



แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจ Total bilirubin

WI-LAB-016

แก้ไขครั้งที่ 0

ผู้จัดทำ



(นายสิปปนนท์ ศรีวรรมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง



(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ


พ.อ.


(จัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

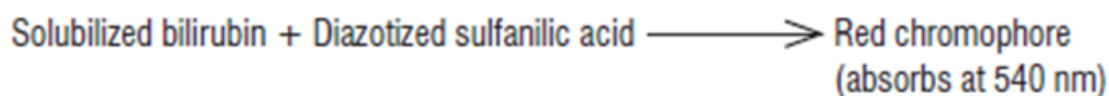
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 1 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

1.วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Total 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)

- 2.1 ทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ร่วมกับน้ำยา TBI Flex® reagent cartridge และสารเทียบ TBI/DBI Calibrator ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์จากผู้ผลิตเดียวกัน
- 2.2 อาศัยหลักการ Modification of the Jendressik Grof โดย Bilirubin ใน sample (รวมทั้ง Delta form) จะถูก Solubilized โดย ส่วนผสมของ Caffeine / Benzoate / Acetate / EDTA และเมื่อเติม Diazotized Sulfanilic Acid แล้ว Solubilized Bilirubin จะถูกเปลี่ยนไปเป็น Diazo Bilirubin สาร Chromophore สีแดง ซึ่งจะดูดกลืนแสง ที่ 540 nm และจะถูกวัดโดยใช้ Bichromatic (540 , 700 nm) Endpoint Technique



3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

มีระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา TBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-016) ในหัวข้อ Specific Performance Characteristics ดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 2 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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).

Material	Precision ^{12,e,f}		
	Mean mg/dL [μmol/L]	Standard Deviation (% CV)	
		Repeatability SD mg/dL [μmol/L]	Within-Lab SD mg/dL [μmol/L]
Serum pool 1	12.2 [212]	0.04 [0.7] (0.4)	0.11 [2] (0.9)
Serum pool 2	21.5 [368]	0.08 [1] (0.4)	0.16 [3] (0.8)
BioRad Lyphocheck® Control Level 1	0.84 [14]	0.01 [0.2] (1.7)	0.02 [0.3] (2.7)
BioRad Lyphocheck® Control Level 2	4.3 [74]	0.02 [0.3] (0.4)	0.04 [0.7] (1.0)
MAS® Liquid Bilirubin QC Level 3	18.5 [316]	0.08 [1] (0.4)	0.2 [3] (1.0)

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

f. 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.

Lyphocheck® 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

Comparative Method	Regression Statistics ^g			Correlation Coefficient	n ^{h,i}
	Slope	Intercept mg/dL	SI Units		
Dimension® TBIL	0.937	-0.058	[-1]	1.000	157
Vitros™ TBIL	1.024	-0.337	[-6]	0.996	169

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

h. The range of TBI values in the Dimension® correlation study was: 0.2 – 22.4 mg/dL [3 – 383 μmol/L].

i. The range of TBI values in the Vitros™ TBIL correlation study was: 0.2 – 24.9 mg/dL [3 – 426 μmol/L].


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

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 3 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

ไม่มี

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Total Bilirubin ได้แก่

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

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้ในกรณีที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดจากข้อ 6.1.1 และ 6.1.3

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

6.2 ความคงตัวของระดับ Total bilirubin ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

สิ่งส่งตรวจทั้ง ซีรัมและพลาสมาควรปั่นแยกภายใน 2 ชั่วโมงและหลีกเลี่ยงการสัมผัสแสง โดยสิ่งส่งตรวจที่สามารถคงสภาพได้นาน 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 : TBI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF167

7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ TBI/DBI Calibrator Cat. No. DC167

7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น Total bilirubin 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed and Unassayed Multiqua®

7.5 Auto pipette, Volumetric pipette และ Pipette tip

7.6 Distilled water

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 4 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

7.7 ภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาได้แก่ Sample cup, Small sample cup, plastic plain

7.8 sample segment

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารอันตรายส่วนประกอบของน้ำยา 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 Total 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. ขั้นตอนของกระบวนการงาน (procedural steps)

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)



