CSF glucose)
- 1.3 ตรวจหาระดับ Glucose ในเลือด เพื่อใช้วินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของ carbohydrate metabolism ได้แก่ ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia เช่น โรคเบาหวาน) และภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia เช่น neonatal hypoglycemia, insulinoma)
- 1.4 ตรวจหาระดับ Glucose ในน้ำไขสันหลัง (CSF) เพื่อช่วยวินิจฉัยแยกโรคและประเมินโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคเนื้องอกที่เยื่อหุ้มสมอง และโรคอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท

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

2.1 หลักการ (Principle) : น้ำยา Glucose HK (GLUC3) ใช้หลักการ UV test, Enzymatic reference method with hexokinase

Glucose ในตัวอย่างจะเกิดปฏิกิริยา phosphorylation โดย Hexokinase และ ATP ได้ G-6-P ซึ่งจะถูก Oxidized โดย G-6-PDH และในสภาวะที่มี NADP⁺ ได้เป็น G-6-P และ NADPH อัตราการเกิดของ NADPH เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ Glucose ในตัวอย่าง ซึ่งถูกวัดด้วยการดูดกลืนแสง




2.2 วิธีการ (method) : ใช้วิธี Hexokinase

Traceability: This method has been standardized against ID/MS.

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบ Glucose ต่อไปนี้อ้างอิงจากใบแทรกน้ำยา Glucose HK (PI-LAB-001) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 2 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

3.1 ความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตาม internal protocol ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำตาล Glucose HK(GLUC3) โดยใช้วิธีการตรวจวัดค่า Glucose 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
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL			
Precinorm U	5.49	98.9	0.05	0.9	1.0	≤2.00	PASS
Precipath U	13.6	245	0.1	2	0.9	≤2.00	PASS
Human serum 1	7.74	139	0.05	1	0.7	≤2.00	PASS
Human serum 2	5.41	97.5	0.04	0.7	0.7	≤2.00	PASS

b) Intermediate precision, วิเคราะห์ 3 aliquots ต่อ run, 1 run ต่อวัน, ทำติดต่อกัน 21 วัน

Serum/plasma	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL			
Precinorm U	5.38	96.9	0.07	1.3	1.3	≤2.66	PASS
Precipath U	13.4	241	0.2	2	1.1	≤2.66	PASS
Humanserum 3	7.61	137	0.09	2	1.26	≤2.66	PASS
Human serum 4	5.28	95.1	0.06	1.1	1.41	≤2.66	PASS


3.1.2 ตัวอย่าง Urine

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

Urine	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL			
Control Level 1	1.54	27.8	0.02	0.4	1.1	≤2.00	PASS
Control Level 2	15.7	283	0.1	2	0.9	≤2.00	PASS
Human urine 1	5.00	90.1	0.05	0.9	1.0	≤2.00	PASS
Human urine 2	10.5	189	0.1	2	1.1	≤2.00	PASS

b) Intermediate precision, 3 aliquots ต่อ run, 1 run ต่อวัน, ทำติดต่อกัน 10 วัน

Urine	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL			
Control Level 1	1.51	27.2	0.01	0.2	1.0	≤2.66	PASS
Control Level 2	15.4	278	0.1	2	0.8	≤2.66	PASS
Human urine 1	4.86	87.6	0.05	0.9	1.0	≤2.66	PASS
Human urine 2	10.3	186	0.1	2	0.8	≤2.66	PASS

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 3 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

3.1.3 ตัวอย่าง CSF

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

Urine	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL			
Precinorm U	5.43	97.8	0.04	0.7	0.8	≤2.00	PASS
Precipath U	13.6	245	0.1	2	0.8	≤2.00	PASS
Human CSF 1	3.04	54.8	0.03	0.5	0.9	≤2.00	PASS
Human CSF 2	8.43	152	0.08	1	1.0	≤2.00	PASS

b) Intermediate precision, 3 aliquots ต่อ run, 1 run ต่อวัน, ทำติดต่อกัน 10 วัน

Urine	Mean		SD		CV %	CV _A %	ผลการ ตรวจสอบ
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL			
Precinorm U	5.37	96.8	0.07	1.3	1.3	≤2.66	PASS
Precipath U	13.4	241	0.2	4	1.1	≤2.66	PASS
Human CSF 3	3.00	54.1	0.04	0.7	1.5	≤2.66	PASS
Human CSF 4	8.30	150	0.10	2	1.3	≤2.66	PASS

3.2 เปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

วิเคราะห์ Glucose โดยใช้ตัวอย่างจากมนุษย์ทั้ง Serum, Plasma, Urine, CSF ด้วยเครื่อง cobas c 501 (y) โดยใช้น้ำยา Glucose HK (GLUC3) เทียบกับเครื่อง Roche/Hitachi MODULAR P (x) ได้ผล ดังนี้

a) ตัวอย่าง Serum/plasma

Sample size (n) = 75

Passing/Bablok13

$$y = 1.000x + 0.118 \text{ mmol/L}$$

$$T = 0.983$$

Linear regression

$$y = 0.996x + 0.179 \text{ mmol/L}$$

$$r = 1.000$$

The sample concentrations were between 28.8 and 614 mg/dL

b) ตัวอย่าง Urine

Sample size (n) = 75

Passing/Bablok13

$$y = 1.000x + 0.060 \text{ mmol/L}$$

$$T = 0.972$$

Linear regression


$$y = 1.001x + 0.045 \text{ mmol/L}$$

$$r = 1.000$$

The sample concentrations were between 2.88 and 712 mg/dL

c) ตัวอย่าง CSF

Sample size (n) = 75

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สวระชา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 4 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Passing/Bablok13

$$y = 1.000x - 0.020 \text{ mmol/L}$$

$$T = 0.980$$

Linear regression

$$y = 1.001x - 0.038 \text{ mmol/L}$$

$$r = 1.000$$

The sample concentrations were between 16.6 and 685 mg/dL

- เกณฑ์การยอมรับ inaccuracy จากการทำ method comparison :-

- Correlation coefficient (r): $r > 0.975$

- มีหลักฐานแสดง bias ของการตรวจวิเคราะห์ Glucose โดยใช้เกณฑ์การยอมรับ Bias $\leq 3.611\%$

- ผลการตรวจสอบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับ inaccuracy จากการทำ method comparison

- ค่า Bias เทียบกับเกณฑ์ ณ ค่า Medical decision level : ผ่าน(PASS)

- ค่า r เทียบกับเกณฑ์ แล้วมากกว่า 0.975 : ผ่าน(PASS)

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Plasma ที่ใช้ Li-heparin หรือ K_2 -EDTA หรือ NaF/EDTA, NaF/K-oxalate เป็นสารกันเลือดแข็ง

4.2 การตรวจ Glucose แต่ละครั้ง เครื่อง cobas c 501 จะใช้ Normal sample volume 2 ไมโครลิตร

4.3 Plasma ที่ไม่ใช่ NaF เป็นสารกันเลือดแข็ง ควรปั่นแยกภายใน 30 นาที หลังการเจาะเลือด ถ้าไม่ปั่นแยกและไม่แบ่งออกมาจากหลอดเก็บตัวอย่างเริ่มต้น ค่า glucose จะลดลงประมาณ 7% ต่อชั่วโมง เนื่องจากกระบวนการ glycolysis

4.4 CSF ควรทำการวิเคราะห์ทันทีหลังจากเก็บ หรือเก็บรักษาที่ 4°C หรือ -20°C


4.5 Urine 24 hours เก็บโดยใช้ 5 ml glacial acetic acid เป็น preservative และเก็บในขวดที่ป้องกันแสง ขณะเก็บต้องใส่ไว้ในตู้เย็น (ไม่เปิดให้บริการตรวจหา glucose ในตัวอย่าง Urine)

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

5.1 การเตรียมผู้ป่วย/ผู้ขอรับบริการก่อนตรวจ fasting plasma glucose (FPG) : ให้ผู้ป่วยหรือผู้ขอรับบริการอดอาหารในช่วงกลางคืนก่อนเจาะเลือด 8-14 ชั่วโมง โดยต้องไม่เกิน 16 ชั่วโมง เพื่อหลีกเลี่ยงภาวะ starvation ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ Glucose ในเลือด ในช่วงที่อดอาหารต้องงดรับประทานอาหาร เครื่องดื่มและอื่นๆ ที่ให้พลังงาน(เช่น กาแฟ น้ำอัดลม ลูกอม หมากฝรั่ง) แต่ดื่มน้ำเปล่าได้ สำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่ตรวจติดตามการรักษาอาจอดอาหารก่อนเจาะเลือด 6-8 ชั่วโมงก็ได้

5.2 การเตรียมผู้ป่วย/ผู้ขอรับบริการก่อนตรวจ Casual or random plasma glucose(RPG) : ให้ผู้ป่วยหรือผู้ขอรับบริการรับประทานอาหารตามปกติก่อนเจาะเลือดในเวลาใดๆ ของวันก็ได้ โดยไม่คำนึงถึงระยะเวลาตั้งแต่อาหารมื้อสุดท้าย

5.3 การเตรียมผู้ป่วย/ผู้ขอรับบริการก่อนทำ Oral glucose tolerance test (OGTT) : ให้ผู้ป่วยหรือผู้ขอรับบริการทดสอบกินอาหารตามปกติซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าวันละ 150 กรัม เป็นเวลาอย่างน้อย 3 วันก่อนการทดสอบ แล้วอดอาหารในช่วงกลางคืน 10-16 ชั่วโมงก่อนเจาะเลือด โดยต้องไม่เกิน 16 ชั่วโมง ในระหว่างนี้สามารถจิบน้ำเปล่าได้ ควรงดสูบบุหรี่ระหว่างการทดสอบ เมื่อถึงชั่วโมงทดสอบให้เตรียมตัวถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือดอย่างน้อย 2 ครั้ง โดยจะถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่ 1 สำหรับตรวจ FPG ก่อนดื่มน้ำตาล แล้วให้ผู้รับการทดสอบดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม ในน้ำ 250-300 มล. ดื่มให้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 5 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

หมดภายในเวลา 5 นาที และเตรียมตัวถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่ 2 เมื่อเวลาผ่านไปครบ 2 ชั่วโมง ในระหว่างนี้อาจเก็บตัวอย่างเลือดเพิ่มทุก 30 นาที ในกรณีที่ต้องการ

หมายเหตุ : สำหรับการทดสอบความทนต่อกลูโคสในเด็กให้ใช้กลูโคส 1.75 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่รวมแล้วไม่เกิน 75 กรัม

5.4 การเตรียมผู้ป่วย/ผู้ขอรับบริการก่อนทำ Glucose challenge test, GCT : เป็นการทดสอบที่แนะนำให้ทำในสตรีตั้งครรภ์ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นเบาหวาน และสตรีตั้งครรภ์ที่มีอายุครรภ์ไตรมาสที่ 3 (24-28 สัปดาห์) การเตรียมตัวรับการทดสอบทำได้ 2 วิธี ดังนี้

5.4.1 การเตรียมตัวของผู้รับการทดสอบ GCT แบบขั้นตอนเดียว(GCT one-step method) ให้อุดอาหารโดยใช้วิธีการเดียวกันกับการทำ OGTT

5.4.1.1 กรณีดื่มกลูโคส 100 กรัม ให้เตรียมตัวถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือด รวมทั้งหมด 4 ครั้ง ณ เวลาที่อดอาหาร(FPG), 1 ชั่วโมง(1h-PG), 2 ชั่วโมง(2h-PG) และ 3 ชั่วโมง(3h-PG)

5.4.1.2 กรณีดื่มกลูโคส 75 กรัม ให้เตรียมตัวถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือด รวมทั้งหมด 3 ครั้ง ณ เวลาที่อดอาหาร(FPG), 1 ชั่วโมง (1h-PG), และ 2 ชั่วโมง (2h-PG)

