# แผนกพยาธิวิทยา

# โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

## วิธีปฏิบัติงาน

## เรื่อง

# การตรวจ Direct bilirubin

WI-LAB-017

แก้ไขครั้งที่ 0

ผู้จัดทำ สิปปนนท์

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน ร.ต.หญิง อรกัญญา

( อรกัญญา ทรงทอง )

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ พ.อ.

( ฉัตรมงคล คนขยัน )

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

## 1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Direct bilirubin ในตัวอย่าง serum, plasma ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Dimension® clinical chemistry system

1.2 เพื่อใช้ในการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยโรคตับ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตก และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางด้านกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย รวมถึงผู้ป่วยที่ตับอักเสบและเป็นโรคเกี่ยวกับกระเพาะปัสสาวะ

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

อาศัยหลักการ Modification of the Jendressik Grof โดย Conjugated Bilirubin ใน sample เมื่อทำปฏิกิริยากับ Diazotized Sulfanilic Acid Chromophore ซึ่งจะดูดกลืนแสงที่ 540 nm. จะถูกวัดโดยใช้ Bichromatic (540 และ 700 nm) Endpoint Technique มีการวัด Serum blank กำจัดสารรบกวนซึ่งจะ Form non Billirubin Pigment (Diazotized Sulfanilic Acid เกิดจากการรวมตัวกันระหว่าง Sodium Nitrite กับ Sulfanilic Acid ที่ pH ต่ำ )

Conjugated bilirubin + Diazotized sulfanilic acid ⟶ Red chromophore (absorbs at 540 nm)

## 3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

**Specific Performance Characteristics**

All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed (refer to your Dimension® Operator's Guide).

| | Precision[11,g,h] | | |
|---|---|---|---|
| | Mean | Standard Deviation (% CV) | |
| Material | mg/dL [µmol/L] | Repeatability | Within-Lab |
| Serum pool | 18.2 [311] | 0.27 [6] (1.5) | 0.47 [9] (2.6) |
| Bio-Rad Lyphochek® Control Level 1 | 0.3 [5] | 0.01 [0.2] (1.8) | 0.01 [0.2] (2.9) |
| Bio-Rad Lyphochek® Control Level 2 | 1.5 [25] | 0.03 [0.5] (2.3) | 0.04 [0.7] (2.8) |
| MAS® Liquid Bilirubin QC Level 3 | 6.3 [108] | 0.1 [2] (1.5) | 0.2 [3] (2.4) |

g. Reproducibility testing was done in accordance with the CLSI/NCCLS Approved Guideline for Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (EP5-A2, 2004).

h. Specimens at each level were analyzed in duplicate, twice a day, for 20 days. The repeatability (within-run) and within-lab (total) standard deviations were calculated by analysis of variance method.

Lyphochek® is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA 92618.
MAS® is a registered trademark of Medical Analysis Systems, Inc., Camarillo, CA 93012.

**Method Comparison Regression Statistics[i]**

| Comparative Method | Slope | Intercept mg/dL [µmol/L] | Correlation Coefficient | n[j,k] |
|---|---|---|---|---|
| Dimension® DBIL | 1.02 | -0.02 [-0.3] | 1.000 | 156 |
| Vitros™ BuBC (conjugated) | 0.911 | -0.096 [-1.6] | 0.989 | 156 |

i. Model equation for regression statistics is: results for Dimension® system = [slope x comparative method results] + intercept.
j. The range of DBI values in the Dimension® correlation study was: 0.04 to 15.7 mg/dL [0.7 to 269 µmol/L].
k. The range of DBI values in the Vitros™ BuBc correlation study was: 0.02 to 15.7 mg/dL [0.3 to 269 µmol/L].

Vitros™ is a trademark of Ortho Clinical Diagnostics, Inc., Rochester, NY 14626.

**Recommended Sample Types**

Matched human serum and plasma samples were analyzed for direct bilirubin. As shown in the table below, no clinically significant difference was observed between different sample types using ordinary least squares analysis to fit the regression line.

## 4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 ชนิดตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด(blood) ซึ่งถูกเก็บไว้ในภาชนะบรรจุตามข้อ 6. โดยมีปริมาณที่ต้องการใช้ดังนี้

4.1.1 เลือด(blood) ต้องการประมาณ 2 มล. หรือตามข้อกำหนดของแต่ละภาชนะบรรจุที่เลือกใช้

4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (analytical sample) ได้แก่ plasma, serum, ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ (dead volume) ประมาณ 200 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน small sample cup), 250 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน sample cup) และ 1.5 mL(สำหรับการบรรจุใน sample tube ขนาด 13x75 mm.) แต่ปริมาตรที่ใช้ตรวจวิเคราะห์จริงครั้งละเท่ากับ 10 ไมโครลิตร

## 5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

ไม่มี

## 6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Direct bilirubin ได้แก่

6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็ง Heparin (หลอดจุกเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ Direct bilirubin ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือด

แข็ง ใช้ในกรณีที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดจากข้อ 6.1.1 และ 6.1.3

6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Gel& clot activator tube(จุกเหลืองทอง), Clot activator tube(จุกแดง) ใช้ในกรณีที่ส่งตรวจจากแผนกห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ไตเทียม และแผนกตรวจสุขภาพ

6.2 ความคงตัวของระดับ Direct bilirubin ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

สิ่งส่งตรวจทั้ง ซีรั่มและพลาสมาควรปั่นแยกภายใน 2 ชั่วโมงและหลีกเลี่ยงการสัมผัสแสง โดยสิ่งส่งตรวจที่ปั่นแยกแล้วจะสามารถคงสภาพได้นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และคงสภาพได้นาน 7 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C นอกจากนี้ยังสามารถคงสภาพได้นาน 6 เดือนเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -20°C หรือต่ำกว่า -20°C โดยหลีกเลี่ยงการสัมผัสแสงเมื่อสิ่งส่งตรวจถูกเก็บไว้เกิน 8 ชั่วโมง

## 7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ : Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System

7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : DBI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF125

7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ TBI/DBI Calibrator, Cat. No. DC167

7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น Direct bilirubin 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed and Unassayed Multiqual®

7.5 Auto pipette, Volumetric pipette และ Pipette tip

7.6 Distilled water

7.7 ภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมา ได้แก่ Sample cup, Small sample cup, Plastic plain tube

7.8 sample segment

## 8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารถนอมรักษาส่วนประกอบของน้ำยา ไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

8.3 Flex น้ำยาที่ตรวจเสร็จแล้วให้ทิ้งในถังขยะเคมี

**9. ขั้นตอนการสอบเทียบ(calibration procedures)**

ขั้นตอนการสอบเทียบให้ดำเนินการตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงาน Standard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)

9.1 ใช้สารเทียบ TBI/DBI Calibrator, Cat. No. DC167 ซึ่งมีระดับค่า Direct bilirubin สอบกลับ (Traceability) ถึง NIST SRM 916

9.2 บันทึกข้อมูลของสารเทียบ(Calibration Reference material or Calibrator)แต่ละรุ่นที่ผลิต (lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารเทียบ TBI/DBI Calibrator (PI-LAB- 121)

9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารเทียบ TBI/DBI Calibrator (PI-LAB-121)

9.4 ทำการสอบเทียบ(calibration) ทุก 90 วัน และเมื่อเปลี่ยนน้ำยา Lot. ใหม่ โดยใช้สารเทียบจำนวน 3 ระดับ ทำซ้ำระดับละ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

9.5 ให้ทำการสอบเทียบซ้ำ(re-calibration) เมื่อมีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQAS บ่งชี้ว่ามี systematic error

**10. ขั้นตอนของกระบวนงาน (procedural steps)**

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)

10.1.1 นำน้ำยา DBI Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา

10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา DBI Flex® reagent cartridge ออกจากห่อ ซึ่งมีขนาดบรรจุ 40 tests/Flex

10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละกล่องในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)

10.1.4 นำ Flex น้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ ซึ่งน้ำยาทุกหลุมตั้งแต่หลุมที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิด

สนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลุมที่1-4ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 2 วัน และหลุมที่5-8 ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุ 30 วัน

10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา DBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-017)

10.2 สอบเทียบ(Calibration) ตามข้อ 9.

10.3 ตรวจสอบความถูกต้องของการใส่ภาชนะบรรจุตัวอย่างลงไปใน Sample segment โดยเลือกชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างให้ตรงกับชนิดของ Sample segment โดยเฉพาะ Primary tube แต่ละขนาดต้องวางให้ตรงกับสีของ adaptor ใน sample segment

10.4 ตรวจสอบความความเพียงพอของการบรรจุตัวอย่างตามชนิดภาชนะบรรจุ ได้แก่ Small sample cup(ควรบรรจุ 0.20-1 mL), sample cup(ควรบรรจุ 0.25-1.5 mL) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกก้น cup และกรณีใช้ Primary tube(ขนาดบรรจุ 5, 7 และ 10 mL ควรบรรจุตัวอย่างตรวจให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดสูงจากก้นหลอดเกิน 3 cm.)

10.5 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างไม่มี barcode และมีปริมาตรสิ่งส่งตรวจรวมทั้งหมดแล้วน้อยกว่า 1.5 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น sample cup หรือ Small sample cup (SSC) แล้วเปลี่ยน Mode เลือกชนิดภาชนะให้ตรงกับชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างที่ใช้

10.6 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างมี barcode และมีปริมาณสิ่งส่งตรวจน้อยกว่า 1.5 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น Small sample cup(SSC) และเลือกใช้ Sample segment ที่ถูกกำหนดให้ใช้กับ SSC ไว้แล้วใน System Configuration Menu ของเครื่องวิเคราะห์

10.7 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ตามวิธีการในข้อ 11.

10.8 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วย ตามวิธีการที่ระบุไว้ในข้อ 10.7 ของคู่มือปฏิบัติงานเรื่องStandard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)

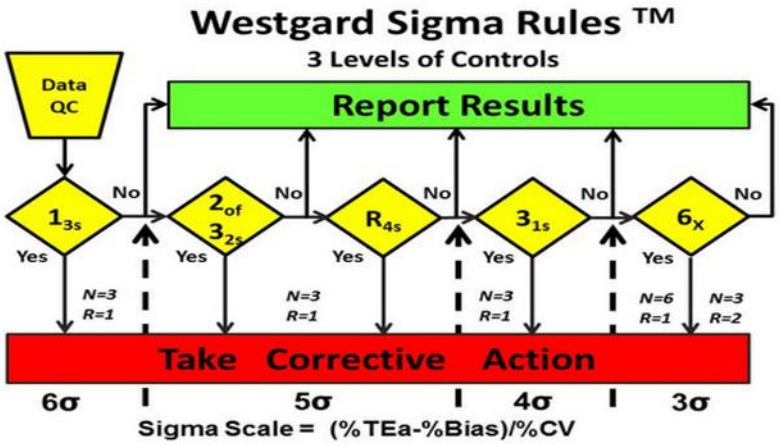
10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลงที่ sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ

**11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)**

การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (Internal Quality Control, IQC) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดและเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ ดังนี้

11.1 ใช้ Sigma metric เป็น QC planning tool

11.2 ใช้สารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed and Unassayed Multiqual® ตรวจวิเคราะห์ทั้ง 3 ระดับพร้อมกันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้งในช่วงเวลาตอนเช้าของแต่ละวันทุกวันก่อนตรวจตัวอย่างผู้ป่วย (N=3, R=1 หมายถึง ความถี่ 1 ครั้งใน 24 ชั่วโมง) แต่ถ้า Performance ของการตรวจ Direct bilirubin มีระดับ Sigma metric น้อยกว่า 4.0 ควรเพิ่มความถี่ในการทำ IQC เป็นวันละ 2 ครั้ง(N=3, R=2 ในที่นี้หมายถึงทำตอนเช้า 1 ครั้ง และตอนบ่าย 1 ครั้ง)




11.3 ก่อนใช้งานสารควบคุมคุณภาพต้องตรวจสอบสภาพของสารควบคุมคุณภาพที่เปิดใช้งานอย่างน้อย 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ตรวจสอบในวันแรกที่เปิดใช้งาน ครั้งที่ 2 ตรวจสอบช่วงระหว่างที่เก็บรักษา(วันที่ 3-4 หลังวันเปิดใช้งาน) ครั้งที่ 3 ตรวจสอบในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่ใช้งานหมด พร้อมลงบันทึกผลการตรวจสอบในแบบบันทึกตรวจสอบสภาพของวัสดุควบคุมคุณภาพ(FM-LAB-311)

11.4 ใช้ค่า Allowable total error(TEa) ของการทดสอบ Direct bilirubin = ±20% (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

11.5 ติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CVbd) และ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 6.67%

11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ Glucose ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอต่อเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟในเมนู Process Control /Method Review ของเครื่อง Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System (EXL200-LAB-003) หรือติดตามตรวจสอบผล IQC ได้ในโปรแกรม Bio-Rad's Unity Real Time(URT-LAB-001)

11.7 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบมีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้งดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกปฏิบัติการแก้ไขและมาตรการป้องกันที่ทำไปในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025)

## 12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

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

12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม EQAS Clinical Chemistry(Monthly) Program ซึ่งให้บริการโดย BIO-RAD มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในห้วงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี

12.2 บุคลากรห้องปฏิบัติการดำเนินการตรวจตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS พร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง 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 เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อหารือกันเมื่อผลการประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

## 13. สิ่งรบกวน (interferences)

**Interfering Substances**

The DBI method was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A.[9] Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in mg/dL [µmol/L]. Bias exceeding 10% is considered interference.

| Interferent | Interferent Concentration SI Units | Direct Bilirubin SI Units | Bias SI units | Bias[f] % |
|---|---|---|---|---|
| Albumin | 6 g/dL [60 g/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.04 mg/dL [0.7 µmol/L] | -11 |
| Albumin | 6 g/dL [60 g/L] | 5.8 mg/dL [99 µmol/L] | -0.8 mg/dL [14 µmol/L] | -13 |
| Ascorbic acid | 5 mg/dL [227 µmol/L] | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | +0.03 mg/dL [0.5 µmol/L] | +11 |
| Carbenicillin | 3 mg/dL [7.1 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | +0.04 mg/dL [0.7 µmol/L] | +11 |
| Cholesterol | 500 mg/dL [12.9 mmol/L] | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -0.03 mg/dL [0.5 µmol/L] | +11 |
| Hemoglobin | 20 mg/dL [0.013 mmol/L](monomer) | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.2 mg/dL [3 µmol/L] | -44 |
| Hemoglobin | 50 mg/dL [0.03 mmol/L](monomer) | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -0.25 mg/dL [4 µmol/L] | -83 |
| Hemoglobin | 50 mg/dL [0.03 mmol/L](monomer) | 3.0 mg/dL [51 µmol/L] | -0.7 mg/dL [12 µmol/L] | -23 |
| Hemoglobin | 50 mg/dL [0.03 mmol/L](monomer) | 5.0 mg/dL [86 µmol/L] | -0.8 mg/dL [14 µmol/L] | -16 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -100 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 3.0 mg/dL [51 µmol/L] | -1.0 mg/dL [17 µmol/L] | -33 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 5.0 mg/dL [86 µmol/L] | -1.3 mg/dL [22 µmol/L] | -26 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 14.1 mg/dL [241 µmol/L] | -1.6 mg/dL [27 µmol/L] | -11 |
| Immunoglobulin G (IgG) | 5 g/dL [50 g/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.08 mg/dL [1 µmol/L] | -20 |
| Levodopa | 300 µg/mL [1.52 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | +0.3 mg/dL [5 µmol/L] | +76 |
| Lipemia (Intralipid®) | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.09 mg/dL [2 µmol/L] | -22 |
| Oxytetracycline | 50 mg/dL [0.10 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | +0.05 mg/dL [0.9 µmol/L] | +13 |
| Rheumatoid factor (RF) | 510 IU/mL [510 IU/mL] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.06 mg/dL [1 µmol/L] | -14 |
| Total protein | 12 g/dL [120 g/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.04 mg/dL [0.7 µmol/L] | -11 |
| Total protein | 12 g/dL [120 g/L] | 5.8 mg/dL [99 µmol/L] | -1.4 mg/dL [24 µmol/L] | -13 |

f. Analyte results should not be corrected based on this bias.

