

# วิธีปฏิบัติ

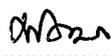
## Work Instruction

### เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin

ด้วยเครื่อง Micro bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501



กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์  
โรงพยาบาลลำพูน

รหัสเอกสาร WI-CHE-004		ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3
ผู้จัดทำ	<p>..... วิรุฬห์ วิชาป่า .....</p> <p>(นายวิรุฬห์ วิชาป่า)</p> <p>นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ</p>	<p>1/ก.พ./64</p> <p>วัน / เดือน / ปี</p>
ผู้ทบทวน	<p>.....  .....</p> <p>(นางสาวศิริพร นันตา)</p> <p>ผู้จัดการวิชาการ</p>	<p>1/ก.พ./64</p> <p>วัน / เดือน / ปี</p>
ผู้อนุมัติ	<p>.....  .....</p> <p>(นายครรชิต กิติมา)</p> <p>ผู้จัดการคุณภาพ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p>	<p>1/ก.พ./64</p> <p>วัน / เดือน / ปี</p>



	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	บททวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 3 ใน 10

## การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Micro bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501

### 1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ

เพื่อใช้ในการตรวจหาปริมาณของ Bilirubin ดังนั้นเครื่องจะวัดเฉพาะค่า Indirect Bilirubin ที่มีปริมาณสูงในเด็กแรกเกิด

### 2. นิยามและคำย่อ

### 3. หลักการทดสอบ

หลักการ (Principle) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 454 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นแสงที่ Bilirubin ดูดกลืนแสงโดยใช้ capillary tube โดยไม่ต้องใช้น้ำยาใดๆ แล้วใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 หรือ 575 นาโนเมตร เพื่อวัดการดูดกลืนแสงของ Oxyhemoglobin(ซึ่งจะทำให้เกิด false positive) โดยเครื่องจะทำการหักค่านี้ออกไป ในขณะที่ Bilirubin ไม่ดูดกลืนแสงที่ 454 นาโนเมตร (ดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร) ดังนั้นเครื่องจะวัดเฉพาะค่า Indirect Bilirubin ที่มีปริมาณสูงในเด็กแรกเกิด

### 4. คุณลักษณะเฉพาะของวิธีการตรวจวิเคราะห์( Specific performance data)

1. **Precision** การตรวจวัดการประเมินความแม่นยำ โดยวัดค่า Bilirubin จาก Plasma ได้ผลดังนี้

Within run			
	Mean g/L	SD	CV%
Plasma	12.3	0.1	1.0

2. **Accuracy (Method comparison)** เมื่อวัดค่า Bilirubin ใน pool serum โดยใช้เครื่อง Microbilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501 เปรียบเทียบกับเครื่องรุ่นเดียวกัน ได้ผลดังนี้

$$R = 0.977 \quad n = 20 \quad \text{Sample range} = 0.3 - 30 \text{ g/dl}$$

3. **ความไวโดยเฉลี่ย** คือ เครื่องสามารถตรวจวัดระดับต่ำสุดของ Bilirubin = 0.1g/dl

4. **ความจำเพาะ** % Recovery อยู่ในช่วง  $\pm 10\%$  ของค่าที่กำหนด

5. **ค่าความไม่แน่นอน** ดูวิธีการคำนวณได้จาก

- วิธีการคำนวณผลความไม่แน่นอนของการวัด
- เอกสารสนับสนุน เรื่องความไม่แน่นอน ( Uncertainty ) หน่วยงานเคมีคลินิก

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 4 ใน 10

## 5. สิ่งส่งตรวจ และรายละเอียดที่ต้องตรวจสอบ

- ใช้สิ่งส่งตรวจที่เป็น Heparinized plasma in capillary tube

### การเจือจางสิ่งส่งตรวจ

- เมื่อค่าของ Bilirubin ใน Plasma สูงกว่า 30.0 mg/dl ควรเจือจางตัวอย่างตรวจด้วยน้ำกลั่น โดยใช้ Capillary tube ชุด Plasma 25 ul นำไปผสมกับน้ำน้ำกลั่น 50 ul ผสมให้เข้ากัน (1:3 เท่า)

