



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ CHOLESTEROL

WI-LAB-005

แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะระมย์)

ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ


พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 1 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

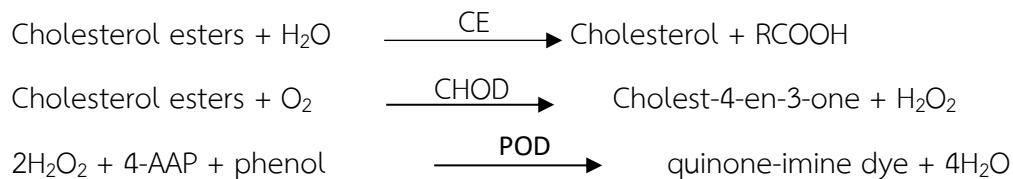
1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Cholesterol ในตัวอย่าง serum และ plasma ด้วย เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Cholesterol Gen.2 (CHOL2 Cat. No. 03039773 190)
- 1.2 เพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยและรักษาความผิดปกติของไขมัน(lipid disorders) เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวาน atherosclerosis, various liver และ renal diseases.
- 1.3 ประเมินความเสี่ยงต่อภาวะ atherosclerosis
- 1.4 เพื่อติดตามการรักษาในผู้ป่วยที่ได้รับยาลดระดับไขมันในเลือด

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

2.1 หลักการ (Principle) :

Cholesterol esters ในตัวอย่างถูกทำให้แตกตัวโดย enzyme Cholesterol esterase ได้คอเลสเตอรอล และกรดไขมันอิสระ Cholesterol oxidase จะกระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลได้เป็น cholest-4-en-3-one และ H₂O₂ ในสถานะที่มี Peroxidase H₂O₂ จะทำปฏิกิริยากับ phenol และ 4-aminophenazone เกิดเป็นสีแดงของ quinone-imine




2.2 วิธีการ(method) : ใช้วิธี Enzymatic Colorimetric method

Traceability: This method has been standardized according to Abell/Kendall 12 and also by isotope dilution/mass spectrometry.

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบต่อไปนี้อ้างอิงจากใบแทรกน้ำยา Cholesterol Gen.2 (PI-LAB-005) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

- 3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตาม internal protocol ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Cholesterol Gen.2 โดยใช้วิธีการตรวจวัดค่า Cholesterol ซ้ำแบบ within-day/within-run (repeatability) และ between-day run (3 aliquots per run, 1 run per day, 21 days) (intermediate precision) ได้ผลดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 2 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Repeatability (n=21)	Mean mmol/L(mg/dL)	SD mmol/L(mg/dL)	CV %	Allowable CV %	ผลการ ตรวจสอบ
Precinorm U	2.29 (88.5)	0.02 (0.8)	1.1	2.50	PASS
Precipath U	4.74(183)	0.04(2)	0.9	2.50	PASS
Human serum 1	2.85(110)	0.03(1)	1.1	2.50	PASS
Human serum 2	7.39(286)	0.05(2)	0.7	2.50	PASS
Intermediate precision	Mean mmol/L(mg/dL)	SD mmol/L(mg/dL)	CV %	Allowable CV %	ผลการ ตรวจสอบ
Precinorm U	2.31(89.3)	0.04(1.6)	1.6	3.33	PASS
Precipath U	4.85(188)	0.08(3)	1.6	3.33	PASS
Human serum 3	1.97(76.2)	0.03(1.2)	1.6	3.33	PASS
Human serum 4	7.13(276)	0.01(4)	1.4	3.33	PASS

- เกณฑ์ Imprecision(%CV) : within-run CV \leq 2.50%, between-run CV \leq 3.33%

อ้างอิงจากค่า TEa = \pm 10% (CLIA2019)

- ผลการตรวจสอบ imprecision เทียบกับเกณฑ์ : ผ่าน(PASS)

3.2 คุณลักษณะเมื่อเปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

3.2.1 เป็นการตรวจวิเคราะห์ Cholesterol โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ Roche/Hitachi cobas c 501 (y) เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ Roche/Hitachi 917 (x) ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 266

Passing/Bablok24 : $y = 1.002x + 0.045$ mmol/L, $T = 0.953$

Linear regression : $y = 1.012x - 0.015$ mmol/L, $r = 0.997$

The sample concentrations were between 1.53 and 18.5 mmol/L (59.1 and 715 mg/dL).