5.4.2 การเตรียมตัวของผู้รับการทดสอบ GCT แบบสองขั้นตอน(GCT two-step method) วิธีนี้ผู้รับการทดสอบ GCT ต้องดื่มน้ำตาลกลูโคส 50 กรัม โดยไม่จำเป็นต้องอดอาหารมาก่อน แล้วเตรียมตัวถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือด ณ เวลา 1 ชั่วโมง (1h-PG) ถ้าผลการตรวจ 1h-PG ≥ 140 mg/dL จะต้องทำการทดสอบ GCT แบบขั้นตอนเดียวในอีก 1 สัปดาห์ ถ้า 1h-PG < 140 mg/dL ให้ทำการทดสอบอีกครั้งเมื่ออายุครรภ์ได้ 24-28 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงที่มีโอกาสตรวจพบเบาหวานมากขึ้น

5.5 ในทารก การเจาะเลือดที่ส้นเท้าควร warm ส้นเท้าให้อุ่นก่อนทำการเจาะ เมื่อเก็บตัวอย่างเลือดได้แล้ว ควรรีบส่งห้องปฏิบัติการทันที เนื่องจากในทารกมี glycolysis rate สูง


5.6 ผู้ป่วยต้องเตรียมตัวถูกเจาะเก็บตัวอย่างน้ำไขสันหลังและตัวอย่างเลือดในเวลาใกล้เคียงกัน และส่งตัวอย่างเริ่มต้นทั้งสองชนิดมาตรวจหาระดับ Glucose ควบคู่กันทุกครั้งเพื่อความถูกต้องในการแปลผลเปรียบเทียบ

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)


6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Glucose ได้แก่

6.1.1 Sterile Sodium Fluoride/EDTA blood collection tube (ฝาปิดหลอดสีเทา) มี Sodium Fluoride (NaF) เป็นสารป้องกันการสลาย Glucose โดยการกีดการทำงานของเอนไซม์ในระบบ glycolysis มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ใช้ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากหน่วยงานที่ห้องปฏิบัติการไม่สามารถควบคุมเวลาในการนำส่งได้ เช่น ห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ

6.1.2 Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL ใช้ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ Glucose ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ อนุญาตให้ใช้เก็บตัวอย่างเลือดเฉพาะที่ห้องเจาะเลือดของห้องปฏิบัติการซึ่งสามารถควบคุมเวลาเริ่มเก็บตัวอย่างจนถึงเวลาออกผลได้ไม่เกิน 1 ชั่วโมงเท่านั้น

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 6 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 6.1.3 EDTA Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Glucose แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1, 6.1.2 และ 6.1.4 เท่านั้น ซึ่งต้องควบคุมเวลาเริ่มเก็บตัวอย่างจนถึงเวลาออกผลได้ไม่เกิน 1 ชั่วโมง
- 6.1.4 Clot activator Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีแดง) ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้เฉพาะกรณี ที่ส่งตรวจ Glucose แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ตาม ข้อ 6.1.1, 6.1.2 และ 6.1.3 ซึ่งต้องควบคุมเวลาเริ่มเก็บตัวอย่างจนถึงเวลาออกผลได้ไม่เกิน 1 ชั่วโมง
- 6.1.5 ขวดแก้วหรือหลอดปราศจากเชื้อ ไม่มีสารเติมแต่งใช้สำหรับบรรจุน้ำไขสันหลัง(CSF) ซึ่งต้อง ควบคุมเวลาเริ่มเก็บตัวอย่างจนถึงเวลาออกผลได้ไม่เกิน 45 นาที
- 6.2 ความคงตัวของระดับ Glucose ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง
- 6.2.1 ตัวอย่างตรวจเริ่มต้นชนิด Sodium Fluoride Plasma ซึ่งถูกปั่นแยกแต่ยังบรรจุอยู่ในภาชนะ บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นชนิด NaF/EDTA Blood Collection tube ซึ่ง NaF จะทำหน้าที่ยับยั้งการ ลดลงของระดับน้ำตาลจากกระบวนการ Glycolysis ของเม็ดเลือด ทำให้ระดับกลูโคสมีความคงตัว ได้นาน 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แต่ถ้าจะใช้ตัวอย่างนี้ตรวจซ้ำ ไม่ควรใช้ตัวอย่างที่เก็บไว้เกิน 1 วัน
- 6.2.2 ตัวอย่างตรวจเริ่มต้นชนิด Heparinized Plasma, EDTA Plasma และ serum ซึ่งถูกปั่นแยกแต่ ยังอยู่ในภาชนะบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น กระบวนการ Glycolysis ในเซลล์เม็ดเลือดจะทำให้ระดับค่า Glucose ลดลงประมาณ 7 % ต่อชั่วโมง ดังนั้นกรณีมีการตรวจ Plasma Glucose หรือ serum glucose จากตัวอย่างตรวจเริ่มต้นซึ่งยังบรรจุในภาชนะบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นอื่นๆ ที่ไม่ใช่ NaF/EDTA Blood Collection tube เช่น Heparinized Plasma จาก Lithium Heparin Blood Collection tube เป็นต้น ต้องควบคุมเวลาเริ่มเก็บตัวอย่างจนถึงเวลาออกผลต้องไม่เกิน 1 ชั่วโมง หรือระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างจนถึงเวลาตรวจวิเคราะห์ต้องไม่เกิน 30 นาที
- 6.2.3 ตัวอย่างตรวจชนิด Serum ที่แบ่งมา ซึ่งได้จากการปั่นแยกและแบ่งออกมาจากภาชนะบรรจุ ตัวอย่างเริ่มต้นแล้ว ระดับกลูโคสจะมีความคงตัวถึง 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (25 C) และ 72 ชั่วโมงที่ 4 C
- 6.2.4 ตัวอย่างเริ่มต้นชนิด CSF ระดับค่า Glucose จะค่อยๆ ลดลงไม่แน่นอน หลังจากเก็บตัวอย่างได้จึง ต้องนำส่งไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อปั่นแยกและทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับ Glucose ใน CSF supernatant ทั้งนี้ กรณีไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ทันที มีวิธีการปฏิบัติ ดังนี้
- 6.2.4.1 นำตัวอย่างเริ่มต้น CSF มาเติม NaF ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 0.5 mg/dL แล้วนำไป เก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 2-8 °C
- 6.2.4.2 สำหรับตัวอย่างตรวจชนิด CSF supernatant ซึ่งยังอยู่ในหลอดที่ใช้ปั่นแยกตะกอน กรณีที่ไม่สามารถตรวจทันทีได้ ให้แบ่งเอาส่วนที่เป็นน้ำ(supernatant) ออกจากส่วนที่เป็นตะกอน(sediment) นำไปเก็บรักษาที่ 4 C หรือน้อยกว่าเท่ากับ -20 C จะทำให้ ระดับ glucose มีความคงตัวใกล้เคียงกับในตัวอย่างตรวจชนิด serum ที่แบ่งมาซึ่งเก็บ รักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายฤกษ์สึระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 7 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