## 6. ประเภทของภาชนะบรรจุและสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

Heparinized Capillary tube

## 7. เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้

เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and supplies)

- เครื่อง Bilirubin meter
- สายไฟ AC
- Capillary tube
- ดินน้ำมัน
- สารบิลิรูบินมาตรฐาน
- หลอดไฟ Tungsten 6 โวลต์ 1.5 วัตต์
- ฟิวส์ขนาด 1 แอมแปร์
- ผ้าคลุม
- คู่มือการใช้งานภาษาอังกฤษ

การใช้งานเครื่อง **Microbilirubin meter**

1. ก่อนตรวจวิเคราะห์ให้เปิดเครื่องทิ้งไว้ 15 นาทีก่อนทำการวัด
2. ใช้ Capillary tube แฉกสีฟ้า ดูดน้ำกลั่น จากนั้นปิดปลายหลอดด้วยดินน้ำมัน และไล่ฟองอากาศออกให้หมด เช็ดทำความสะอาดภายนอกให้เรียบร้อย เสียบลงใน Capillary tube holder
3. กดปุ่ม AUTO-0 bottom แฉกไว้ 2 วินาทีเครื่องจะแสดงหน้าจอ 00.0
4. กดปุ่ม Check lever ค้างไว้หมุนปุ่ม Scale knob ปรับหน้าจอที่แสดงให้เท่ากับค่า Check value ของเครื่องที่ตั้งไว้ที่ Check -V
  - หลังจากดึง Capillary tube น้ำกลั่นออกแล้ว ตัวเลขที่แสดงที่หน้าจอ อาจต่ำกว่า 0.00 เช่น (0.03) ถ้าค่าต่ำไม่เกิน -0.05 สามารถวัดค่าต่อได้ ถ้าเกิน -0.05 ให้ปรับค่าศูนย์ใหม่

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 5 ใน 10

5. นำ Capillary ออกเครื่องพร้อมสำหรับการใช้งานต่อไป
6. หลังจากการใช้งานประจำวันให้ปิดเครื่องเสมอ
7. การวัดค่า Bilirubin โดยนำ Capillary tube ที่บรรจุเลือดและได้ปั่นเลือดแล้วสามารถเสียบลงไปที่วัด Capillary tube holder ได้ทันทีโดยไม่ต้องยก Capillary holder มาวัด เมื่อนำไปวัดหาระดับที่เหมาะสมกับ Serum gauge
8. ขั้นตอนการใช้งาน Serum gauge ดังนี้
  - ทาบ Capillary tube ที่ปั่นแล้วบน โดยให้เส้นขอบระหว่างซีรัมกับเลือดอยู่ในช่อง A หันทางซ้ายมือ
  - จับปลาย Capillary tube ด้านที่อุดดินน้ำมันด้วยนิ้วโป้งและนิ้วชี้
  - เมื่อได้ระดับที่ต้องการแล้ว นำไปเสียบที่ Capillary tube holder ให้ลึกจนสุดปลายนิ้วเพื่อทำการวัด ในกรณีที่ Capillary tube หักเศษของ tube จะไม่หลุดลงไปในเครื่องเพราะมี Capillary holder รองอยู่

#### การบำรุงรักษาเครื่องมือ

- ทำความสะอาด Sample holder ด้วย 70 % Alcohol ทุกเย็นที่ใช้หลังเลิกงาน
- ทำความสะอาดตัวเครื่อง ด้วยผ้าสะอาด