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Serum

4.2 Plasma ที่ใช้ Lithium heparin, K₃-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง


4.3 การตรวจ Cholesterol แต่ละครั้ง เครื่อง cobas c 501 จะใช้ Normal sample volume 2 ไมโครลิตร

4.4 การเก็บรักษาตัวอย่าง Serum และ Plasma ที่แบ่งแยกออกมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นใส่ภาชนะบรรจุใหม่แล้วสามารถเก็บที่ 15-25°C ได้นาน 7 วัน เก็บที่ 2-8°C ได้นาน 7 วัน เก็บที่ -15°C ถึง -25°C ได้นาน 12 เดือน

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

5.1 ควรบริโภคอาหารตามปกติในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนตรวจ และมีน้ำหนักคงที่

5.2 งดอาหารอย่างน้อย 10-12 ชั่วโมง และควรงดดื่มแอลกอฮอล์ในคืนก่อนตรวจ


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 3 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

- 6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Cholesterol ได้แก่
- 6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL ใช้ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ Cholesterol ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ โดยให้เก็บตัวอย่างที่ห้องเจาะเลือดของห้องปฏิบัติการ
- 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีแดง)ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ
- 6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี K₂-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Cholesterol แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.2 เท่านั้น
- 6.2 ประเภทของภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์
- 6.2.1 หลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นขนาด 13x75 mm. ในข้อ 6.1 ที่ปั่นแยก serum หรือ Plasma แล้ว
- 6.2.2 Hitachi cup เป็น sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (100 ไมโครลิตร)
- 6.2.3 Hitachi micro cup เป็น Sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume(50 ไมโครลิตร)
- 6.2.4 หลอดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง(Plain tube) ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume (500 ไมโครลิตร)

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

- 7.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ : ใช้เครื่อง cobas c 501 ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่อง cobas e 601, Control unit และ Core unit เป็นระบบวิเคราะห์ที่เรียกชื่อว่า cobas 6000 analyzer series ทุกส่วนเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Roche Diagnostic ประเทศเยอรมัน
- 7.2 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่น
- 7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา Cholesterol Gen.2 (CHOL2 Cat. No. 03039773 190) เป็น cassette ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน(ready-to-use) ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 cassette ตรวจได้ 400 Tests เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C วางให้ตั้งตรง จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานบนเครื่อง cobas c 501 แล้วจะมีอายุการใช้งาน 4 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา CHOL2 มีดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 4 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

R1: PIPES buffer: 225 mmol/L, pH 6.8; Mg²⁺: 10 mmol/L; sodium cholate: 0.6 mmol/L; 4-aminophenazone: \geq 0.45 mmol/L; phenol: \geq 12.6 mmol/L; fatty alcohol polyglycol ether: 3 %; cholesterol esterase (Pseudomonas spec.): \geq 25 μ kat/L (\geq 1.5 U/mL); cholesterol oxidase (E. coli): \geq 7.5 μ kat/L (\geq 0.45 U/mL); peroxidase (horseradish): \geq 12.5 μ kat/L (\geq 0.75 U/mL); stabilizers; preservative

กรณีรับน้ำยาเข้ามาใหม่ ต้องประเมินคุณภาพ (Verified for performance) ก่อนนำไปใช้งานดังนี้

- ทุกน้ำยา Lot ใหม่ (new lot) ให้ทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำยา lot เก่า ประเมินโดยใช้ตัวอย่างผู้ป่วยอย่างน้อย 3 ระดับให้ครอบคลุม Medical decision level โดยควรมีความแตกต่างอยู่ในช่วงไม่เกินเกณฑ์ Bias ของ Cholesterol ที่กำหนดไว้ไม่เกิน 4.5055 % และใช้ QC material อย่างน้อย 1 ระดับ โดยต้องอยู่ในช่วง $\pm 1SD$ ของ Lot เก่า ถ้าเกิน $\pm 1SD$ ให้ปรับ Lab mean ใหม่
- ทุกครั้งที่รับน้ำยา Lot เก่าเข้ามาใช้งานใหม่ (New shipment) ให้ประเมินโดยใช้ QC material อย่างน้อย 1 ระดับ โดยต้องอยู่ในช่วง $\pm 1SD$ ของ Lot เก่า ถ้าเกิน $\pm 1SD$ ให้ปรับ Lab mean ใหม่ด้วย

7.4 สารปรับแต่งมาตรฐาน(calibrator) :

7.4.1 Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)

7.4.2 Standard 2: Calibrator for automated system (C.f.a.s), Cat. No. 10759350 190
ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 3 mL

7.5 สารวัดควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2
ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ทันทีหลังจากทำ daily maintenance เครื่อง cobas c 501 แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน

7.6 Auto pipette, Volumetric pipette 1 mL, 5 mL และ Pipette tip สำหรับใช้เตรียมสารละลาย calibrator และ control ที่อยู่ในรูปแบบเป็นผงแห้ง (Lyophilize)