Intralipid® is a registered trademark of Fresenius Kabi AG, Bad Homburg,Germany.

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

14.1 การคำนวณผลให้เป็น SI Units

| Conventional Unit | Conversion Factor | SI Unit |
|---|---|---|
| mg/dL | 17.1 | µmol/L |

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

การตรวจหา Direct bilirubin ใช้วิธี Photometric บนเครื่อง Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ซึ่งมีโปรแกรมของเครื่องคำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจหาระดับ Direct bilirubin ในตัวอย่างตรวจเปลี่ยนเป็นค่าความเข้มข้นของ Direct bilirubin โดยใช้สมการ Linear method ที่ได้จากผลการสอบเทียบ ดังนี้

$$\text{Conc} = (C_1 \text{ x } \Delta\text{Abs}) + C_0$$
$$Y = mx + b$$

Linear method

$C_0$ = ค่า intercept = b, $C_1$ = slope = m, delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)

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

ค่าปกติใน Serum หรือ Plasma คือ 0.0-0.2 mg/dL

**16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้(reportable interval of examination results)**

ค่า Analytical Measurement Range ของ Direct bilirubin คือ 0.05 – 16.0 mg/dL

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

ถ้าผลการทดสอบ Direct bilirubin > 16.0 mg/dL สามารถเลือกวิธีการเจือจางตัวอย่างได้ 2 วิธี ดังนี้

17.1 การเจือจางเองโดยผู้ตรวจวิเคราะห์(manual dilution) ให้เจือจางตัวอย่างด้วย Reagent grade water(RGW) เช่น ถ้าเจือจางตัวอย่างเป็น 1:2(ใช้ตัวอย่าง 1 ส่วน ผสมกับ RGW 1 ส่วน) ให้กำหนดค่า dilution factor = 2 ในเครื่องตรวจวิเคราะห์เพื่อให้โปรแกรมในระบบเครื่องมือคำนวณค่าให้ หรืออาจเลือกใช้วิธีไม่ต้องกำหนดค่า dilution factor ในเครื่องตรวจวิเคราะห์ แต่ผู้ตรวจวิเคราะห์ต้องคำนวณค่าเองโดยใช้ค่าที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างที่เจือจางเป็น 1:2 แล้วคูณด้วย dilution factor = 2 เป็นต้น

17.2 การเจือจางอัตโนมัติโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ (autodilution) เมื่อเลือกใช้ auto-dilution feature ซึ่งใช้ autodilution volume = 5 µL เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการคำนวณค่าผลการทดสอบออกมาให้หลังจากการตรวจวิเคราะห์สิ้นสุดแล้ว

**18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)**

ไม่มี

**19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)**

19.1 ค่า Direct bilirubin ที่ต่ำกว่าปกติ

ค่า Direct bilirubin ที่ต่ำกว่าปกติ อาจแสดงผลได้ว่า มีการขับทิ้ง 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 นิ่วในถุงน้ำดีที่ไปปิดช่องทางท่อถุงน้ำดี เนื้องอกที่ตับอ่อน จึงเป็นผลทำให้ Direct bilirubin ไหลผ่านออกไปเป็นน้ำดีไม่ได้และคับคั่งท่วมท้นจากตับเข้าสู่กระแสเลือด

19.2.2 อาจเกิดการอุดตันของท่อน้ำดีภายในตับเอง น้ำดีจึงไม่สามารถไหลผ่านออกจากตับมาสู่ถุงน้ำดีได้ เป็นผลทำให้ Direct bilirubin ไม่ถูกนำไปใช้ผลิตเป็นกรดน้ำดี จึงทำให้ล้นออกสู่กระแสเลือดอย่างมาผิดปกติ โดยการอุดตันของท่อน้ำดีภายในตับนั้นอาจเกิดจากโรคตับ (อาจเกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์), ตับกำลังเสียหายจากแบคทีเรียบางชนิด, ตับแข็งระยะเริ่มต้นจากบริเวณ

ท่อน้ำดี, ตับอักเสบจากเชื้อไวรัส, เกิดอาการบวมอักเสบหรือมีการติดเชื้อเกิดขึ้นที่ท่อน้ำดีในชั้นต้น, เกิดจากโลหิตในร่างกายได้เกิดการติดเชื้อ, ร่างกายได้รับสารอาหารด้วยวิธีการให้ผ่านสายน้ำเกลือมานานเกินไป, การตั้งครรภ์ เป็นต้น

19.2.3 อาจเกิดโรคสำคัญขึ้นภายในตับเอง เช่น โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคมะเร็งตับ อาการฟกช้ำหรือได้รับการผ่าตัด ฯลฯ จึงทำให้ตับหมดสมรรถภาพที่จะนำ Direct bilirubin ไปผลิตเป็นกรดน้ำดีได้ จึงส่งผลต่อเนื่องทำให้ Direct bilirubin ล้นออกจากตับเข้าสู่กระแสเลือดมากผิดปกติ

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), คลอร์โปรมาซีน (Chlorpromazine), อิริโทรมัยซิน (Erythromycin), ไอโซไนอาซิด (Isoniazid)

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

**20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)**

20.1 น้ำยา (Reagent)

20.1.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ

20.1.2 เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน Flex reagent cartridge อันใหม่