- 10.1.1 นำน้ำยา TBI Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา
- 10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา TBI Flex® reagent cartridge ออกจากห่อ ซึ่งมีขนาดบรรจุ 60 tests/Flex
- 10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละกล่องในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
- 10.1.4 นำ Flex น้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ ซึ่งน้ำยาทุกหลอดตั้งแต่หลอดที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลอด1,4,6ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 5 วัน หลอดที่3ที่ถูกเจาะแล้วจะมีอายุการใช้ 3 วัน และหลอดที่2ที่ถูกเจาะแล้วจะมีอายุการใช้งาน 15 วัน
- 10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา TBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-016)
- 10.2 สอบเทียบ(Calibration) ตามข้อ 9.
- 10.3 ตรวจสอบความถูกต้องของการใส่ภาชนะบรรจุตัวอย่างลงใน Sample segment โดยเลือกชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างให้ตรงกับชนิดของ Sample segment โดยเฉพาะ Primary tube แต่ละขนาดต้องวางให้ตรงกับสีของ adaptor ใน sample segment
- 10.4 ตรวจสอบความเพียงพอของการบรรจุตัวอย่างตามชนิดภาชนะบรรจุ ได้แก่ Small sample cup(ควรบรรจุ 0.20-1 mL), sample cup(ควรบรรจุ 0.25-1.5 mL) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกกัน 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 และมีปริมาณสิ่งส่งตรวจ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 6 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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

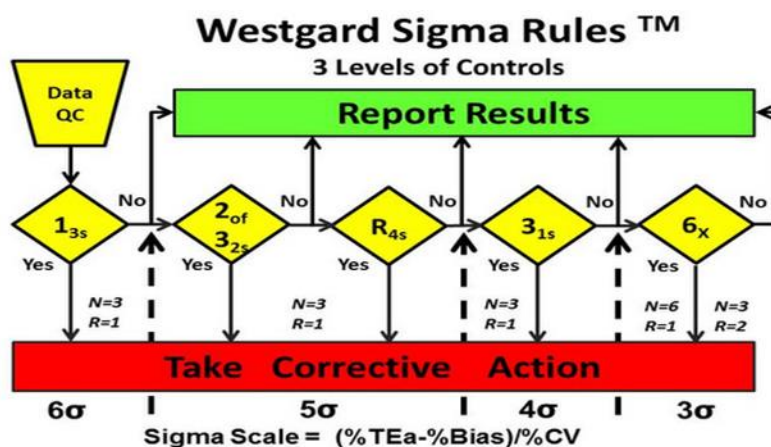
10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลงใน sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ


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 Multiquel® ตรวจวิเคราะห์ทั้ง 3 ระดับ พร้อมกันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้งในช่วงเวลาตอนเช้าของแต่ละวันทุกวันก่อนตรวจตัวอย่างผู้ป่วย (N=3, R=1 หมายถึง ความถี่ 1 ครั้งใน 24 ชั่วโมง) แต่ถ้า Performance ของการตรวจ Total bilirubin มีระดับ Sigma metric น้อยกว่า 4.0 ควรเพิ่มความถี่ในการทำ IQC เป็นวันละ 2 ครั้ง(N=3, R=2 ในที่นี้หมายถึงทำตอนเช้า 1 ครั้ง และตอนบ่าย 1 ครั้ง)



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 7 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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 Total bilirubin = $\pm 20\%$ (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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 8 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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 เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

13.1 สาร Levodopa ที่ระดับความเข้มข้น 300 µg/mL จะรบกวนการตรวจวัด Total Bilirubin ที่ระดับความเข้มข้น 1.1 mg/dL ทำให้ค่าที่ได้จากการตรวจวัดเพิ่มสูงขึ้น 236%


13.2 สิ่งส่งตรวจที่ Lipemia: Intralipid® ที่ระดับความเข้มข้น 600 mg/dL จะรบกวนการตรวจวัด Total Bilirubin ที่ระดับความเข้มข้น 1.1 mg/dL ทำให้ค่าที่ได้จากการตรวจวัดเพิ่มสูงขึ้น 18%

13.3 สาร Phenazopyridine ที่ระดับความเข้มข้น 80 µg/mL จะรบกวนการตรวจวัด Total Bilirubin ที่ระดับความเข้มข้น 1.1 mg/dL ทำให้ค่าที่ได้จากการตรวจวัดเพิ่มสูงขึ้น 42%

13.4 สาร Phloroglucinol ที่ระดับความเข้มข้น 250 ng/mL จะรบกวนการตรวจวัด Total bilirubin ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/dL ทำให้ค่าที่ได้จากการตรวจวัดเพิ่มขึ้น 51.5%

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

14.1 การคำนวณผลให้เป็น SI Units

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 9 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

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

$$\text{Conc} = (C_1 \times \Delta\text{Abs}) + C_0$$

$$Y = mx + b$$

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)

ค่า Total bilirubin ปกติใน Serum หรือ Plasma คือ 0.2-1.0 mg/dL

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้(reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range คือ 0.1-25.0 mg/dL

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 10 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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

ถ้าผลการทดสอบ Total bilirubin >25 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)

ค่า Total bilirubin ที่สูงกว่าปกติ อาจแสดงผลได้ว่า

- 19.1 เกิดความผิดปกติขึ้นที่หน่วยสร้าง Bilirubin (ม้ามที่มีวัดถูกคือเม็ดเลือดแดง) หรือหน่วยทำลาย Bilirubin (ตับและไต) ในระบบกลไกของร่างกาย (ค่าที่อยู่ในเกณฑ์ปกติจึงสะท้อนถึงความสมดุลระหว่างหน่วยสร้างและหน่วยทำลาย ส่วนค่าที่สูงกว่าปกติ จึงอาจมีสาเหตุมาจากเม็ดเลือดถูกทำลายมากกว่าปกติ หรือมาจากตับหรือไตที่ทำงานผิดปกติ)
- 19.2 อาจเกิดเหตุร้ายแรงขึ้นที่ถุงน้ำดีจนทำให้เกิดอาการตีบโกลัจะตัน เช่น ถุงน้ำดีติดเชื้อ ท่อน้ำดีอักเสบอาจเกิดโรคร้ายแรงซึ่งมีผลทำให้เกิดการอุดตันท่อน้ำดี เช่น นิ่วในถุงน้ำดี โรคมะเร็งตับอ่อน (เมื่อท่อ ตับอ่อนถูกปิดกั้นจากโรคมะเร็งก็จะมีผลทำให้ท่อน้ำดีถูกปิดกั้นไปด้วย)
- 19.3 ตับอาจมีภาวะผิดปกติ เช่น ตับอักเสบ ตับแข็ง หรือเกิดภาวะพิษเพราเซติดเชื้อ ซึ่งล้วนแต่ทำให้ตับทำหน้าที่ได้ไม่ดี การเปลี่ยน Bilirubin ให้เป็น Direct bilirubin เพื่อนำออกทิ้งทางท่อน้ำดีจึงทำไม่ได้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 10 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

เหมือนอย่างที่เคย จึงย่อมมีผลทำให้ Bilirubin ค้างอยู่ในกระแสเลือด ค่า Total bilirubin จึงสูงขึ้นกว่าปกติ

19.4 ไตอาจทำหน้าที่บกพร่อง จึงทำให้การปล่อยทิ้ง Direct bilirubin ออกทางน้ำปัสสาวะทำได้ไม่สะดวก ค่า Total bilirubin จึงอาจสูงขึ้นตามไปด้วย

19.5 อาจมีเหตุสำคัญที่ทำให้เม็ดเลือดแดงถูกทำลายลงอย่างมากผิดปกติในเวลาสั้น ๆ เช่น กรณีเกิดโรคเม็ดเลือดแดงเปลี่ยนรูปร่างเป็นรูปเคียว (Sickle cell disease) หรือมีการรับการถ่ายเลือด หรือเม็ดเลือดแดงถูกภูมิคุ้มกันทำลาย เมื่อม้ามทำลายเม็ดเลือดแดงทั้งหลายมากผิดปกติ จึงยอมทำให้ค่า Total bilirubin ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น

19.6 อาจเกิดจากโรคโลหิตจาง ซึ่งมีเหตุเพราะเม็ดเลือดแดงมีขนาดผิดปกติทุกกรณีย่อมถูกม้ามทำลายได้ง่าย จึงทำให้เกิด Bilirubin สูงขึ้นจนระดับเปลี่ยนแปลงให้กลายเป็น Direct bilirubin ไม่ทัน ก็อาจมีส่วนทำให้ค่า Total bilirubin สูงขึ้น (ถ้าตรวจเลือดแล้วพบว่า เม็ดเลือดแดงมีลักษณะรูปร่างปกติ ไม่มีอาการของโรคโลหิตจาง ม้ามและตับก็ยังเป็นปกติดี แต่ค่า Total bilirubin ในเลือดก็สูงอยู่ กรณีอย่างนี้ไม่ควรมองข้ามได้)

19.7 อาจเกิดจากภาวะซีดจากเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolytic anemia) หรือนำวิตามินบี 12 ไปใช้ไม่ได้ (Pernicious anemia)

19.8 อาจเกิดโรคดีซ่านจากพันธุกรรม เช่น โรค Gilbert's disease ซึ่งอาจมีเพียงอาการตัวเหลือง ไม่ได้เป็นอันตรายเหมือนโรคดีซ่านทั่วไป


19.9 ร่างกายมีการช้ำเลือดขนาดใหญ่ (Large hematoma) ซึ่งผิวหนังมีลักษณะเป็นจ้ำแดง ๆ หรือดำ ๆ คล้ายถูกกระแทกด้วยของหนัก ทำให้เส้นเลือดแดงฝอยแตกหรือเม็ดเลือดแดงแตก แต่ไม่ถึงกับเกิดบาดแผล ซึ่งในกรณีแบบนี้ ม้ามก็ต้องจัดการทำลายเม็ดเลือดแดงที่แตก จึงทำให้ค่า Total bilirubin สูงขึ้นกว่าปกติ

19.10 อาจเกิดจากการกินยารักษาโรคบางชนิดเป็นประจำ เช่น ยาสเตียรอยด์ ยาปฏิชีวนะ ยาแก้โรคความดันโลหิตสูง ยารักษาโรคเบาหวาน ยาแก้นอนไม่หลับ ยาคุมกำเนิด ฯลฯ

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)

20.1.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 11 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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 ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด(การไปเปิด, 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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 12 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

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 TBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-016)
- 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 Multiquel® (PI-LAB-130)
- 21.6 การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)
- 21.7 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก

- 22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกน้ำยาTBI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-016)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 13 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

SIEMENS

REF DF167

PI-LAB-016/00(01/10/2560)

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

TBI

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

Issue Date 2008-04-07

Total Bilirubin

Intended Use: The TBI method for the Dimension® clinical chemistry system is an *in vitro* diagnostic test intended to quantitatively measure total bilirubin in human serum and plasma. Measurements of total bilirubin are used in the diagnosis and treatment of liver, hemolytic, hematological, and metabolic disorders, including hepatitis and gallbladder 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 (δ and γ-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 TBI method is a modification of the Doumas reference method,² which is a modification of the diazo method described by Jendrasik and Grof in 1938.³

Principles of Procedure: Diazotized sulfanilic acid is formed by combining sodium nitrite and sulfanilic acid at low pH. Bilirubin (unconjugated) in the sample is solubilized by dilution in a mixture of caffeine/benzoate/acetate/EDTA. Upon addition of the diazotized sulfanilic acid, the solubilized bilirubin including conjugated bilirubins (mono and diglucuronides) and the delta form³ (biliprotein-bilirubin covalently bound to albumin) is converted to diazo-bilirubin, a red chromophore representing the total bilirubin which absorbs at 540 nm and is measured using a bichromatic (540, 700 nm) endpoint technique. A sample blank correction is used.

Solubilized bilirubin + Diazotized sulfanilic acid → Red chromophore (absorbs at 540 nm)

Reagents

Wells*	Form	Ingredient	Concentration*
1, 4 – 6	Liquid	Acetate Buffer	
		Caffeine	168 mM
		Sodium Benzoate	337 mM
		Disodium EDTA	2.57 mM
2	Liquid	Sulfanilic acid	25.89 mM
		Hydrochloric acid	132 mM
		Sodium Nitrite	72.5 mM
3	Liquid		

- a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.
b. Nominal value per well in a cartridge.

Precautions: Used cuvettes 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: 5 days for wells 1, 4 – 6
3 days for well 3
15 days for well 2 (diazotized sulfanilic acid formed by the automatic addition of sodium nitrite from well 3)

Specimen Collection and Handling: Serum, lithium heparin plasma, and EDTA plasma can be collected by normal procedures.^{3, 8}

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.⁷

Serum and plasma specimens should be separated from cells within 2 hours after venipuncture.⁸

Specimens should be free of particulate matter. To prevent the appearance of fibrin in serum samples, complete clot formation should take place before centrifugation.⁸ 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.⁹

Procedure

Materials Provided

TBI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF167

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,⁴ 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.

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

Test Conditions

	Cuvette
Sample Volume	10 µL
Reagent 1 Volume	250 µL
Reagent 2 Volume	47 µL
Temperature	37 °C
Wavelength	540, 700 nm
Type of Measurement	Bichromatic endpoint

Calibration

Assay Range	0.1 – 25.0 mg/dL [2 – 428 µmol/L] ¹
Calibration Material	TBI/DBI Calibrator, Cat. No. DC167
Calibration Scheme	3 levels, n = 3
Units	mg/dL [µmol/L] (mg/dL x 17.1) = [µmol/L]
Typical Calibration Levels	0.00, 10.00, 25.00 mg/dL 0, 171, 428 µmol/L
Calibration Frequency	Every 90 days for any one lot
A new calibration is required	<ul style="list-style-type: none"> For each new lot of Flex® reagent cartridges After major maintenance or service, if indicated by quality control results As indicated in laboratory quality control procedures When required by government regulations
Assigned Coefficients	C ₀ 0.00 C ₁ 0.078

Note: Level 1 calibrator for TBI 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 TBI method.
d. Système International d'Unités [SI Units] are in brackets.

Quality Control

At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known total 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 total 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): 0.1 – 25.0 mg/dL [2 – 428 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 25.0 mg/dL [428 µmol/L] should be repeated on dilution.

Manual Dilution: Dilute with Reagent grade water 1:4 (1 part of sample with 3 parts of Reagent grade water) to obtain results within the assay range. Enter dilution factor (4). 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 0.1 mg/dL [2 µmol/L] should be reported as "less than 0.1 mg/dL [2 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:


TBI Concentration	SD
1.1 mg/dL [19 µmol/L]	> 0.03 mg/dL [0.5 µmol/L]
18.8 mg/dL [322 µmol/L]	> 0.56 mg/dL [10 µmol/L]

Interfering Substances

The TBI method was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A.¹⁰ 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	Concentration SI Units	Total Bilirubin	Bias	Bias (%)
Levodopa	300 µg/mL	1.1 mg/dL	+2.6 mg/dL	+236
	[1.52 mmol/L]	[19 µmol/L]	[44 µmol/L]	
Lipemia (Intralipid®)	600 mg/dL	1.1 mg/dL	+0.2 mg/dL	+18
	[6.78 mmol/L]	[19 µmol/L]	[3 µmol/L]	
Phenazopyridine	80 µg/mL	1.1 mg/dL	+0.8 mg/dL	+42
	[320 µmol/L]	[19 µmol/L]	[14 µmol/L]	

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณณสีวรรษา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Total bilirubin	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-016	หน้า 14 จาก 14 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พ.ย.62

Expected Values: 0.2 – 1.0 mg/dL [3 – 17 µmol/L]¹¹

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

Each laboratory should establish its own reference interval for total 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).

Material	Precision ^{12,13}		
	Standard Deviation (% CV)		
	Mean mg/dL [µmol/L]	Repeatability SD mg/dL [µmol/L]	Within-Lab SD mg/dL [µmol/L]
Serum pool 1	12.2 [212]	0.04 [0.7] (0.4)	0.11 [2] (0.9)
Serum pool 2	21.5 [368]	0.08 [1] (0.4)	0.16 [3] (0.8)
BioRad Lyphochek® Control Level 1	0.84 [14]	0.01 [0.2] (1.7)	0.02 [0.3] (2.7)
BioRad Lyphochek® Control Level 2	4.3 [74]	0.02 [0.3] (0.4)	0.04 [0.7] (1.0)
MAS® Liquid Bilirubin QC Level 3	18.5 [316]	0.08 [1] (0.4)	0.2 [3] (1.0)

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

f. 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

Comparative Method	Regression Statistics ¹⁴				
	Slope	Intercept mg/dL	SI Units	Correlation Coefficient	n ¹⁵
Dimension® TBL	0.937	-0.058	[-1]	1.000	157
Vitros™ TBL	1.024	-0.337	[-6]	0.996	169

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

h. The range of TBL values in the Dimension® correlation study was: 0.2 – 22.4 mg/dL [3 – 383 µmol/L].

i. The range of TBL values in the Vitros™ TBL correlation study was: 0.2 – 24.9 mg/dL [3 – 426 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 total 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	Intercept (b)	Correlation Coefficient (r)
Lithium heparin plasma versus serum	25	1.01	-0.11	0.998
EDTA plasma versus serum	25	1.03	-0.30	0.997
EDTA plasma versus lithium heparin plasma	25	0.98	0.13	0.998

Hemolysis and Lipemia Interference Information

The TBL 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	TBL Concentration	Bias ¹
	SI Units	SI Units	%
Hemoglobin ¹⁶	1000 mg/dL	1.1 mg/dL	<10
	[0.62 mmol/L] (monomer)	[19 µmol/L]	
	1000 mg/dL	24.8 mg/dL	<10
Lipemia (Intralipid®) ¹⁷	[0.62 mmol/L] (monomer)	[424 µmol/L]	
	200 mg/dL	1.1 mg/dL	<10
	[2.26 mmol/L]	[19 µmol/L]	
	600 mg/dL	1.1 mg/dL	+18
	[6.78 mmol/L]	[19 µmol/L]	

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

k. Samples with hemolysis greater than 1000 mg/dL [0.62 mmol/L] of hemoglobin will be flagged with a "Hemoglobin" error message. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

l. 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 TBL method when present in serum in the amounts indicated. Systematic inaccuracies (bias) due to these substances are less than 10% at a total bilirubin concentration of 1.0 ± 0.4 mg/dL [17 ± 7 µmol/L] and 25.0 ± 2.0 mg/dL [428 ± 34 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/dL	4 µmol/L
Ampicillin	5.3 mg/dL	152 µmol/L
Ascorbic Acid	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	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
Cimetidine	2 mg/dL	79.2 µmol/L
Cholesterol	500 mg/dL	12.9 mmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2652 µmol/L
Dextran 40 ¹⁸	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 (IgG)	5 g/dL	50 g/L
Levodopa ¹⁹	300 µg/mL	1.52 mmol/L
Lidocaine	1.2 mg/dL	51.2 µmol/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
Oxyltetraacycline	50 mg/dL	0.10 mmol/L
Penicillin G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	10 mg/dL	443 µmol/L
Phenazopyridine ²⁰	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
Protein: Albumin	6 g/dL	60 g/L
Protein: Total	12 g/dL	120 g/L
Reserpine	60 mg/L	0.10 mmol/L
Rheumatoid Factor ²¹	500 IU/mL	500 IU/mL
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
Triglyceride ²²	1266 mg/dL	14 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

m. Interference testing for Dextran 40 was performed only at a TBL concentration of 0.9 mg/dL [15 µmol/L].

n. Testing performed at a TBL concentration of 25.0 ± 2.0 mg/dL [428 ± 34 µmol/L].

o. Testing performed only at a TBL concentration of 1.4 mg/dL [24 µmol/L].

Analytical Sensitivity: 0.1 mg/dL [2 µmol/L]

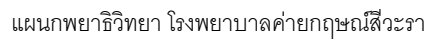
The analytical sensitivity represents the lower limit of detection (lowest concentration of total bilirubin that can be distinguished from zero). This sensitivity is defined as the mean value (n = 20) plus two standard deviations of the low level (0 mg/dL [0 µmol/L]) TBL/DBI Calibrator. Purified Water Diluent (Cat. No. 710615901) or Reagent grade water should be used as the Level 1 calibrator.

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.



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

[illegible]