7.7 Distilled water สำหรับใช้ละลาย control/calibrator

7.8 Diluent NaCl 9 % (50 mL) สำหรับใช้เจือจางตัวอย่างอัตโนมัติกรณีตัวอย่างตรวจมีค่า LDL-cholesterol สูงเกิน 549 mg/dL น้ำยา Diluent NaCl 9% เมื่อยังไม่เปิดใช้งานควรเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานแล้วจะมีอายุ 12 สัปดาห์

7.9 ภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมา ได้แก่ Sample cup(Hitachi cup) Cat No. 10394246001, Plastic plain tube


7.10 Rack มี 8 ชนิด

7.10.1 Rack สีดำ สำหรับวาง calibrator

7.10.2 Rack สีขาว สำหรับวาง control

7.10.3 Rack สีเทา สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Routine

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 5 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 7.10.4 Rack สีแดง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น STAT
- 7.10.5 Rack สีเหลือง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Urine
- 7.10.6 Rack สีน้ำเงิน สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น CSF
- 7.10.7 Rack สีน้ำตาล สำหรับวางตัวอย่างอื่นๆ
- 7.10.8 Rack สีเขียว ใช้เพื่อบำรุงรักษาเครื่อง

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

- 8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ
- 8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง


9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

9.1 ข้อกำหนดในการสอบเทียบ

- 9.1.1 ทำการสอบเทียบแบบ 2-point calibration กับน้ำยา CHOL2 ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ
 - เปิดใช้งานน้ำยา CHOL2 ครั้งแรก
 - น้ำยา CHOL2 เปลี่ยนรุ่นการผลิต (Lot) ใหม่
 - มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไขปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่(re-calibration)
- 9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารปรับแต่งมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารปรับแต่งมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบประกอบด้วย
 - Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)
 - Standard 2: Calibrator for automated system (C.f.a.s)

9.2 วิธีการสอบเทียบ

- 9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ Calibrator for automated system (C.f.a.s), Cat. No. 10759350 190 ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับ Lot ที่เคย download ข้อมูลการกำหนดค่าความเข้มข้นของ Cholesterol เก็บไว้ในเครื่อง cobas c 501 ถ้าหาก Lot ที่จะใช้งานไม่ตรงกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ให้ download ข้อมูล Calibrator for automated system Lot ใหม่ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby โดยปฏิบัติตามหัวข้อ “การตรวจสอบ lot และการ download calibrator” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)
- 9.2.2 นำขวดที่บรรจุผง Calibrator for automated system (C.f.a.s) มาละลายด้วยน้ำกลั่น 3 mL โดยใช้ Volumetric pipette ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันโดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 6 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้อง

9.2.3 บรรจุน้ำกลั่นประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample cup(Hitachi cup) แล้วใส่ลงไปในห้องที่ติดฉลากว่า “H₂O” ของ Rack สีดำ

9.2.4 บรรจุ Calibrator for automated system (C.f.a.s) ที่ละลายจนพร้อมใช้งานแล้วประมาณ 200 ไมโครลิตรลงใน Sample cup (Hitachi cup) ใส่ลงไปในห้องสีดำนี้อันเดียวกันกับในข้อ 9.2.3 แล้วทำการ calibrate น้ำยาโดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ calibration” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ น้ำยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์

10.1.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ

- ทำ Daily begin เครื่องตรวจวิเคราะห์ เวลา 06.00 น.
- ลงชื่อเข้า(Operator ID) และรหัสผ่าน(Password) เพื่อเข้าใช้งานระบบ (logon)เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas 6000
- ตรวจสอบปริมาณน้ำยา Auxiliary ที่บรรจุในรูปแบบ cassette ได้แก่ NaOH-D cassette, SMS cassette, 9%NaCl cassette ที่เหลือในเครื่อง ถ้าปริมาณน้ำยาต่ำกว่าระดับที่กำหนดไว้ หน้าจอจะแสดงพื้นหลังรายการน้ำยานั้นเป็นสีม่วง ให้ใส่น้ำยา cassette ใหม่เข้าไปแทน
- ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ำยา Auxiliary อื่นๆ ได้แก่ NaOH-D, Cell Detergent 1, Acid Wash Solution, Cell Detergent 2 ถ้าปริมาณน้ำยาต่ำกว่าระดับที่กำหนดไว้ หน้าจอจะแสดงพื้นหลังรายการน้ำยานั้นเป็นสีม่วง ให้ใส่น้ำยาขวดใหม่เข้าไปแทน

10.1.2 วิธีการเตรียมน้ำยา (reagent preparation)

10.1.3 นำ Cassette น้ำยา CHOL2 ออกจากตู้เย็น แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัสแถบ barcode


10.1.4 เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ำยา CHOL2 ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารปรับแต่งมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)

10.1.5 นำ Cassette น้ำยา CHOL2 ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ำยาเข้าไปในเครื่อง ขณะเครื่องอยู่ในสถานะ preparation เครื่องจะเจาะรูที่ฝาน้ำยาและนำไปเก็บใน reagent disk พร้อมกับ register น้ำยาโดยอัตโนมัติ โปรแกรมของระบบเครื่องมือ จะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 8 สัปดาห์

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 7 จาก 15 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวนการทดสอบ
- เมื่อบั่นแยกสิ่งส่งตรวจได้ Serum/Plasma แล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองหรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และควรมีส่วนของ Serum/Plasma อย่างน้อย 500 μ L

- 10.2 ถ้ายังไม่มี การสอบเทียบน้ำยา CHOL2 Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.
- 10.3 ถ้ายังไม่มี การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น ให้ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 11.
- 10.4 นำตัวอย่างผู้ป่วยเข้าเครื่อง cobas c 501 ผ่าน core unit ของเครื่อง cobas 6000 analyzer series โดยสามารถใช้ Primary tube ขนาด 13x75 mm. ที่มีตัวอย่างไม่น้อยกว่า 500 ไมโครลิตร(sample dead volume 500 μ L) วางบน Rack สีเทา(กรณีไม่เร่งด่วน)หรือ Rack สีแดง(กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 μ L) ใส่ใน Sample cup (Hitachi cup) วางบน Rack
- 10.5 สั่งทำการตรวจวิเคราะห์และเรียกดูผลตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065) โดยเครื่อง cobas c 501 จะทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบอัตโนมัติ ตาม Test parameter/definition ที่กำหนดไว้ ดังนี้

Cholesterol test definition


Assay type	1-Point		
Reaction time / Assay points	10 / 70		
Wavelength (sub/main)	700/505 nm		
Reaction direction	Increase		
Units	mmol/L (mg/dL, g/L)		
Reagent pipetting		Diluent (H ₂ O)	
R1	47 μ L	93 μ L	
Sample volumes	Sample	Sample dilution	
		Sample	Diluent (NaCl)
Normal	2 μ L	-	-
Decreased	2 μ L	15 μ L	135 μ L
Increased	2 μ L	-	-

Calibration

Calibrators	S1 : H ₂ O		
	S2 : C.f.a.s.		
Calibration mode	Linear		
Calibration frequency	2-point calibration		
	- after reagent lot change		
	- and as required following quality control procedures		

- 10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น mg/dL

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 8 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

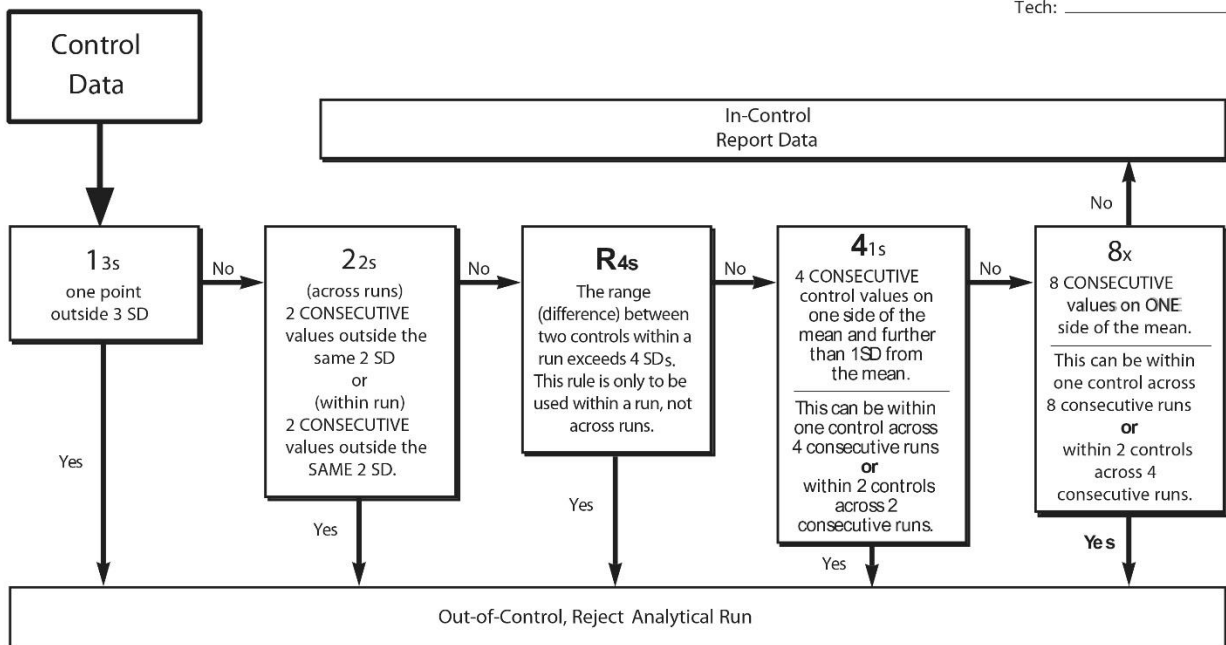
อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