20.1.3 มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ

20.2 วัสดุสอบเทียบ (Calibrator)

20.2.1 เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิดสัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิดพลาด(การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาที โดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายให้ได้อุณหภูมิห้อง(freeze-thaw)ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก(ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator

20.2.2 มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นาน หรือนำ Calibrator ที่เหลือซึ่งผ่านการใช้แล้วมาใช้สอบเทียบซ้ำอีก

20.2.3 เปลี่ยน lot ใหม่

20.2.4 เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ

20.2.5 มีฟองอากาศ

20.2.6 ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

20.3.1 แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน (ควรเปลี่ยนทุกๆ 6 เดือน)

20.3.2 ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น

20.3.3 Windows สกปรก

20.3.4 Probe สกปรก

20.3.5 กระแสไฟฟ้าไม่คงที่

20.3.6 เลยเวลา Calibration (วงรอบการทำไม่เกิน 90 วัน)

20.3.7 Measurement syringe รั่ว/เสื่อม

20.3.8 หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ หรือเปลี่ยนอะไหล่ใหม่ เช่น source Lamp, reagent probe, sample probe แล้วไม่ได้ calibration ใหม่

20.3.9 ทำ maintenance check หรือทำ preventive maintenance เลยวงรอบหรือไม่ทำตามเงื่อนไขคำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด

20.4 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (Sample)

20.4.1 ตัวอย่างมีการ clot ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องวิเคราะห์

20.4.2 ตัวอย่างมีการระเหยเนื่องจากตั้งทิ้งไว้นานเกินไปก่อนถูก sample probe ดูดไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ sample cup/small sample cup

## 21. เอกสารอ้างอิง(references)

21.1 ใบแทรกน้ำยา DBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-017)

21.2 SOP For Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)

21.3 ใบแทรกสารเทียบ TBI/DBI Calibrator (PI-LAB-121)

21.4 Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-007)

21.5 ใบแทรกสารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed and Unassayed Multiqual® (PI-LAB-130)

21.6 การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)

21.7 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

**22. ภาคผนวก**

22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกน้ำยา DBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-017)

SIEMENS

REF DF125

PI-LAB-017/00(01/10/2560)

**Dimension®** clinical chemistry system

# Flex® reagent cartridge

**DBI**

See shaded sections: Updated information from 2007-01 version.

**Issue Date 2008-04-07**

## Direct Bilirubin

**Intended Use:** The DBI method for the Dimension® clinical chemistry system is an *in vitro* diagnostic test intended to quantitatively measure direct (conjugated) bilirubin in human serum and plasma. Measurements of direct bilirubin are used in the diagnosis and treatment of liver, hemolytic, hematological, and metabolic disorders, including hepatitis and gall bladder disease.

**Summary:** There are at least four distinct bilirubin fractions that make up total bilirubin in serum. The direct reacting fractions are mono- and diconjugated bilirubin (β- and Y-bilirubin) and the delta fraction (δ-bilirubin), which is tightly bound to albumin. Unconjugated bilirubin (α-bilirubin) is water-insoluble and reacts only after addition of an accelerator such as caffeine.[1] The DBI method is a modification of the Doumas reference method,[2] which is a modification of the diazo method described by Jendrassik and Grof in 1938.[3]

**Principles of Procedure:** Diazotized sulfanilic acid is formed by combining sodium nitrite and sulfanilic acid at low pH. The sample is diluted in 0.5M HCl. A blank reading is taken to eliminate interference from non-bilirubin pigments. Upon addition of the diazotized sulfanilic acid, the conjugated bilirubin is converted to diazo-bilirubin, a red chromophore which absorbs at 540 nm and is measured using a bichromatic (540, 700 nm) endpoint technique.

Conjugated bilirubin + Diazotized sulfanilic acid ⟶ Red chromophore (absorbs at 540 nm)

### Reagents

| Wells[a] | Form | Ingredient | Concentration[b] |
|---|---|---|---|
| 1 – 4 | | Empty[c] | |
| 5 | Liquid | Sodium nitrite | 72.5 mM |
| 6 | Liquid | Hydrochloric acid | 500 mM |
| 7 – 8 | Liquid | Sulfanilic acid | 25.89 mM |
| | | Hydrochloric acid | 132 mM |

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.
b. Nominal value per well in a cartridge.
c. Diazotized sulfanilic acid will be prepared in these wells automatically by the instrument.

**Precautions:** Used cuvettes or vessels contain human body fluids; handle with appropriate care to avoid skin contact or ingestion.

For *in vitro* diagnostic use.

**Reagent Preparation:** All reagents are liquid and ready to use.

**Store at:** 2 – 8 °C

**Expiration:** Refer to carton for expiration date of individual unopened reagent cartridges. Sealed wells on the instrument are stable for 30 days.

**Open Well Stability:** 2 days for wells 1 – 4 (once the diazotized sulfanilic acid has been prepared)
30 days for wells 5 – 8

**Specimen Collection and Handling:** Serum, lithium heparin plasma, and EDTA plasma can be collected by normal procedures.[4,5]

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.[6]

Serum and plasma specimens should be separated from cells within 2 hours after venipuncture.[4]

Specimens should be free of particulate matter. To prevent the appearance of fibrin in serum samples, complete clot formation should take place before centrifugation.[6] Clotting time may be increased due to thrombolytic or anticoagulant therapy.