6.2.5 สรุปความคงตัวของปริมาณ Glucose ในสิ่งส่งตรวจหลังการเก็บตัวอย่าง

ชนิดตัวอย่าง	อุณหภูมิ	ความคงตัว
Serum/Plasma ที่ไม่ได้ใช้สารกันเลือดแข็ง NaF	15-25°C	8 ชั่วโมง
	2-8°C	3 วัน
Plasma ที่ใช้สารกันเลือดแข็ง NaF	15-25°C	3 วัน
CSF	15-25°C	ไม่แน่นอน
	2-8°C	คงตัวกว่าที่ 15-25°C

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 กรณีเป็นตัวอย่าง CSF ให้ปั่นแยกส่วนใสออกจากตะกอนเซลล์ที่ความเร็ว 1,800 rpm เป็นเวลา 3 นาที
- 7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา Glucose HK (GLUC3; Cat. No. 04404483 190) เป็น cassette ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน(ready-to-use) ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 cassette ตรวจได้ 800 Tests เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C วางให้ตั้งตรง จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานบนเครื่อง cobas c 501 แล้วจะมีอายุการใช้งาน 8 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา GLUC3 มีดังนี้

R1 : MES buffer: 5.0 mmol/L, pH 6.0; Mg²⁺: 24 mmol/L;

ATP: ≥ 4.5 mmol/L; NADP: ≥ 7.0 mmol/L; preservative

R2 : HEPES buffer: 200 mmol/L, pH 8.0; Mg²⁺: 4 mmol/L; HK (yeast):

≥ 300 μkat/L; G-6-PDH (E. coli): ≥ 300 μkat/L; preservative

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 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ 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

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 8 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566


- 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
- 7.8 Diluent NaCl 9 % (50 mL) สำหรับใช้เจือจางตัวอย่างอัตโนมัติกรณีตัวอย่างตรวจมีค่า Glucose สูงเกิน 750 mg/dL 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 Glucose HK ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ
 - เปิดใช้งานน้ำยา Glucose HK ครั้งแรก
 - น้ำยา Glucose HK 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)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สวระชา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 9 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

9.2 วิธีการสอบเทียบ

9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ C.f.a.s ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับ Lot ที่เคย download ข้อมูลการกำหนดค่าความเข้มข้นของ Glucose 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 เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหงายขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 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 น้ำยาโดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “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

- เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำ Daily begin เวลา 05.00 น. โดยอัตโนมัติ
- 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 Glucose HK (GLUC3; Cat. No. 04404483 190) ออกจากตู้เย็น

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 10 จาก 23 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัสแถบ barcode

- เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ำยา GLUC3 ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
- นำ Cassette น้ำยา GLUC3 ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ำยาเข้าไปในเครื่องขณะเครื่องอยู่ในสถานะ preparation เครื่องจะเจาะรูที่ฝาน้ำยาและนำไปเก็บใน reagent disk พร้อมกับ register น้ำยาโดยอัตโนมัติ โปรแกรมของระบบเครื่องมือจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 8 สัปดาห์

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวนการทดสอบ
- เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจได้ Serum/Plasma แล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองหรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และควรมีส่วนของ Serum/Plasma อย่างน้อย 500 µL

10.2 ถ้ายังไม่มี การสอบเทียบน้ำยา GLUC3 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

Glucose test definition

Assay type	:	2-Point End		
Reaction time / Assay points	:	10 / 10-47 (STAT 7 / 10-47)		
Wavelength (sub/main)	:	700/340 nm		
Reaction direction	:	Increase		
Units	:	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Reagent pipetting		Diluent (H ₂ O)		
R1	:	28 µL	141 µL	
R2	:	10 µL	20 µL	
Sample volumes		Sample	Sample dilution	
			Sample	Diluent (NaCl)
Normal	:	2 µL	-	-

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวระ		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 11 จาก 23 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

Decreased : 10 µL 15 µL 135 µL
 Increased : 2 µL - -

Calibration

Calibrators S1: H₂O
 S2: C.f.a.s.
 Calibration mode Linear
 Calibration frequency 2-point calibration
 - after reagent lot change
 - as required following quality control Procedures

Calibration interval may be extended based on acceptable verification of calibration by the laboratory.


10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น mg/dL ในกรณีที่มีค่าสูงเกิน 750 mg/dL ให้นำตัวอย่างออกมาจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องอีกครั้งเพื่อส่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะ dilute อัตโนมัติ 1:2 เมื่อตรวจเสร็จจะแสดงค่า Glucose ที่คูณด้วย 2 ให้เรียบร้อย

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

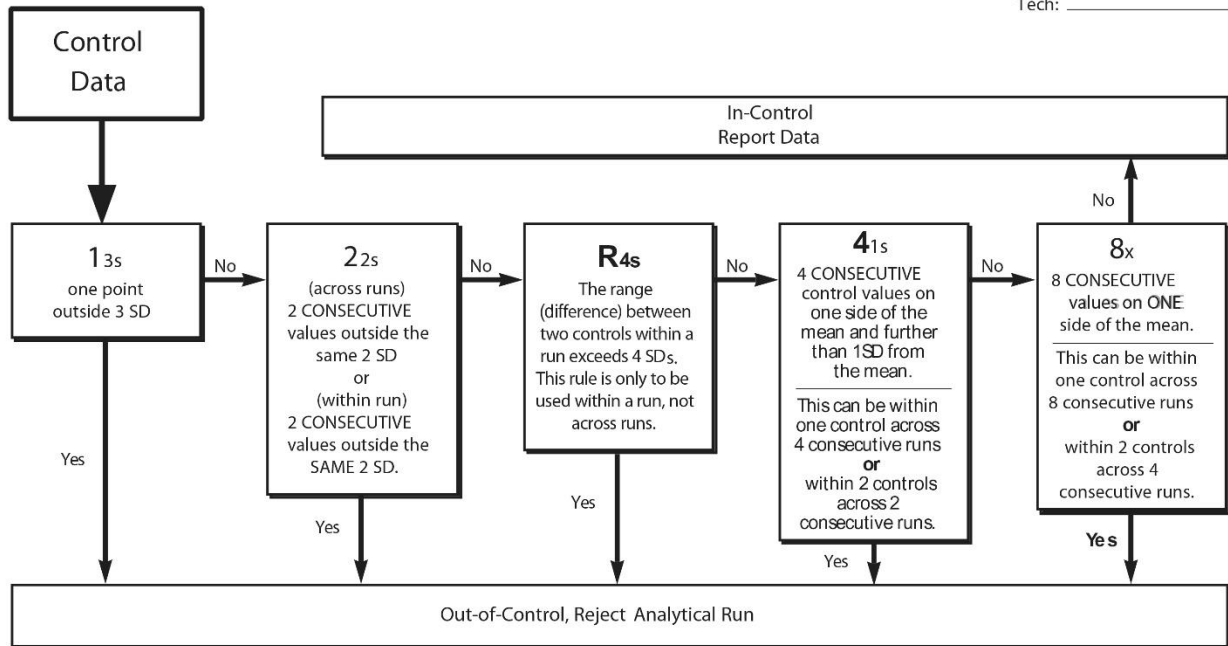
11.1.1 เกณฑ์การตัดสินผลการควบคุมคุณภาพภายใน ให้พิจารณาเลือกใช้กฎบางกฎที่แนะนำไว้ใน Modern “Westgard Rules” ได้แก่ 1-3S, 2-2S หรือ 2of3-2S, R-4S ร่วมกับเกณฑ์ between run $CV \leq 0.33TEa$ และ Peer group $SDI \leq 1$ โดยการติดตามตรวจสอบและประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจวิเคราะห์ Glucose ใน Quality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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 12 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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

Date: _____


Tech: _____



Problem: _____

Resolution: _____

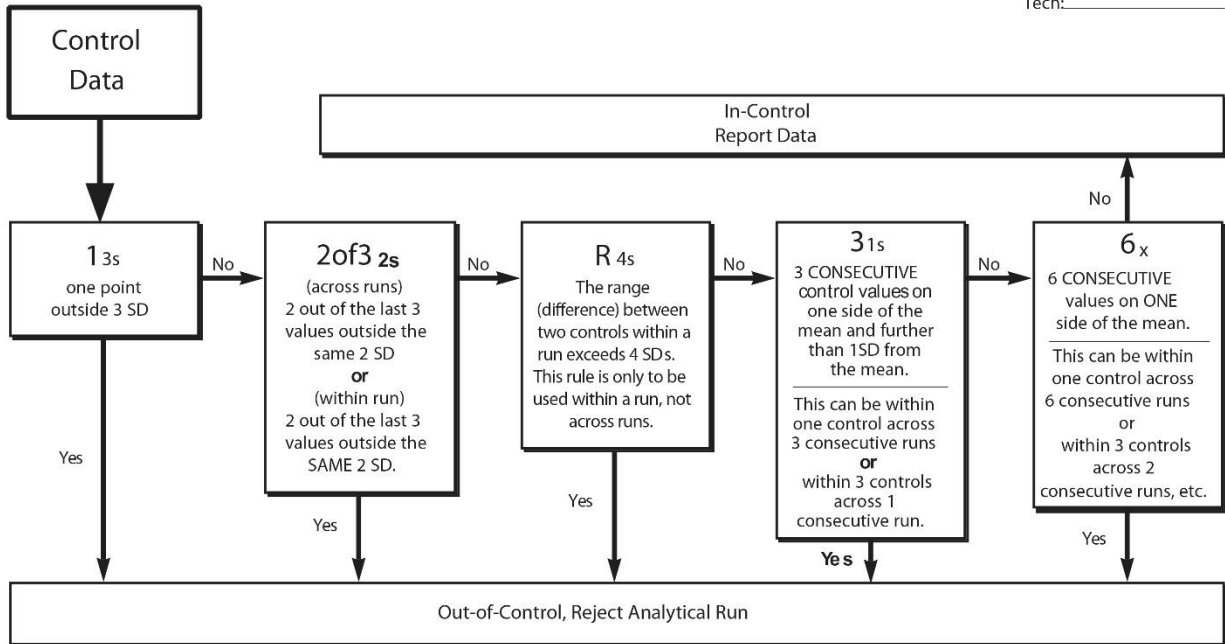
Find out more at <http://www.westgard.com>

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 13 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	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 Glucose 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 Glucose ใน Serum/Plasma/CSF = $\pm 8\%$ (อ้างอิงจาก CLIA 2019)
- 11.1.4 การติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV_{bd}) หรือ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 1/3TEa - Serum/Plasma/CSF : between-day run CV $\leq 2.66\%$
- 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 ลงไปละลายผงซีรัมแห้ง ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 14 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

โดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้องหรือแบ่งเก็บที่อุณหภูมิน้อยกว่าเท่ากับ - 20 °C ถ้ามีการแบ่งเก็บในช่องแช่แข็ง (-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 μ L) 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 Glucose ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้
 - 11.2.5.1 การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2
 - ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ Glucose ในรูปแบบกราฟผ่าน control unit ของเครื่อง cobas 6000 ได้ 3 รูปแบบที่เมนู QC > run status (แสดงผล QC ของทุก test ในกราฟเดียวกัน แสดงค่าของแต่ละ test ว่าตกอยู่ในขอบเขต mean \pm 2SD 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 Glucose 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 Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 15 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