11.1.1 เกณฑ์การตัดสินผลการควบคุมคุณภาพภายใน ให้พิจารณาเลือกใช้กฎบางกฎที่แนะนำไว้ใน Modern "Westgard Rules" ได้แก่ 1-3s, 2-2s หรือ 2of3-2s, R-4s ร่วมกับเกณฑ์ between run $CV \leq 0.33TEa$ และ Peer group $SDI \leq 1$ โดยการติดตามตรวจสอบและประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจวิเคราะห์ Cholesterol ใน Quality control chart (Levey-Jennings chart) ที่สร้างขึ้นมาจากการหาค่า Mean, SD ของห้องปฏิบัติการ

Modern "Westgard Rules": N's of 2 and 4

Date: _____


Tech: _____



Problem: _____

Resolution: _____

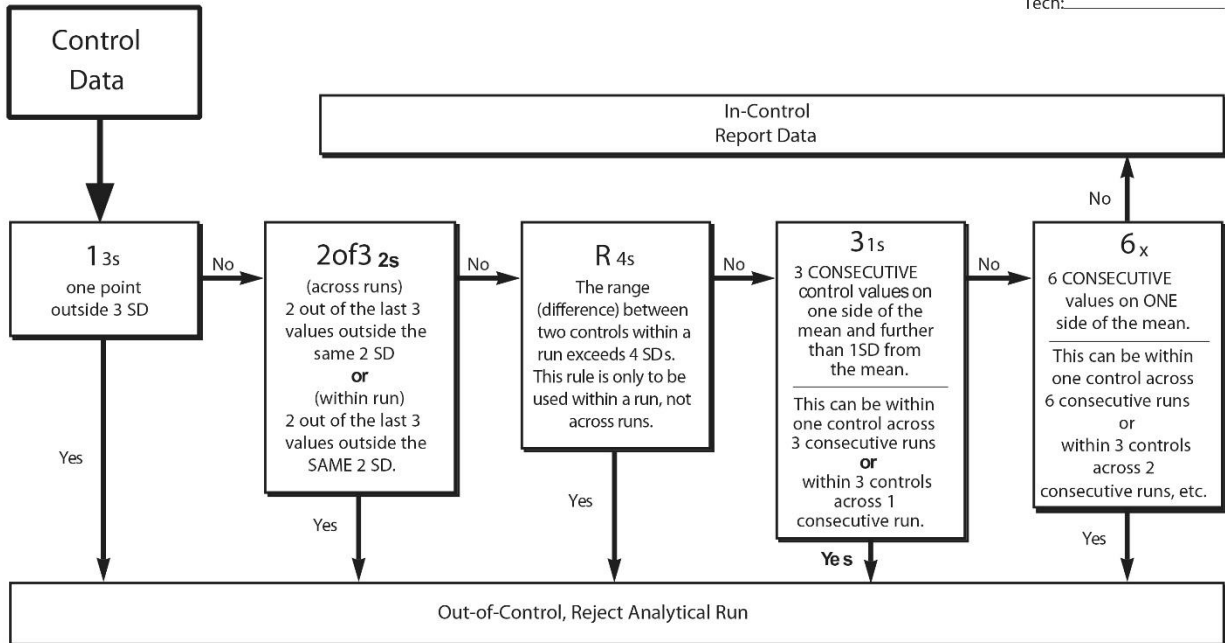
Find out more at <http://www.westgard.com>

	แผนกพยาบาลวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 9 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Modern "Westgard Rules": N's of 3 and 6

Date: _____

Tech: _____




Problem: _____

Resolution: _____

Find out more at <http://www.westgard.com>

- 11.1.2 PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 เป็นสารวัสดุควบคุมคุณภาพชนิดซีรัมแห้ง ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ Cholesterol ทั้ง 2 ระดับทันทีหลังจากทำ Daily End maintenance เครื่อง cobas c 501(ได้แก่ การทำ Clean probe and nozzles+Process green wash rack) แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน ความถี่วันละ 1 ครั้ง(N=2, R=1)
- 11.1.3 ใช้ค่า Allowable total error(TEa) ของการทดสอบ Cholesterol ใน Serum/Plasma = ± 10 (อ้างอิงจาก CLIA 2019)
- 11.1.4 การติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV_{bd}) หรือ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 1/3TEa
- Serum/Plasma: between-day run CV $\leq 3.33\%$
- 11.1.5 การละลายสารวัสดุควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ที่เป็นผงซีรัมแห้ง(Lyophilized serum) ก่อนละลายให้นำขวดบรรจุซีรัมแห้งนี้มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน 10-20 นาที จนมั่นใจว่าได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง และในเวลาเปิดฝาขวดให้เปิดด้วยความระมัดระวัง เพราะการบรรจุขวดใช้ระบบสุญญากาศ ถ้าเปิดทันทีจะทำให้ผงซีรัมแห้งที่อยู่ภายในขวดปลิวออกมาได้ ซึ่งจะทำให้เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 10 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

ความเข้มข้นไม่ถูกต้อง ใช้ Volumetric pipette ดูดจ่ายตัวทำละลาย(น้ำกลั่น) 5 mL ลงไปละลายผงซีรัมแห้ง ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน โดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน จนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายเข้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้องหรือแบ่งเก็บที่อุณหภูมิน้อยกว่าเท่ากับ -20°C ถ้ามีการแบ่งเก็บในช่องแช่แข็ง (-25°C) - (-20°C) ใน Hitachi cup 300-500 ไมโครลิตร ก่อนนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ต้องนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10-20 นาที เพื่อให้ได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้องก่อน และให้ใช้แนวทางเดียวกันนี้ในการละลาย Calibrator

11.2 วิธีการควบคุมคุณภาพ

- 11.2.1 ตรวจสอบ Lot ของสารวัสดุควบคุมคุณภาพระหว่าง Lot ที่จะใช้งานกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ถ้า Lot ไม่ตรงกันให้ download ข้อมูลของสารวัสดุควบคุมคุณภาพให้ตรงกันกับ Lot ใหม่ ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby เท่านั้น
- 11.2.2 เตรียมสารวัสดุควบคุมคุณภาพ(control material) ให้พร้อมใช้ตามวิธีการที่ผู้ผลิตกำหนดไว้ในเอกสารแนบของสารวัสดุควบคุมคุณภาพที่ใช้งาน
- 11.2.3 บรรจุสารวัสดุควบคุมคุณภาพปริมาตร 300-500 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 uL) ลงใน Sample cup (Hitachi cup) แล้วนำไปวางใน Rack สีขาว ในตำแหน่งที่กำหนดไว้
- 11.2.4 สั่งให้เครื่องทำ control โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ Control” ในคู่มือปฏิบัติงาน Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)
- 11.2.5 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ Cholesterol ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ (control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้
 - การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ Cholesterol ในรูปแบบกราฟผ่าน control unit ของเครื่อง cobas 6000 ได้ 3 รูปแบบที่เมนู **QC > run status** (แสดงผล QC ของทุก test ในกราฟเดียวกัน แสดงค่าของแต่ละ test ว่าตกอยู่ในขอบเขต $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ หรือไม่), **QC > individual**(ใช้ตรวจสอบผล IQC โดยละเอียดเป็นราย test มีกราฟแบบ (Levey-Jennings chart) และ **QC > cumulative** (คล้ายหน้า individual เป็นข้อมูลในหน้า individual ซึ่งถูกเลือกเป็นตัวแทนมาเก็บไว้ที่หน้า cumulative)
 - ติดตามตรวจสอบผล IQC ให้ละเอียดมากขึ้นใน Levey-Jennings chart สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Cholesterol โดยใช้โปรแกรม TIQCon (Total Integrated Quality Control for clinical laboratory)ผลิตภัณฑ์ Roche ช่วยประมวลผล รวมถึงการ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 11 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

เปรียบเทียบกับ Peer group และ ตรวจสอบผล IQC แบบอัตโนมัติตาม control rule ที่กำหนดไว้

11.2.6 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Cholesterol มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาส่งต่อผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่ทำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025) เมื่อทำการแก้ไขสาเหตุของความคลาดเคลื่อนแล้ว จึงจะตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยซ้ำ รวมทั้งย้อนกลับไปพิจารณารายงานผลวิเคราะห์ที่ออกผลไปแล้วนับตั้งแต่การทำควบคุมคุณภาพภายในรอบก่อนหน้า

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

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

12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม EQAS Clinical Chemistry (Monthly) Program เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ **Cholesterol** ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย **BIO-RAD Laboratories** มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในหัวงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี

12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า Cholesterol ร่วมกันกับรายการทดสอบอื่นๆในตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS โดยการตรวจพร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง 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 ตรวจสอบผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ สำหรับตัวอย่าง Serum/Plasma โดยใช้เกณฑ์ และเป้าหมายดังนี้

-เกณฑ์ Absolute Z-score < 3.0, เป้าหมาย < 1.5


-เกณฑ์ TE < TEa, เป้าหมาย TE < 5%,

เมื่อ TEa = ±10% (CLIA 2019), %TE=%Bias+1.65%CV

-Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 4.5055%

12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน EQAS การตรวจ Cholesterol ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาบาลวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 12 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

13. สิ่งรบกวน (interferences)

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial values at a cholesterol concentration of 5.2 mmol/L (200 mg/dL).