#### 8. วิธีการสอบเทียบ

##### การเตรียมสารเปรียบเทียบมาตรฐาน(Standard Bilirubin )

##### 8.1. สารเปรียบเทียบมาตรฐาน( Standard Bilirubin)

- การสอบเทียบเครื่องมือ ดำเนินการสอบเทียบโดยบริษัทไบโอเซน จำกัด ปีละ 1 ครั้ง
- สารมาตรฐาน (Standard Reagent ) Lot No. S1215 ความเข้มข้น 18.3 mg/dl ควรรี Calibrate เพิ่มเติมกรณีดังนี้
- เปลี่ยน หลอดไฟ หรืออุปกรณ์ตรวจวัดเครื่องใหม่ เช่น Sample holder
  - เมื่อค่า Internal Quality control ที่ใช้ออกนอกช่วงที่กำหนด

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 6 ใน 10

### การเตรียมสารเปรียบเทียบมาตรฐาน

- Standard Bilirubin บรรจุในขวดทึบแสง ระบุวันที่เปิด (mfg.), วันหมดอายุ (Exp.) แล้วนำไปเก็บไว้ที่ 2-8 °C

### การเก็บรักษาสภาพสารเปรียบเทียบมาตรฐาน

สารเปรียบเทียบมาตรฐาน	2-8 °C
Bilirubin	1 เดือน

### หมายเหตุ

สารเปรียบเทียบมาตรฐานต้องบรรจุขวดทึบแสง เนื่องจากมีผลต่อค่าการตรวจวัดได้

### วิธีการปรับ ตั้งค่า Check value

1. ใส่น้ำกลั่นลงใน Capillary tube แล้วปิดปลายด้วยดินน้ำมันด้านใดด้านหนึ่ง
2. เช็ด Capillary tube นี้ให้สะอาด แล้วใส่ตรงฐานยึด Capillary tube
3. กดปุ่ม Auto -0 สังเกตหน้าจอแสดง "0.00"
4. ใส่ standard ที่เตรียมไว้ใน Capillary tube เช็ด Capillary tube ให้สะอาด แล้วใส่ตรงฐานยึด Capillary tube สังเกตค่าตัวเลขบนหน้าจอเท่ากับค่าของ Standard หรือไม่ ถ้าไม่เท่า ให้หมุนปุ่ม Scale จนกว่าหน้าจอจะเท่ากับค่าของ Standard
5. ดึง Capillary tube ของ Standard ออกจากตัวเครื่องแล้วใส่ Capillary tube ของน้ำกลั่นใส่ไปแทน จากนั้นกดปุ่ม Check สังเกตตัวเลขที่แสดงบนหน้าจอ คือค่าของ Checked value ใหม่

### 9. วิธีการตรวจวิเคราะห์

#### 9.1. การเตรียมสิ่งส่งตรวจ

- การเก็บตัวอย่างตรวจ โดยเจาะเลือดจากเส้นเท้าเด็กโดยเจาะเลือด ใช้ Heparinized Capillary tube บรรจุเลือดประมาณ 3 ใน 4 ส่วน จำนวนอย่างน้อย 2 Capillary อุดปลายข้างหนึ่งด้วยดินน้ำมันให้แน่น จากนั้นบรรจุในช่องทึบแสง จากนั้นนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาทีหลังจากปั่นครบรอบเวลา ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	บททวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 7 ใน 10

- ความถูกต้องของสิ่งส่งตรวจ หากในกรณีต้องการเพิ่มการทดสอบหรือตรวจซ้ำสิ่งส่งตรวจ อ้างอิงตาม CF-CHE-014 (เกณฑ์กำหนดระยะเวลาในการใช้สิ่งส่งตรวจเดิมเพื่อเพิ่มการทดสอบหรือตรวจซ้ำ)