11.2.6 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Glucose มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งงดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่ทำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล 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 Glucose ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย BIO-RAD Laboratories มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในห้วงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี

12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า Glucose ร่วมกันกับรายการทดสอบอื่นๆในตัวอย่างจากโปรแกรม 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/CSF โดยใช้เกณฑ์และเป้าหมายดังนี้

- เกณฑ์ Absolute Z-score < 3.0, เป้าหมาย < 1.5
- เกณฑ์ TE < TEa, เป้าหมาย TE < 4%,
เมื่อ TEa = ±8% (CLIA 2019), %TE=%Bias+1.65%CV
- Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 3.6110%

12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน EQAS การตรวจ Glucose ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

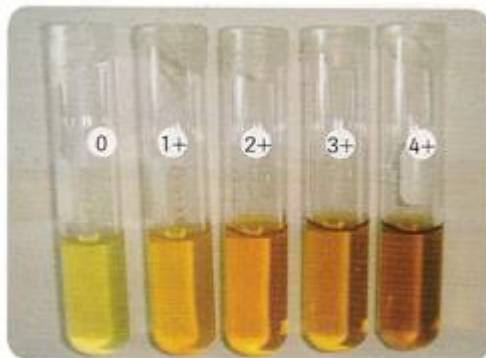
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สรีระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 16 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

13.1 ซีรัม/พลาสมา ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value at a glucose concentration of 3.9 mmol/L (70.3 mg/dL)

ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา		ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	I index ≤ 60	unconjugated bilirubin และ conjugated bilirubin ≤ 60 mg/dL	4+
Hemolysis	H index $\leq 1,000$	hemoglobin $\leq (1,000$ mg/dL)	4+
Lipemic (Intralipid)	L index $\leq 1,000$	L index หรือความขุ่น ไม่สัมพันธ์กับ ปริมาณ Triglyceride	4+

- ไม่พบการรบกวนของ Drug เมื่อทำทดสอบด้วย Common drug panels
- ผลการตรวจอาจเชื่อถือไม่ได้ในผู้ป่วยบางราย ที่เป็น multiple myeloma และ gammopathy ชนิด IgM



ซีรัมเหลือง (Icteric serum)

Bilirubin concentration

1+ = 2.5 mg/L = 0.25 mg/dL

2+ = 5.0 mg/L = 0.50 mg/dL

3+ = 10.0 mg/L = 1.00 mg/dL

4+ = 20.0 mg/L = 2.00 mg/dL



ซีรัมที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolysed serum)

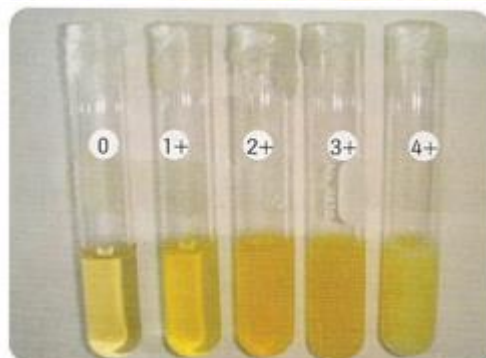
Hemoglobin concentration

1+ = 0.9 g/L = 90 mg/dL

2+ = 1.8 g/L = 180 mg/dL

3+ = 3.5 g/L = 350 mg/dL

4+ = 6.7 g/L = 670 mg/dL



ซีรัมขุ่นมีไขมัน (Turbid serum)


Absorbance 660 นาโนเมตร

1+ = 0.4

2+ = 0.8

3+ = 1.0

4+ = 1.2

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 17 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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 Glucose ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor mmol/L x 18.02 = mg/dL

mmol/L x 0.1802 = g/L

mg/dL x 0.0555 = mmol/L

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

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

15.1 ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพ (biological reference intervals)

FPG: 74-99 mg/dL

CSF: 40-70 mg/dL

Urine, random: 1-15 mg/dL

15.2 ค่าการตัดสินใจทางคลินิก (Clinical Decision Levels)

15.2.1 ค่าตัดสินใจทางคลินิกของระดับน้ำตาลในเลือดอยู่ที่ระดับ 45, 120 และ 180 mg/dL

15.2.2 ในผู้ป่วยเบาหวานที่รับไว้ในโรงพยาบาล การวินิจฉัยภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำระดับรุนแรงใช้เกณฑ์ที่ Plasma glucose \leq 40-50 mg/dL

15.3 International Hypoglycemia Study Group 2017 ได้เสนอวิธีการรายงานภาวะน้ำตาลต่ำในเลือดและอาการทางคลินิก ดังนี้


15.3.1 ระดับ 1 (level 1) glucose alert value หมายถึง ระดับน้ำตาลในเลือดที่ 70 mg/dL ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะน้ำตาลต่ำในเลือดที่มีอาการ และมีความสำคัญในการแก้ไขภาวะน้ำตาลต่ำในเลือดโดยการให้คาร์โบไฮเดรตที่ดูดซึมเร็ว และการพิจารณาปรับการรักษาเบาหวาน

15.3.2 ระดับ 2 (level 2) clinically significant hypoglycemia หมายถึง ระดับน้ำตาลในเลือดที่ $<$ 54 mg/dL ซึ่งมีความสำคัญทางคลินิกอย่างมาก คือ เป็นระดับที่สัมพันธ์กับการเกิดการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติล้มเหลว (HAAF) ภาวะน้ำตาลต่ำในเลือดโดยไม่มีอาการเตือน และความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะน้ำตาลต่ำในเลือดระดับรุนแรง

15.3.3 ระดับ 3 (level 3) ภาวะน้ำตาลต่ำในเลือดระดับรุนแรง หมายถึง การที่ผู้ป่วยมีอาการสมองขาดกลูโคสที่รุนแรง (severe cognitive impairment) ซึ่งต้องอาศัยผู้อื่นช่วยเหลือ

15.4 เป้าหมายการควบคุมเบาหวานและปัจจัยเสี่ยงสำหรับผู้ใหญ่

การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อติดตามการ	เป้าหมาย
---	----------

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 18 จาก 23 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

ควบคุมเบาหวาน	ควบคุมเข้มงวดมาก	ควบคุมเข้มงวด	ควบคุมไม่เข้มงวด
ระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร (FPG)	>70-110 mg/dL	80-130 mg/dL	140-170 mg/dL
ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหารสองชั่วโมง (2h-PG)	<140 mg/dL	-	
ระดับน้ำตาลในเลือดสูงสุดหลังอาหาร(R-PG)	-	<180 mg/dL	-
HbA1c	<6.5 %	<7 %	7-8 %

หมายเหตุ : ปัญหาของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดเข้มงวดมากคือเกิดภาวะน้ำตาลต่ำในเลือด (hypoglycemia) และน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปเป้าหมายการควบคุมคือ HbA1c <7.0 % ซึ่งสัมพันธ์กับระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร 80-130 mg/dL

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้(reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range คือ Glucose 2 - 750 mg/dL

17. คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด

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

ถ้าผลการทดสอบ Glucose >750 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะเจือจางสิ่งส่งตรวจในอัตราส่วน 1:2 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคุณ dilution factor = 2) ให้โดยอัตโนมัติ

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

FPG ค่าต่ำ <70 mg/dL, FPG ค่าสูง >250 mg/dL

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia)

19.1.1 เบาหวาน Type I เกิดจากการสร้างอินซูลินได้ไม่พอ มีการทำลาย pancreatic beta cell


ต้องการอินซูลินป้องกัน ketosis ระดับอินซูลินต่ำ มีความสัมพันธ์กับHLA-D

histocompatibility ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปยังบุตร แต่อัตราการถ่ายทอดต่ำกว่า type II โอกาสที่ทารกทั้งคู่ของแฝดไข่ใบเดียวกันเป็นโรคน้อยกว่าร้อยละ 50

19.1.2 เบาหวาน Type II : ไม่จำเป็นต้องให้อินซูลินป้องกัน ketosis ถึงแม้ว่าอาจใช้อินซูลินแก้ไข hyperglycemia มีผู้ป่วยจำนวนมากอ้วนและดื้อต่ออินซูลิน อัตราการถ่ายทอดทางพันธุกรรมสูง โอกาสที่ทารกทั้งคู่ของแฝดไข่ใบเดียวกันเป็นโรคมิได้ถึงร้อยละ 100 ไม่มีความสัมพันธ์กับ HLA ร้อยละ 40 ของพี่น้องและ 1/3 ของลูกๆ จะมีความผิดปกติของ OGTT หรือ overt DM

19.1.3 เบาหวานชนิดอื่นๆ ได้แก่

- ความผิดปกติทางพันธุกรรม มีผลต่อการทำงานของ pancreatic beta
- ความผิดปกติทางพันธุกรรม มีผลต่อการทำงานของ insulin

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สวระ		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 19 จาก 23 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

- กลุ่มอาการทางพันธุกรรม เช่น ataxia-telangiectasia, dystrophy, Laurence-Moon-Biedl syndrome, Down, Klinefelter, Turner
- โรคของตับอ่อน เช่น ฆ่าตัดตับอ่อน ตับอ่อนบกพร่อง hemochromatosis ตับอ่อนอักเสบ cystic fibrosis เนื่องจากที่ตับอ่อนซึ่งผลิต glucagon มากกว่าปกติ(glucagonoma)
- ความผิดปกติทางฮอร์โมน เช่น เพิ่มการหลั่งฮอร์โมนที่ต้านอินซูลิน อย่างเช่นใน acromegaly, Cushing's syndrome(ผลิต glucocorticoid มากกว่าปกติ), pheochromocytoma
- เกิดจากยาหรือสารเคมี เช่น ยาขับปัสสาวะที่ทำให้สูญเสียโปตัสเซียม corticosteroids insulin phenytoin ยากลุ่ม psychoactive
- มีความกดดันจากภาวะที่มีการติดเชื้อ เช่น congenital cytomegalovirus, coxsackie virus, เป็นต้น
- เบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes, GDM)
- เป็นเนื้องอกที่ต่อมซึ่งผลิต epinephrine และ norepinephrine
- เป็นโรค hyperthyroidism ร่วมกับมีภาวะ hypercholesterolemia

19.2 ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) พบได้น้อย สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจาก


- Hypopituitarism
- ผู้ป่วยเบาหวานที่รับประทานยาลดน้ำตาลในเลือดไม่ถูกวิธีหรือรับประทานเกินขนาด
- ผู้ป่วยเบาหวานที่ให้หรือฉีด insulin เกินขนาด
- มีเนื้องอกที่ตับอ่อน ทำให้ β -Cell หลั่ง insulin เกินขอบเขต (insulinoma)
- โรค Addison จากสาเหตุที่ต่อม adrenal หย่อนงาน
- โรคตับ ทำให้ตับทำหน้าที่ส่งกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดได้น้อยลง
- กรณีที่เด็กอ่อนคลอดจากแม่ที่เป็นเบาหวาน
- ผู้ป่วยเบาหวานที่หลั่ง insulin เกินขนาด (reactive hypoglycemia) ซึ่งจะพบน้ำตาลในเลือดต่ำระหว่างชั่วโมงที่ 3 และที่ 5 ของการตรวจ Oral glucose tolerance test
- ผู้ป่วยเบาหวานที่อดอาหารเป็นระยะเวลาานหลังอาหารมื้อสุดท้าย

19.3 การแปลผลระดับ plasma glucose และ HbA1c เพื่อการวินิจฉัยโรคเบาหวาน

การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ	ปกติ	ระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มความเสี่ยงการเป็นโรคเบาหวาน		โรคเบาหวาน
		Impaired fasting glucose(IFG)	Impaired glucose tolerance(IGT)	
FPG	< 100 mg/dL	100-125 mg/dL	-	≥126 mg/dL
2h-PG (OGTT)	< 140 mg/dL	-	140-199 mg/dL	≥200 mg/dL
R-PG	-	-	-	≥200 mg/dL
HbA1c	< 5.7 %	5.7-6.4 %		≥ 6.5 %

หมายเหตุ : การตรวจพบ Random plasma glucose(R-PG) \geq 200 mg/dL ร่วมกับมีอาการของโรคเบาหวาน (classic symptoms) ได้แก่ ปัสสาวะบ่อย น้ำหนักตัวลดลงโดยไม่สามารถอธิบายได้จากสาเหตุอื่น ให้วินิจฉัยว่าเป็นเบาหวาน

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 20 จาก 23 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

19.4 การแปลผลการทดสอบความทนกลูโคสของสตรีตั้งครรภ์ (GCT)

การวินิจฉัยโรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus-GDM) ด้วย oral glucose tolerance test มีอยู่หลายเกณฑ์ ดังแสดงในตารางดังนี้

วิธีการ	ระยะเวลาอดอาหาร (ชั่วโมง)	ปริมาณกลูโคสที่ใช้	ระดับ plasma glucose หน่วยเป็น mg/dL ที่ เวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังดื่มน้ำตาลกลูโคส				วินิจฉัย GDM เมื่อพบค่าผิดปกติ
			ก่อนดื่ม (FPG)	1 ชั่วโมง (1h-PG)	2 ชั่วโมง (2h-PG)	3 ชั่วโมง(2h-PG)	
1.NDDG	ประมาณ 8	100 กรัม	≥105	≥190	≥165	≥145	≥2 ค่า
2.Carpenter & Couston	10-16	100 กรัม	≥95	≥180	≥155	≥140	≥2 ค่า
3.IDF (IADPSG)	10-16	75 กรัม	≥92	≥180	≥153	-	ค่าใดค่าหนึ่ง
4.GCT screening test(two-step method)	ไม่จำเป็นต้องอดอาหารมาก่อน	50 กรัม		≥140			หากผล 1h-PG ≥140 mg/dL จะต้องทำการตรวจด้วยวิธีที่ 1 หรือ 2 หรือ 3

NDDG = National Diabetes Data Group

IDF = International Diabetes Federation

IADPSG = International Association of Diabetes Pregnancy Study Group

เกณฑ์ที่ราชวิทยาลัยสูตินรีแพทย์และอายุรแพทย์แห่งประเทศไทยแนะนำให้ใช้ในปัจจุบันคือเกณฑ์ของ Carpenter และ Coustan และเกณฑ์ของ International Diabetes Federation (IDF)

19.5 การแปลผลการทดสอบ Glucose ในน้ำไขสันหลัง (CSF glucose)

การตรวจหาระดับ Glucose ใน CSF จำเป็นต้องตรวจเลือดให้ทราบค่า Plasma glucose ด้วยเสมอ โดยมีข้อพิจารณา ดังนี้

19.5.1 ค่าเปรียบเทียบระหว่าง CSF Glucose กับ Plasma glucose ดังนี้


ระดับค่า CSF glucose 50 – 75 mg/dL = 60 -70 % ของระดับ plasma glucose

19.5.2 ปกติระดับ Glucose ใน CSF จะเปลี่ยนไปตามระดับของ Glucose ใน plasma โดยมีช่วงเวลาเคลื่อนกัน(lag period) ประมาณ 1-2 ชั่วโมง

19.5.3 การตรวจพบค่า CSF glucose ต่ำกว่า 60% ของค่า plasma glucose อาจบ่งชี้ว่ามี neoplasm หรือ meningitis

19.5.4 ค่า CSF glucose ต่ำ เกิดได้จาก

- ผู้ป่วยมีเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningitis) จากการติดเชื้อ Bacteria, tuberculosis(TB), mumps, meningo-encephalitis และ syphilis ภาวะเยื่อหุ้มสมองอักเสบทำให้ glucose ซึมผ่าน blood brain barrier ได้น้อยลง ระดับ glucose ใน CSF จึงต่ำ
- ผู้ที่มีภาวะ Systematic hypoglycemia

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 21 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- Sarcoidosis
- มะเร็งที่มีการกระจายไปที่สมอง (meningitis carcinomatosis)
- เลือดออกในสมอง(subarachnoid hemorrhage)

- 19.5.5 ค่า CSF glucose สูงเกิดจากผู้ป่วยที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงอยู่ก่อนแล้ว หรือเป็นเบาหวาน
- 19.6 ระดับกลูโคสที่วัดได้จากพลาสมาจะมีค่าสูงกว่าระดับกลูโคสที่วัดได้จากเลือดรวม (whole blood glucose) เช่น แคปิลลารีกลูโคส ประมาณร้อยละ 10
- 19.7 เลือดจากหลอดเลือดดำจะมีค่าระดับ Glucose ใกล้เคียงกับเลือดจากหลอดเลือดแดงในช่วงที่อดอาหารเท่านั้น ถ้าหลังอาหาร เลือดจากหลอดเลือดแดงจะมีระดับ Glucose สูงกว่าจากหลอดเลือดดำ

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)


- เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน GLUC3 cassette อันใหม่
- มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ
- เก็บรักษา GLUC3 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 ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นานหรือนำ 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 ติบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- Probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration (วงรอบการทำ Re-calibration ไม่ควรเกิน 90 วัน สำหรับน้ำยา GLUC3 Lot เดิม)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Glucose	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-001	หน้า 22 จาก 23 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 3	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- Measurement syringe รั้ว/เสียม
- 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 ตูดไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ sample cup/small sample cup
- ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ไม่งดเครื่องดื่มและอาหารก่อนเจาะเลือด

21. เอกสารอ้างอิง(references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา Glucose HK (PI-LAB-001)
- 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 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.5 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร..... WI-LAB-001 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Glucose

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	2	แก้ไขข้อ 4 ชนิดตัวอย่าง ยกเลิกข้อย่อย 4.1 และ 4.4 : Serum แก้ไขข้อ 15 ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก แก้ไขข้อย่อย 15.1 ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพ FPG จาก 106 เป็น 99	นายสิปปนนท์
1 ก.ย. 65	3	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	3	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ GLUCOSE

WI-LAB-001

แก้ไขครั้งที่.....

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรัมย์)

ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก

...../...../.....

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

...../...../.....

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)