

วิธีปฏิบัติ

Work Instruction

เรื่อง การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยหลักการ DCIP
(Dichlorophenol Indophenol precipitation Test)



กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

รหัสเอกสาร WI - HEM - 010	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3
ผู้จัดทำ	<p> (นางสาวพิศุทธิณี กันธารักษ์) นักเทคนิคการแพทย์</p> <p>1 ก.พ. 64 วัน / เดือน / ปี</p>
ผู้ทบทวน	<p> (นางสาวศิริพร นันตา) ผู้จัดการวิชาการ</p> <p>1 ก.พ. 64 วัน / เดือน / ปี</p>
ผู้อนุมัติ	<p> (นายครรชิต กิติมา) ผู้จัดการคุณภาพ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์</p> <p>1 ก.พ. 64 วัน / เดือน / ปี</p>

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-HEM-010
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยวิธี DCIP	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 3 ใน 7

การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอี(HbE)ด้วยวิธี DCIP

1. วัตถุประสงค์การทดสอบ

เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการดำเนินการตรวจหลักวิเคราะห์ในการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอี อันนำมาซึ่งรูปแบบการปฏิบัติเดียวกัน เพื่อให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง

2. คำย่อและนิยาม

HbE ย่อมาจาก Hemoglobin E หรือ Haemoglobin E

DCIP ย่อมาจาก Dichlorophenol Indophenol precipitation Test

3. หลักการทดสอบ

ผู้ที่เป็น Hb E-trait, Beta-thal/Hb E disease และ Homozygous Hb E จะมีปริมาณของ Hb E 10-20%, 30-60% และ >60% ตามลำดับ ซึ่ง Hb E นี้ เมื่อผ่าน microcolumn ที่มีคุณสมบัติเป็น Anion exchanger จะถูก elute ออกมาก่อน Hb F, A, Bart's และ H ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า อย่างชัดเจน โดยปริมาณ Hb E ที่ elute ได้นั้น จะแปรผันตรงตามปริมาณ Hb E ที่มีอยู่ในเม็ดเลือดแดง จึงสามารถแยกผู้ที่ไม่เป็นพาหะ Hb E ออกจากผู้ที่เป็น Hb E trait, Beta-thal/Hb E disease และ Homozygous Hb E ได้

Hb E ($\alpha 2\beta 226\text{Glu-Lys}$) เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 26 ของสาย β -globin เปลี่ยนจากกรดกลูตามิก (Glutamic : Glu) เป็นไลซีน (Lysine:Lys) ทำให้โครงสร้างที่จุดสัมผัสระหว่างสายโกลบิน $\alpha\beta 1$ ไม่แข็งแรง เมื่ออยู่ในสารละลาย DCIP จะถูกออกซิไดซ์ให้กลายเป็นโกลบินสายเดี่ยวที่มีซัลไฟไฮดริลอิสระจึงตกตะกอนได้ง่าย และเร็วกว่าฮีโมโกลบินปกติ โดยปริมาณความขุ่นของตะกอนที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างเลือดของ Hb E homozygote จะมากกว่าของพาหะ Hb E

4. คุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์

Sensitivity and Specificity for Hb E 100%

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-HEM-010
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยวิธี DCIP	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 4 ใน 7

5. สิ่งส่งตรวจ และรายละเอียดที่ต้องตรวจสอบ

5.1 สิ่งส่งตรวจ

5.1.1 Whole blood EDTA ปริมาตร 2-3 ml (ตามที่ระบุข้างหลอด)

5.2 วิธีการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจ

5.2.1 นำส่งห้องปฏิบัติการไม่เกิน 3 วัน หลังการเก็บตัวอย่าง โดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

5.3 รายละเอียดอื่นๆ ที่ต้องตรวจสอบก่อนการวิเคราะห์

5.3.1 ชื่อ สกุลคนไข้ ในใบส่งตรวจและสิ่งส่งตรวจต้องสอดคล้องกัน

5.3.2 รหัสผู้ป่วย เช่น HN เป็นต้น

5.3.3 หมายเลข Bar code ระบุชื่อ สกุล และรายการทดสอบถูกต้อง

5.3.4 สภาพสิ่งส่งตรวจ เป็น EDTA blood เก็บไม่นานเกิน 3 วัน และนำส่งโดยการแช่เย็น ไม่พบการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดงแบบ Complete hemolysis

6. ประเภทของภาชนะบรรจุและสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

EDTA tube

7. เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้

7.1 KKU-DCIP-Clear (provided)

7.2 Positive control (Hb typing :EA sample)

7.3 Negative control (Hb typing :A2A normal sample)

7.4 Timer (not - provided)

7.5 Waterbath or Heating block (not - provided)

7.6 Pipette 20 ul

8. วิธีการสอบเทียบ

8.1 การสอบเทียบ

8.1.1 ไม่มี

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-HEM-010
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยวิธี DCIP	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 5 ใน 7

9. วิธีการตรวจวิเคราะห์

- 9.1 ผสมตัวอย่างเลือด 20 ul ในหลอดน้ำยา KKU-DCIP 2 ml ซึ่งเป็นหลอดทดลองพลาสติกขนาด 12x75 mm ปิดฝาหลอด invert ให้เข้ากัน
- 9.2 หากเลือดของผู้ป่วยมี Hb < 10 g% ให้เปลี่ยนมาใช้ packed red cell 25 ul
- 9.3 นำไปอุ่นใน waterbath หรือ Heating block ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 9.4 หยดปฏิกิริยาโดยเติม Clearing solution 20 ul ที่อุณหภูมิห้อง
- 9.5 อ่านผลการตรวจของ elution ที่ได้ในข้อ 9.4 (อ่านผลโดยดูความขุ่นของสารละลายด้วยตาเปล่า หรือมองผ่านหลอดไฟจะอ่านผลง่ายและชัดเจนขึ้น)

10. วิธีการควบคุมคุณภาพ

10.1 การควบคุมคุณภาพภายใน

1) วิธีการควบคุมคุณภาพภายใน

1. ทำ Positive control และ Negative control ควบคู่ไปกับการทดสอบทุกครั้ง โดยทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบตัวอย่างตรวจ
2. สารมาตรฐาน (Control material)
 - a. ตัวอย่างควบคุมผลลบ (Negative control) เป็นตัวอย่างที่มีชนิดของ Hb เป็น A2A
 - b. ตัวอย่างควบคุมผลบวก(Positive control) เป็นตัวอย่างที่มีชนิดของ Hb เป็น EA , EE

10.2 การควบคุมคุณภาพภายนอก

เข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอี ร่วมกับศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ (3 ครั้งต่อปี)

11. สิ่งรบกวนการทดสอบ

ตัวอย่างเลือดที่มีภาวะ Hemolyzed specimen และตัวอย่างเลือดเก่า

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-HEM-010
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยวิธี DCIP	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 6 ใน 7

12. หลักการของวิธีคำนวณผล รวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด

ไม่มี

13. ค่าอ้างอิงในคนปกติ

ค่าอ้างอิง : Negative

14. ขอบเขตของค่าของผู้ป่วยที่รายงาน

ไม่มี

15. ค่าวิกฤต

ไม่มี

16. การรายงานและการแปลผลการทดสอบ

16.1 รายงานข้อมูลเบื้องต้นของการทดสอบ โดยรายงาน

16.1.1 ชื่อ-สกุล, H.N.

16.1.2 วันที่ส่งตรวจ และวันรายงานผล

16.1.3 รายการทดสอบที่ส่งตรวจ

16.2 การรายงานผลการทดสอบ

สารละลายใสไม่มีตะกอน = Negative

สารละลายมีความขุ่น = Positive

17. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

ควรสวมถุงมือยาง และเลือกราวนขณะปฏิบัติงานและปฏิบัติตามหลัก Universal Precautions

18. สิ่งที่เป็นสาเหตุของความแปรปรวน

Unstable Hemoglobin อาจให้ผล false positive ได้

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-HEM-010
	วิธีปฏิบัติ(Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยวิธี DCIP	
	ทบทวน / แก้ไขครั้งที่ 3	หน้าที่ 7 ใน 7

19. เอกสารอ้างอิง

บุษบา เตชะชัยนรินทร์. การตรวจกรองฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-DCIP Clear โดยใช้ Heating block. แบบรายการประกอบคำขอประเมินผลงาน, 2551.