Bilirubin is photosensitive. Care should be taken to protect sample from both daylight and fluorescent light to avoid photodegradation. Separated specimens are stable for 8 hours at room temperature, 7 days at 2 – 8 °C or 6 months frozen at -20 °C or colder. Protection from light is required when specimens are stored for more than 8 hours.[7]

Hemolysis may depress DBI results. Follow your laboratory's procedures for reporting results when the sample is hemolyzed.

### Procedure

#### Materials Provided

DBI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF125

#### Materials Required But Not Provided

TBI/DBI Calibrator, Cat. No. DC167

Quality Control Materials

Purified Water Diluent (Cat. No. 710615901) or Reagent grade water

#### Test Steps

Sampling,[d] reagent delivery, mixing, processing and printing of results are automatically performed by the Dimension® system. For details of this processing, refer to your Dimension® Operator's Guide.

d. The sample container must contain sufficient quantity to accommodate the sample volume plus dead volume. Precise container filling is not required.

#### Test Conditions

| | Cuvette 1 |
|---|---|
| Sample Volume | 10 µL |
| Reagent 1 Volume | 25 µL |
| Reagent 2 Volume | 50 µL |
| Temperature | 37 °C |
| Wavelength | 540, 700 nm |
| Type of Measurement | Bichromatic endpoint |

#### Calibration

| | |
|---|---|
| Assay Range | 0.05 – 16.0 mg/dL [0.86 – 274 µmol/L][e] |
| Calibration Material | TBI/DBI Calibrator, Cat. No. DC167 |
| Calibration Scheme | 3 levels, n = 3 |
| Units | mg/dL [µmol/L]<br>(mg/dL x 17.1) = [µmol/L] |
| Typical Calibration Levels | 0.0, 7.0, 17.5 mg/dL [0, 120, 299 µmol/L] |
| Calibration Frequency | Every 90 days for any one lot |
| A new calibration is required | • For each new lot of Flex® reagent cartridges<br>• After major maintenance or service, if indicated by quality control results<br>• As indicated in laboratory quality control procedures<br>• When required by government regulations |
| Assigned Coefficients | $C_0$ 0.06<br>$C_1$ 0.075 |

e. Système International d'Unités [SI Units] are in brackets.

**Note:** Level 1 calibrator for DBI is not included in the TBI/DBI calibrator carton. Purified Water Diluent (Cat. No. 710615901) or Reagent grade water should be used as the Level 1 calibrator for the DBI method.

#### Quality Control

At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control material (QC) with known direct bilirubin concentrations. Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

**Results:** The instrument automatically calculates and prints the concentration of direct bilirubin in mg/dL [µmol/L] using the calculation scheme described in your Dimension® Operator's Guide.

**Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.**

**Analytical Measurement Range (AMR): 0. 05 – 16.0 mg/dL [0.86 – 274 µmol/L]**
This is the range of analyte values that can be directly measured on the specimen without any dilution or pretreatment that is not part of the usual analytical process and is equivalent to the assay range.

Samples with results in excess of 16.0 mg/dL [274 µmol/L] should be repeated on dilution.

Manual Dilution: Dilute with Reagent grade water 1:2 (1 part of sample with 1 part of Reagent grade water) to obtain results within assay range. Enter dilution factor (2). Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.

Autodilution (AD): The recommended autodilute sample volume is 5 µL for serum and plasma. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

Results less than 0.05 mg/dL [0.86 µmol/L] should be reported as "less than 0.05 mg/dL [0.86 µmol/L]".

#### Limitations of Procedure

The instrument reporting system contains error messages to warn the operator of specific malfunctions. Any report slip containing such error messages should be held for follow-up. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

A system malfunction may exist if the following 5-test precision is observed:

| DBI Concentration | SD |
|---|---|
| 0.6 mg/dL [10.3 µmol/L] | > 0.06 mg/dL [1.0 µmol/L] |
| 16.0 mg/dL [287 µmol/L] | > 0.34 mg/dL [5.8 µmol/L] |

### Interfering Substances

The DBI method was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A.[9] Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in mg/dL [µmol/L]. Bias exceeding 10% is considered interference.

| Interferent | Interferent Concentration SI Units | Direct Bilirubin SI Units | Bias SI units | Bias[f] % |
|---|---|---|---|---|
| Albumin | 6 g/dL [60 g/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.04 mg/dL [0.7 µmol/L] | -11 |
| Albumin | 6 g/dL [60 g/L] | 5.8 mg/dL [99 µmol/L] | -0.8 mg/dL [14 µmol/L] | -13 |
| Ascorbic acid | 5 mg/dL [227 µmol/L] | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | +0.03 mg/dL [0.5 µmol/L] | +11 |
| Carbenicillin | 3 mg/dL [7.1 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | +0.04 mg/dL [0.7 µmol/L] | +11 |
| Cholesterol | 500 mg/dL [12.9 mmol/L] | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -0.03 mg/dL [0.5 µmol/L] | +11 |
| Hemoglobin | 20 mg/dL [0.013 mmol/L](monomer) | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.2 mg/dL [3 µmol/L] | -44 |
| Hemoglobin | 50 mg/dL [0.03 mmol/L](monomer) | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -0.25 mg/dL [4 µmol/L] | -83 |
| Hemoglobin | 50 mg/dL [0.03 mmol/L](monomer) | 3.0 mg/dL [51 µmol/L] | -0.7 mg/dL [12 µmol/L] | -23 |
| Hemoglobin | 50 mg/dL [0.03 mmol/L](monomer) | 5.0 mg/dL [86 µmol/L] | -0.8 mg/dL [14 µmol/L] | -16 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -0.3 mg/dL [5 µmol/L] | -100 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 3.0 mg/dL [51 µmol/L] | -1.0 mg/dL [17 µmol/L] | -33 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 5.0 mg/dL [86 µmol/L] | -1.3 mg/dL [22 µmol/L] | -26 |
| Hemoglobin | 100 mg/dL [0.06 mmol/L](monomer) | 14.1 mg/dL [241 µmol/L] | -1.6 mg/dL [27 µmol/L] | -11 |
| Immunoglobulin G (IgG) | 5 g/dL [50 g/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.08 mg/dL [1 µmol/L] | -20 |
| Levodopa | 300 µg/mL [1.52 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | +0.3 mg/dL [5 µmol/L] | +76 |
| Lipemia (Intralipid®) | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.09 mg/dL [2 µmol/L] | -22 |
| Oxytetracycline | 50 mg/dL [0.10 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | +0.05 mg/dL [0.9 µmol/L] | +13 |
| Rheumatoid factor (RF) | 510 IU/mL [510 IU/mL] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.06 mg/dL [1 µmol/L] | -14 |
| Total protein | 12 g/dL [120 g/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -0.04 mg/dL [0.7 µmol/L] | -11 |
| Total protein | 12 g/dL [120 g/L] | 5.8 mg/dL [99 µmol/L] | -1.4 mg/dL [24 µmol/L] | -13 |

f. Analyte results should not be corrected based on this bias.

Intralipid® is a registered trademark of Fresenius Kabi AG, Bad Homburg,Germany.

**Expected Values: 0.0 – 0.2 mg/dL [0 – 3 µmol/L][10]**

The reference interval was validated in a confirmatory study using 30 serum samples.

Each laboratory should establish its own reference interval for conjugated bilirubin as performed on the Dimension® system.

### Specific Performance Characteristics

All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed (refer to your Dimension® Operator's Guide).

**Precision[11,g,h]**

| Material | Mean mg/dL [µmol/L] | Standard Deviation (% CV) Repeatability | Within-Lab |
|---|---|---|---|
| Serum pool | 18.2 [311] | 0.27 [6] (1.5) | 0.47 [9] (2.6) |
| Bio-Rad Lyphochek® Control Level 1 | 0.3 [5] | 0.01 [0.2] (1.8) | 0.01 [0.2] (2.9) |
| Bio-Rad Lyphochek® Control Level 2 | 1.5 [25] | 0.03 [0.5] (2.3) | 0.04 [0.7] (2.8) |
| MAS® Liquid Bilirubin QC Level 3 | 6.3 [108] | 0.1 [2] (1.5) | 0.2 [3] (2.4) |

g. Reproducibility testing was done in accordance with the CLSI/NCCLS Approved Guideline for Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (EP5-A2, 2004).

h. Specimens at each level were analyzed in duplicate, twice a day, for 20 days. The repeatability (within-run) and within-lab (total) standard deviations were calculated by analysis of variance method.

Lyphochek® is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA 92618.

MAS® is a registered trademark of Medical Analysis Systems, Inc., Camarillo, CA 93012.

**Method Comparison Regression Statistics[i]**

| Comparative Method | Slope | Intercept mg/dL [µmol/L] | Correlation Coefficient | n[j,k] |
|---|---|---|---|---|
| Dimension® DBIL | 1.02 | -0.02 [-0.3] | 1.000 | 156 |
| Vitros™ BuBC (conjugated) | 0.911 | -0.096 [-1.6] | 0.989 | 156 |

i. Model equation for regression statistics is: results for Dimension® system = [slope x comparative method results] + intercept.

j. The range of DBI values in the Dimension® correlation study was: 0.04 to 15.7 mg/dL [0.7 to 269 µmol/L].

k. The range of DBI values in the Vitros™ BuBc correlation study was: 0.02 to 15.7 mg/dL [0.3 to 269 µmol/L].

Vitros™ is a trademark of Ortho Clinical Diagnostics, Inc., Rochester, NY 14626.

### Recommended Sample Types

Matched human serum and plasma samples were analyzed for direct bilirubin. As shown in the table below, no clinically significant difference was observed between different sample types using ordinary least squares analysis to fit the regression line.

| Sample Type | n | Slope (m) | Intercept (b) | Correlation Coefficient (r) |
|---|---|---|---|---|
| Lithium heparin plasma versus serum | 25 | 0.98 | 0.23 | 0.989 |
| EDTA plasma versus serum | 25 | 0.95 | 0.08 | 0.991 |
| EDTA plasma versus lithium heparin plasma | 25 | 0.97 | -0.13 | 0.999 |


**Siemens Healthcare Diagnostics Inc.**
Newark, DE 19714, U.S.A.
**www.siemens.com/diagnostics**

EC REP **Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.**
Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD


### Hemolysis and Lipemia Information

The DBI method was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A. Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in percent. Bias exceeding 10% is considered interference.

| Substance Tested | Test Concentration SI Units | DBI Concentration SI Units % | Bias[l] |
|---|---|---|---|
| Hemoglobin[m,n] | 20 mg/dL [0.13 mmol/L] (monomer) | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -44 |
| Lipemia (Intralipid ®)[n] | 50 mg/dL [0.57 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | <10 |
| | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 0.4 mg/dL [7 µmol/L] | -22 |

l. Analyte results should not be corrected for this bias.