## 9.2 การเตรียมเครื่องมือและการสั่งงานเพื่อทำการวิเคราะห์

- เปิด warm –up เครื่อง Bilirubin meter เตรียมเครื่องมือก่อนใช้งาน อ้างอิง SD-CHE-019 คู่มือการใช้เครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ APEL รุ่น BR- 501
- การวัดค่า Bilirubin ค่ารายงานผลหน้าจอเครื่อง โดยทำการตรวจวิเคราะห์อ้างอิง SD-CHE-019 คู่มือการใช้เครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ APEL รุ่น BR- 501
- บันทึกผลลงในใบนำส่งตรวจ (ใบ Request )
- Validate ผลทางระบบสารสนเทศของห้องปฏิบัติการ(LIS)

## 10. วิธีการควบคุมคุณภาพ

### การเตรียมสารควบคุมคุณภาพ ( Control)

1. สารควบคุมคุณภาพ (Control ) เป็นสารละลาย เตรียมพร้อมใช้บรรจุขวดทึบแสงระบุนวันที่เปิด (mfg.),วันหมดอายุ (Exp.) แล้วนำไปเก็บไว้ที่  $-2-8^{\circ}\text{C}$
2. นำสารควบคุมคุณภาพ (Control) ออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที
3. ใส่สารละลาย Control ลงใน Capillary tube ปิดจุกปลายด้วย
4. การควบคุมคุณภาพ (Quality Control)ทำการตรวจวัดสารควบคุมคุณภาพค่าปกติและค่าผิดปกติ (Normal and Abnormal Control)

## 11. สิ่งรบกวนการทดสอบ

1. สิ่งส่งตรวจที่มีความเข้มข้นของค่า Bilirubin สูงเกินไป ( $> 30 \text{ mg/dl}$ )
2. สิ่งส่งตรวจที่มี Hemolysis ; Hemoglobin  $> 250 \text{ mg/dl}$
3. สิ่งส่งตรวจที่มี Serum ขุ่น
4. Capillary tube ขุ่นหรือมีรอยขีดข่วน
5. ตำแหน่งของ Serum ไม่ตรงกับช่องวัด
6. หลอดไฟเริ่มเสื่อม

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 8 ใน 10

## 12. วิธีการคำนวณผลความไม่แน่นอนของการวัด

### วิธีดำเนินการ

1. หาค่าประกอบความไม่แน่นอนที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการวัด ได้แก่
  - Calibrator ซึ่งมีข้อมูลการสอบกลับได้ยัง SI Unit และข้อมูลความไม่แน่นอนของ assigned value (Traceability and Uncertainty) จากผู้ขาย ซึ่งเป็น Type B evaluation
  - ผลการทำ internal quality control ซึ่งมีค่า Standard deviation ของการทำ repeatability เป็น inter-assay ซึ่งเป็น Type A evaluation
2. คำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (Standard Uncertainty , SU) ของ 2 องค์ประกอบของความไม่แน่นอนดังกล่าว

2.1 ความไม่แน่นอนมาตรฐานของ calibrator ( $SU_{cal}$ ) =  $\frac{\text{uncertainty ของ calibrator}}{\text{Divisor}}$  หน่วยวัด

โดยใช้ divisor (ตัวหาร) ตามค่า k ที่ระบุไว้ในใบรับรองของบริษัทผู้ผลิต เช่น ใบรับรองระบุว่า Uncertainty ของ Calibrator ที่  $k = 2$  ตัวหารคือ 2  
ความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ calibrator ( $RSU_{cal}$ )

$$RSU_{cal} = \frac{SU_{cal}}{\text{Concentration ของ calibration}} \quad \text{ไม่มีหน่วย}$$

2.2 ความไม่แน่นอนมาตรฐานของการทำ IQC ( $SU_{IQC}$ )

$$SU_{IQC} = \frac{\text{standard derivation จากการทำ repeatability แบบ inter-assay}}{\text{divisor}} \quad \text{มีหน่วย}$$

ใช้ divisor = 1

เนื่องจากข้อมูลจากการทำ IQC เป็นการกระจายแบบปกติ ที่ไม่ระบุค่า k ดังนั้น Standard Uncertainty จึงเท่ากับ Standard Deviation

ความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการทำ IQC ( $RSU_{IQC}$ )

$$RSU_{IQC} = \frac{SU_{IQC}}{\text{mean concentration}} \quad \text{ไม่มีหน่วย}$$

3. คำนวณความไม่แน่นอนรวมสัมพัทธ์ (Combined relative Standard Uncertainty;  $U_c$ )

$$U_c = \sqrt{(RSU_{cal})^2 + (RSU_{IQC})^2} \quad \text{ไม่มีหน่วย}$$

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 9 ใน 10

4. กำหนดหาความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ขยาย (Expanded Relative Uncertainty;  ${}_R U$ )

$${}_R U = k \times U_c \quad ; k = 2 \text{ ที่ } 95\% \text{ CI (Confidence Interval)}$$

5. การรายงานผล

เนื่องจากความไม่แน่นอนขยาย (Expanded Uncertainty) ของผลวิเคราะห์จะเท่ากับผลวิเคราะห์ที่ส่งตรวจที่วัดได้

$\times {}_R U$  หน่วยวัด

การรายงานผล : รายงานผลที่วัดได้  $\pm$  ความไม่แน่นอนขยาย หน่วยวัด

พร้อมข้อความ “ความไม่แน่นอนขยายที่รายงานนี้ได้จากการคูณความไม่แน่นอนรวมด้วยตัวประกอบ ครอบคลุม ( $k = 2$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%”

13. ค่าอ้างอิงในคนปกติ

อายุ	Preterm Newborn	Term Newborn
24 ชั่วโมง	1.0 – 8.0 mg/dl	2.0 - 6.0 mg/dl
	38.6 – 308.9 mmol/L	77.2 – 231.7 mmol/L
48 ชั่วโมง	6.0 -12.0 mg/dl	6.1 - 10.0 mg/dl
	231.7 – 463.3 mmol/L	231.7 – 386.1 mmol/L
3-5 วัน	10.0 - 14.0 mg/dl	4.0 – 8.0 mg/dl
	386.1 – 540.5 mmol/L	154.4 – 308.9 mmol/L

14. ขอบเขตของค่าของผู้ป่วยที่รายงาน

0-30 mg/dl

15. ค่าวิกฤต

MB > 18 mg/dl ในเด็กแรกคลอด

การรายงานค่าวิกฤตอ้างอิง ตามคู่มือ ระเบียบวิธีปฏิบัติ QP-LAB-002 (การรายงานผลทางห้องปฏิบัติการ )

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-CHE-004
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจวิเคราะห์ Bilirubin ด้วยเครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ Apel รุ่น BR-501	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 10 ใน 10

## 16. การแปลผล (Interpretation)

ภาวะ Bilirubin ในเลือดสูงกว่าปกติ เรียกว่า Hyperbilirubinemia ในเด็กแรกคลอด เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เนื่องจากกระบวนการทำงานของตับและการขับของเสียของเด็กยังไม่สมบูรณ์ต้องใช้เวลาให้ร่างกายทำงานได้อย่างปกติ

## 17. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

ปฏิบัติตามหลักสากลในการปฏิบัติงานเกี่ยวกับโรคติดเชื้อ ต้องสวมถุงมือและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

## 18. สิ่งที่เป็นสาเหตุของความแปรปรวน

-การเปลี่ยนหลอดไฟใหม่

## 19. เอกสารอ้างอิง ( Reference )

1. SD-CHE-004 พรทิพย์ โล่ห์เลขา. เคมีคลินิกประยุกต์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร:สำนักพิมพ์ชัยเจริญ 2533:203
2. SD-CHE-019 บริษัทไบโอเซ็น จำกัด. คู่มือการใช้เครื่อง Bilirubin meter ยี่ห้อ APEL รุ่น BR- 501. กรุงเทพมหานคร;2559 .หน้า 1-2