13.1 ซีรัม/พลาสมา ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ

ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา		ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	I index ≤ 16 ≤ 14	conjugated bilirubin ≤ 16 mg/dL unconjugated bilirubin ≤ 14 mg/dL	4+
Hemolysis	H index ≤ 700	hemoglobin ≤ 700 mg/dL	4+
Lipemic (Intralipid)	L index $\leq 2,000$	L index หรือความขุ่น ไม่สัมพันธ์กับ ปริมาณ Triglyceride	4+



ซีรัมเหลือง (Icteric serum)

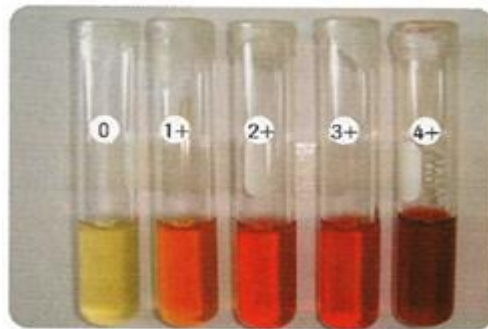
Bilirubin concentration

1+ = 2.5 mg/L = 0.25 mg/dL

2+ = 5.0 mg/L = 0.50 mg/dL

3+ = 10.0 mg/L = 1.00 mg/dL

4+ = 20.0 mg/L = 2.00 mg/dL



ซีรัมที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolysed serum)

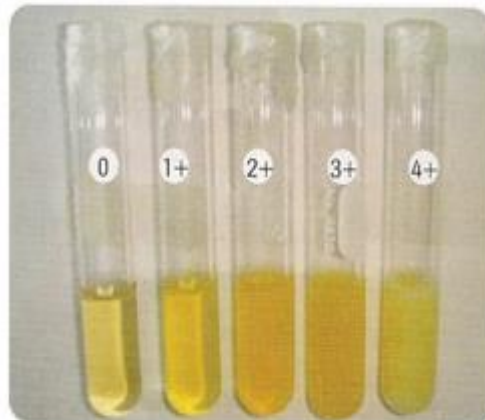
Hemoglobin concentration

1+ = 0.9 g/L = 90 mg/dL

2+ = 1.8 g/L = 180 mg/dL

3+ = 3.5 g/L = 350 mg/dL

4+ = 6.7 g/L = 670 mg/dL



ซีรัมขุ่นมีไขมัน (Turbid serum)

Absorbance 660 นาโนเมตร

1+ = 0.4


2+ = 0.8

3+ = 1.0

4+ = 1.2

13.2 Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งสุดท้าย

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 13 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

common drug panels.

13.3 Acetaminophen intoxications are frequently treated with N-Acetylcysteine.

N-Acetylcysteine at the therapeutic concentration when used as an antidote and the Acetaminophen metabolite N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) independently may cause falsely low results.

13.4 Venipuncture should be performed prior to the administration of Metamizole. Venipuncture immediately after or during the administration of Metamizole may lead to falsely low results.

13.5 In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.

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

14.1 เครื่อง cobas c 501 จะคำนวณค่าความเข้มข้นของ Cholesterol ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor: $\text{mmol/L} \times 38.66 = \text{mg/dL}$
 $\text{mmol/L} \times 0.3866 = \text{g/L}$
 $\text{mg/dL} \times 0.0259 = \text{mmol/L}$

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด Cholesterol ให้ปฏิบัติตาม “หัวข้อ 4.4 การตรวจสอบความไม่แน่นอนของการวัดจากค่าเชิงปริมาณ ในเรื่องระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)” ลงบันทึกไว้ใน “ตารางการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดในการทดสอบเชิงปริมาณวิเคราะห์(FM-LAB-281)”

15. ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก (biological reference intervals or clinical decision values)

Desirable cholesterol level	<200 mg/dL
Borderline high cholesterol	200-239 mg/dL
High cholesterol	≥240 mg/dL


16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ Cholesterol เท่ากับ 3.86-800 mg/dL

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

ถ้าผลการทดสอบ Cholesterol > 800 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะแจ้งจางส่งตรวจในอัตราส่วน 1:10 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคูณ dilution factor = 10 ให้โดยอัตโนมัติ

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 14 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือนที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 ค่า Cholesterol ต่ำกว่าปกติ หมายถึง กรณีที่วัดค่า Cholesterol ได้ต่ำกว่าค่าปกติ ซึ่งสภาวะแบบนี้เกิดขึ้นได้ไม่บ่อยนัก ซึ่งอาจมีสาเหตุเกิดจาก

- เกิดสภาวะทุโภชนา (Malnutrition) คือ ภาวะที่เกิดขึ้นจากการรับประทานอาหารไม่สมดุลกัน โดยอาจมีสารอาหารบางอย่างได้รับไม่เพียงพอ น้อยหรืออาจจะมากเกินไป
- อาจมีเซลล์ตับตายเฉพาะส่วน (Cellular Necrosis of The Liver)
- อาจเกิดจากสภาวะต่อมไทรอยด์ทำงานผิดปกติ (Hyperthyroidism)

19.2 ค่า Cholesterol สูงกว่าปกติ หมายถึง กรณีที่วัดค่า Cholesterol ได้สูงกว่าค่าปกติ เรียกสภาวะนี้ว่า Hypercholesterolemia ซึ่งสภาวะนี้จะเป็นอันตรายต่อร่างกาย เนื่องจากทำให้เกิดความเสี่ยง ในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้หากไม่รักษาให้ค่าลดลงเป็นปกติโดยค่า Cholesterol สูงกว่าปกติ อาจเกิดจาก

- อาจกำลังเกิดโรคตับอักเสบ (Hepatitis)
- อาจกำลังเกิดปัญหาท่อในถุงน้ำดีอุดตัน
- อาจเกิดสภาวะโรคไต (Nephrotic Syndrome)
- อาจเกิดโรคตับอ่อนอักเสบ จึงอาจผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารไขมันและโปรตีนไม่ได้
- อาจเกิดสภาวะดีซ่าน ในถุงน้ำดีเกิดการอุดตันขึ้น (Obstructive jaundice) ทำให้ตับไม่สามารถขับเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ตายแล้ว ออกทางท่อถุงน้ำดีได้ จึงทำให้ค่า Bilirubin ในเลือดสูงขึ้น มีผลทำให้เกิดอาการตัวเหลือง ตาเหลือง

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)

20.1.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ

20.1.2 เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน CHOL2 cassette อันใหม่


20.1.3 มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ

20.1.4 เก็บรักษา CHOL2 cassette โดยไม่ตั้งให้ตรงอาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิดสัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิดพลาด(การไปเปิดต, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง(freeze-thaw)ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก(ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator

- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นาน หรือนำ Calibrator ที่เหลือซึ่งผ่านการใช้แล้วมาใช้สอบเทียบซ้ำอีก

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-005	หน้า 15 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- เปลี่ยน lot ใหม่
- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน (ควรเปลี่ยนทุกๆ 1 เดือน)
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration
- Measurement syringe รั่ว/เสื่อม
- หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ หรือเปลี่ยนอะไหล่ใหม่ เช่น source Lamp, reagent probe, sample probe แล้วไม่ได้ calibration ใหม่
- ทำ maintenance check หรือทำ preventive maintenance เลยวงรอบหรือไม่ทำตามเงื่อนไขคำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด

20.4 ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (Sample)

- ตัวอย่างมีการ clot ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องวิเคราะห์
- ตัวอย่างมีการระเหยเนื่องจากตั้งทิ้งไว้นานเกินไปก่อนถูก sample probe ดูดไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ Hitachi cup/Hitachi micro cup

21. เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา Cholesterol (PI-LAB-005)
- 21.2 คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)
- 21.3 ใบแทรกสารเทียบ Calibrator for automated system (C.f.a.s) (PI-LAB-110)
- 21.4 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.5 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร..... WI-LAB-005 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Cholesterol

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายสิปปนนท์ฯ
1 พ.ย. 63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	นายสิปปนนท์ฯ
1 พ.ย. 64	1	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์
1 พ.ย. 65	2	แก้ไขข้อ 7.5 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ ยกเลิกหัวข้อ 7.5.1 แก้ไขข้อ 11 ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ ยกเลิกข้อ 11.1.2, 11.1.7 และ 11.2.5.2 แก้ไขข้อ 21 เอกสารอ้างอิง ยกเลิกข้อ 21.4	นายสิปปนนท์
1 ก.พ. 66	2	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์



แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ CHOLESTEROL

WI-LAB-005

แก้ไขครั้งที่.....

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะระมย์)

ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก

...../...../.....

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

...../...../.....

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)