m. Samples with hemolysis greater than 50 mg/dL [0.03 mmol/L] of hemoglobin will be flagged with a "Hemoglobin" error message. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

n. Samples with Intralipid® concentrations greater than 600 mg/dL [6.78 mmol/L] may be flagged with an "Abnormal Reaction" error message. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

### Non-Interfering Substances

The following substances do not interfere with the DBI method when present in serum in the amounts indicated. Systematic inaccuracies (bias) due to these substances are less than 10% at a direct bilirubin concentration of 0.31 – 0.37 mg/dL [5.1 – 6.3 µmol/L] and 4.5 – 5.8 mg/dL [71 – 98 µmol/L].

| Substance | Test Concentration | SI Units |
|---|---|---|
| Acetaminophen | 20 mg/dL | 1328 µmol/L |
| Amikacin | 15 mg/dL | 256 µmol/L |
| 4-aminosalicylic acid | 80 µg/dL | 5 µmol/L |
| Amphotericin B | 4 µg/mL | 4 µmol/L |
| Ampicillin | 5.3 mg/dL | 152 µmol/L |
| Ascorbic acid[o] | 5 mg/dL | 227 µmol/L |
| Biliverdin | 4 mg/dL | 0.061 mmol/L |
| Caffeine | 6 mg/dL | 308 µmol/L |
| Carbamazepine | 3 mg/dL | 127 µmol/L |
| Carbenicillin[o] | 3 mg/dL | 7.1 mmol/L |
| Cefotiam | 840 µg/mL | 1.4 mmol/L |
| Chloramphenicol | 5 mg/dL | 155 µmol/L |
| Chlordiazepoxide | 1 mg/dL | 33.3 µmol/L |
| Chlorpromazine | 1 mg/dL | 31.4 µmol/L |
| Cholesterol | 500 mg/dL | 12.9 mmol/L |
| Cimetidine | 2 mg/dL | 79.2 µmol/L |
| Creatinine | 30 mg/dL | 2652 µmol/L |
| Dextran 40[p] | 6000 mg/dL | 1500 µmol/L |
| Diazepam | 0.5 mg/dL | 17.6 µmol/L |
| Digoxin | 5 ng/mL | 6.15 nmol/L |
| Erythromycin | 6 mg/dL | 81.6 µmol/L |
| Ethanol | 400 mg/dL | 86.8 mmol/L |
| Ethosuximide | 25 mg/dL | 1770 µmol/L |
| Furosemide | 6 mg/dL | 181 µmol/L |
| Gentamicin | 12 mg/dL | 251 µmol/L |
| Heparin | 3 U/mL | 3000 U/L |
| Ibuprofen | 50 mg/dL | 2425 µmol/L |
| Immunoglobulin G[o] | 5 g/dL | 50 g/L |
| Levodopa[o] | 300 µg/mL | 1.52 mmol/L |
| Lidocaine | 1.2 mg/dL | 51.2 mmol/L |
| Lithium | 2.3 mg/dL | 3.2 mmol/L |
| Methotrexate | 50 µg/mL | 110 µmol/L |
| Nicotine | 0.1 mg/dL | 6.2 µmol/L |
| Nitrofurantoin | 20 µg/mL | 0.08 mmol/L |
| Oxytetracycline[o] | 50 mg/dL | 0.1 mmol/L |
| Penicillin G | 25 U/mL | 25000 U/L |
| Pentobarbital | 10 mg/dL | 443 µmol/L |
| Phenazopyridine | 80 µg/mL | 320 µmol/L |
| Phenobarbital | 15 mg/dL | 647 µmol/L |
| Phenytoin | 5 mg/dL | 198 µmol/L |
| Pindolol | 5 mg/L | 0.02 mmol/L |
| Piroxicam | 10 µg/mL | 30 µmol/L |
| Primidone | 4 mg/dL | 183 µmol/L |
| Propoxyphene | 1 mg/dL | 25 µmol/L |
| Reserpine | 60 mg/L | 0.10 mmol/L |
| Salicylic Acid | 60 mg/dL | 4.34 mmol/L |
| Sulfasalazine | 40 µg/mL | 100 µmol/L |
| Theophylline | 4 mg/dL | 222 µmol/L |
| Triamterene | 60 µg/mL | 237 µmol/L |
| Triglycerides[q] | 724 mg/dL | 8.18 mmol/L |
| Urea | 500 mg/dL | 83.3 mmol/L |
| Uric Acid | 20 mg/dL | 1190 µmol/L |
| Valproic Acid | 50 mg/dL | 3467 µmol/L |

o. Testing performed at a DBI concentration of 4.5 – 5.8 mg/dL [71 – 98 µmol/L].

p. Interference testing for Dextran 40 was performed only at a DBI concentration of 0.4 mg/dL [7 µmol/L].

q. Interference testing for Triglyceride was performed only at a DBI concentration of 0.3 mg/dL [5 µmol/L].

**Analytical Sensitivity: 0.05 mg/dL [0.86 µmol/L]**

The analytical sensitivity represents the lower limit of detection (lowest concentration of direct bilirubin that can be distinguished from zero). This sensitivity is defined as the mean value (n = 20) plus two standard deviations of the low level (0 mg/dL [0 µmol/L]) TBI/DBI Calibrator. Reagent grade water should be used as the Level 1 calibrator for the DBI method.

**Symbols Key:** See adjacent panel.

**Bibliography:** See adjacent panel.


Dimension® and Flex® are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
All rights reserved.


CE


2008-04-07 B PN 717125.001 - US

แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

FM-LAB-008/00(01/10/2560)

# 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 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |