|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ผู้จัดทำ :………………………….  (นางสาวนันทิยา ใหญ่ยงค์)  นักเทคนิคการแพทย์ | ผู้ทบทวน :…………………….  (นางวันเพ็ญ อุทัยพร)  นักเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดการวิชาการ | ผู้อนุมัติ :…………………….  (นางวชิราภรณ์ ทองเทศ)  ผู้จัดการคุณภาพหัวหน้างานชันสูตรสาธารณสุข |

**ประวัติการแก้ไข**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| วัน เดือน ปี  ที่ใช้ | แก้ไขครั้งที่ | หน้าที่แก้ไข | รายละเอียดการแก้ไข | ผู้แก้ไข | ผู้อนุมัติ |
| 3 เมษายน 2556 | 0 | - | เอกสารออกใหม่ | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

**การตรวจ DCIP**

**1. วัตถุประสงค์**

ใช้เป็นคู่มือการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบิน อี (Hb E) ด้วยน้ำยา DCIP (Dichlorophenolindophenol precipitation test)

**2. หลักการ**

Hb E (α2β2 26Glu-Lys) เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 26 ของสาย β-globin เปลี่ยนจากกรดกลูตามิก (glutamic : Glu) เป็นไลซีน (lysine : Lys) ทำให้โครงสร้างที่จุดสัมผัสระหว่างสายโกลบิน α1β1ไม่แข็งแรง เมื่ออยู่ในสารละลาย DCIP จะถูกออกซิไดซ์ ให้กลายเป็นโกลบินสายเดี่ยวที่มีซัลฟ์ไฮดริลอิสระจึงตกตะกอนได้ง่าย และเร็วกว่าฮีโมโกลบินปกติ โดยปริมาณความขุ่นของตะกอนที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างเลือดของ Hb E homozygote จะมากกว่าของพาหะ Hb E

**3. วิธีการตรวจ**

DCIP Precipitation test

**4. เอกสารอ้างอิง**

โครงการวิจัยสถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียฯ ศูนย์วิจัยแลการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยการสนับสนุนของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

**5. คำนิยามและคำย่อ**

DCIP : Dichlorophenolindophenol precipitation test

µL : Micro lite

mL : Mililite

EDTA : Ethylene diamine tetraacetic acid

Hct : Hematocrit

EA : Hb E trait

A2A : Hb typing Normal

**6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

- Internal Quality Control for OF,DCIP

**7. ความปลอดภัย**

7.1 สวมถุงมือ,เสื้อกาวน์ ทุกครั้งที่ปฏิบัติงาน

7.2 การทิ้งและการทำลายตัวอย่างตรวจ ควรปฏิบัติตามมาตรฐานควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่กำหนดไว้

**8. เครื่องมือเครื่องใช้**

8.1 หลอดทดลองซึ่งมีน้ำยาบรรจุอยู่ 2 mL.

8.2 Water bath

8.3 Autopipette ขนาด 20 µL.

8.4 Pipette tip

8.5 เครื่องช่วยผสม (mixer)

8.6 นาฬิกาจับเวลา

8.7 โคมไฟ

8.8 หลอดเลือด EDTA

**9. น้ำยาและสารมาตรฐาน**

9.1 KKU-DCIP-Clear

**10. วิธีดำเนินการ**

ขั้นตอนการทดสอบ

10.1 ผสมเลือดให้เข้ากันดี

10.2 ดูดเลือด 20 µL

10.3 เติมลงในหลอดทดลองซึ่งมีน้ำยาบรรจุอยู่ 2 mL. (ดูดล้าง tip 2-3 ครั้ง)

10.4 ปิดฝาและผสมให้เข้ากันดีโดยกลับหลอดไปมาหรือใช้เครื่องช่วยผสม (mixer)

10.5 นำไปอุ่น ที่ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที

10.6 เมื่อครบเวลา นำออกมาเติม clearing solution 20 µL

10.7 ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1-2 นาที เพื่อให้กำจัดสีและเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์

10.8 อ่านผลความขุ่นด้วยตาเปล่าโดยส่องภายใต้โคมไฟ

**11. การนับและการคำนวณ**

-

**12. การควบคุมคุณภาพ**

- ควรทำ positive(เลือด EA) และ negative control (เลือด A2A)ควบคู่ไปด้วยทุกครั้งที่ incubate

- ตัวอย่างควบคุมที่เป็นเลือดเจาะใหม่ สามารถเก็บไว้ใช้ได้นานประมาณ 2 สัปดาห์ (เก็บที่ 2-8 ° C)

- การควบคุมคุณภาพโดยการใช้ตัวอย่างเลือดควบคุม เป็นการควบคุมคุณภาพน้ำยาและกระบวนการทดสอบ แต่ไม่ควบคุมความถูกต้องของการอ่านผล

- ส่ง Interlab 2 แห่ง ปีละ 1 ครั้ง

**13. การรายงานผลและการแปรผล**

ขุ่น : Positive

ใส : Negative

**14. ค่าปกติ**

Negative

**15. ข้อระวัง,ข้อจำกัด**

* ควรสังเกต น้ำยาควรมีลักษณะใส และสีน้ำเงินสด
* น้ำยาไม่จำเป็นต้องทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนทำการทดสอบ