



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ Uric acid

WI-LAB-004

แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ

(นายสิปพนธ์ ศรีวะรมย์)
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

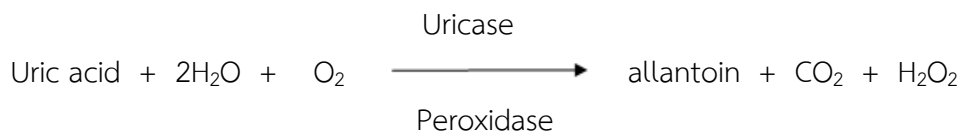
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 1 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Uric acid ในตัวอย่าง serum, plasma และ Urine ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Uric Acid ver.2 (UA2 Cat. No. 03183807 190)
- 1.2 ตรวจหาระดับ Uric acid ในเลือด เพื่อใช้วินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคเก๊าต์และโรคไต
- 1.3 เพื่อให้ทราบว่าในเลือดมี uric acid สูงถึงระดับที่อาจอยู่ในอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคเก๊าต์หรือไม่?

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

- 2.1 หลักการ (Principle) : น้ำยา UA2 ใช้หลักการ Enzymatic Colorimetric test Uric acid จะถูกเปลี่ยนไปเป็น allantoin และ Hydrogen peroxide โดยเอนไซม์ uricase หลังจากนั้น 4-aminophenazone จะถูก Oxidized โดย Hydrogen peroxide เมื่อมีเอนไซม์ Peroxidase เกิดเป็น quinon-deimine dye ตามสมการเคมีดังนี้



ความเข้มสีของ quinon-deimine dye จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ Uric acid วัดค่าได้จากการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น

(a = N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylaniline)


- 2.2 วิธีการ(method) : ใช้วิธี Uricase, colorimetric

Traceability: This method has been standardized against ID/MS

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบ Uric acid ต่อไปนี้อ้างอิงจากไบแทรกน้ำยา Uric acid ver.2 (PI-LAB-004) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

- 3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตาม internal protocol ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา UA2 โดยใช้วิธีการตรวจวัดค่า Uric acid ซ้ำแบบ within-day/within-run (repeatability) และ between-day run (intermediate precision) ได้ผลดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา				
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid				
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004			หน้า 2 จาก 20 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 2			วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

3.1.1 Serum/Plasma

a) Repeatability, n = 21 (ตรวจวิเคราะห์ซ้ำ 21 ครั้งในรอบการทดสอบเดียวกัน)

Serum/plasma	Mean		SD		CV	ผลการตรวจสอบ เทียบกับเกณฑ์
	μmol/L	mg/dL	μmol/L	mg/dL	%	
Precinorm U	270	4.54	2	0.04	0.9	Pass
Precipath U	660	11.1	6	0.10	0.7	Pass
Human serum 1	240	4.03	2	0.04	1.0	Pass
Human serum 2	430	7.23	4	0.06	0.8	Pass

b) Intermediate precision, 3 aliquots ต่อ run, 1 run ต่อวัน, ทำติดต่อกัน 21 วัน


Serum/plasma	Mean		SD		CV	ผลการตรวจสอบ เทียบกับเกณฑ์
	μmol/L	mg/dL	μmol/L	mg/dL	%	
Precinorm U	266	4.47	4	0.07	1.5	Pass
Precipath U	660	11.1	12	0.20	1.6	Pass
Human serum 3	236	3.96	3	0.05	1.3	Pass
Human serum 4	427	7.17	6	0.10	1.3	Pass

เกณฑ์การยอมรับ precision สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Uric acid ใน Serum/Plasma :-

- Within-run CV ≤ 2.5%
- Between-run CV ≤ 3.33%

อ้างอิงเกณฑ์การยอมรับจาก :

- Westgard แนะนำ within-run %CV ไม่ควรเกิน 1/4 of TEa และ between-run %CV ไม่ควรเกิน 1/3 of TEa
- TEa = ±10 (จาก CLIA 2019)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 3 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

3.1.2 Urine

a) Repeatability n =21 (ตรวจวิเคราะห์ซ้ำ 21 ครั้งในรอบการทดสอบเดียวกัน)

	Mean	SD	CV	ผลการตรวจสอบ
	mg/dL(μmol/L)	mg/dL(μmol/L)	%	เทียบกับเกณฑ์
Control level 1	11.7 (696)	0.1 (6)	1.2	PASS
Control level 2	21.7 (1291)	0.3 (18)	1.3	PASS
Urine 1	28.8 (1714)	0.6 (36)	2.1	PASS
Urine 2	32.5 (1934)	0.5 (30)	1.5	PASS

b) Intermediate precision , 3 aliquots ต่อ run, 1 run ต่อวัน, ทำติดต่อกัน 21 วัน

	Mean	SD	CV	ผลการตรวจสอบ
	mg/dL(μmol/L)	mg/dL(μmol/L)	%	เทียบกับเกณฑ์
Control level 1	11.4 (678)	0.2 (12)	1.9	PASS
Control level 2	21.3 (1267)	0.3 (18)	1.6	PASS
Urine 3	29.3 (1743)	0.9 (54)	3.0	PASS
Urine 4	32.1 (1910)	0.8 (48)	2.3	PASS

เกณฑ์การยอมรับ precision สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Uric acid ใน Urine

- Within-run CV ≤ 4.85% (0.25TEa)
- Between-run CV ≤ 6.46% (0.33TEa)

อ้างอิงเกณฑ์การยอมรับจาก

- Westgard แนะนำ within-run %CV ไม่ควรเกิน 1/4 of TEa และ between-run %CV ไม่ควรเกิน 1/3 of TEa
- TEa = ±19.39% for 24h urine (จาก Desirable Biological Variation Database specifications)
- I = 8.4% for 24h urine (จาก BV desirable specification for imprecision)

3.2 คุณลักษณะเมื่อเปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

3.2.1 Serum/Plasma วิเคราะห์ค่า Uric acid โดยใช้ตัวอย่างจากมนุษย์ทั้ง ซีรัม พลาสมา ด้วยเครื่อง COBAS c 501 (y) โดยใช้น้ำยา Uric acid ver.2 (UA2) กับ เครื่อง Roche/Hitachi 917 (x) ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 89

Passing/Bablok : $y = 0.993x + 0.158$ mg/dL, T = 0.969


Linear regression : $y = 0.986x + 0.224$ mg/dL, r = 1.000, Pass

โดยที่ผลการวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 2.70 ถึง 23.4 mg/dL

3.2.2 Urine

Sample size (n) = 86

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 4 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Passing/Bablok : $y = 0.997x + 4.56 \text{ mg/dL}$, $T = 0.952$

Linear regression : $y = 0.998x + 0.522 \text{ mg/dL}$, $r = 0.999$, PASS

โดยที่ผลการวิเคราะห์อยู่ระหว่าง 6.35 ถึง 269 mg/dL

เกณฑ์การยอมรับ method comparison การตรวจวิเคราะห์ Uric acid

- Regression analysis : 95%CI ของ y-intercept ต้องครอบคลุมค่า 0, ค่า 95%CI ของ slope ต้องครอบคลุมค่า 1

- Correlation coefficient (r) : $r > 0.975$

- กราฟแบบกระจายของข้อมูลมีสหสัมพันธ์สอดคล้องกันดีตลอดช่วงการวัด AMR

- Bias plot แสดงการเกาะกลุ่มกันของข้อมูล และ 95%CI ของ mean bias ครอบคลุมค่า 0.0

- มีหลักฐานแสดง bias โดยใช้เกณฑ์การยอมรับ $\text{Bias} \leq 4.5055\%$

ผลการตรวจสอบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับ method comparison

- ค่า Bias เทียบกับเกณฑ์ ณ ค่า Medical decision level ของ Serum/Plasma Uric acid ที่ 8.0 mg/dL : ผ่าน (PASS)

- ค่า r เทียบกับเกณฑ์ แล้วมากกว่า 0.975 ทั้งใน Serum/Plasma และ Urine : ผ่าน (PASS)

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Serum

4.2 Plasma ที่ใช้ Lithium heparin และ K_2 -EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง

EDTA plasma values are approximately 7 % lower than serum values.

4.3 24h Urine ที่เติม NaOH ให้มี pH > 8

4.4 การตรวจ Uric acid แต่ละครั้ง เครื่อง cobas c 501 จะใช้ Normal sample volume 3 ไมโครลิตร


4.5 ความคงตัวของตัวอย่าง

ชนิดตัวอย่าง	อุณหภูมิ	ความคงตัว
Serum/Plasma	20-25°C	3 วัน
	4-8°C	7 วัน
	-20 °C	6 เดือน
Urine (with preservative)	20-25°C	3 วัน
	2-8°C	-
	(-15) - (-25) °C	-

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

5.1 ควรบริโภคอาหารตามปกติในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนตรวจ

5.2 การตรวจ Uric acid ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด แต่ถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ Uric acid แต่ความขุ่นของไขมัน (chylomicrons) ที่เกิดจากการรับประทานอาหารอาจรบกวนการทดสอบนี้ และการอดอาหาร 8-16

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 5 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

ชั่วโมงก่อนเจาะเลือด จะทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์รายการทดสอบอื่นๆ ที่ใช้ตัวอย่างเลือดจากการเจาะเก็บครั้งเดียวกันนี้มีความถูกต้องน่าเชื่อถือมากกว่า

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)


- 6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Uric acid ได้แก่
 - 6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL
 - 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีแดง)ขนาดบรรจุ 3-4 mL
 - 6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี K_2 -EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL **ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Uric acid 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 Uric Acid ver.2 (UA2 Cat. No. 03183807 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 8 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา UA2 มีดังนี้

- R1 : Phosphate buffer 0.05 mol/L, pH 7.8
 TOOS 7 mmol/L
 Fatty alcohol polyglycol ether 4.8%
 Ascorbate oxidase (EC 1.10.3.3; zucchini; 25 °C) \geq 83.5 μ kat/L
- R2 : Phosphate buffer 0.1 mol/L, pH 7.8

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 6 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Potassium hexacyanoferrate (II) 0.30 mmol/L

4-aminophenazone \geq 3mmol/L

Uricase (EC 1.7.3.3; Arthrobacter protophormiae; 25 °C) \geq 83.4 μ kat/L

Peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7; horseradish; 25 °C) \geq 50 μ kat/L

R1 is in position B and R3 is in position C.

7.4 สารปรับแต่งมาตรฐาน

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 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ 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 3 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 Uric acid ใน

Serum/Plasma สูงเกิน 25 mg/dL หรือใน Urine สูงเกิน 275 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

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 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับ

ตัวอย่างตรวจ

8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 7 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

9.1 ข้อกำหนดในการสอบเทียบ

ขั้นตอนการสอบเทียบให้ดำเนินการตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

9.1.1 ทำการสอบเทียบแบบ 2-point calibration กับน้ำยา UA2 ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ

- เปิดใช้งานน้ำยา UA2 ครั้งแรก
- น้ำยา UA2 เปลี่ยนรุ่นการผลิต(Lot) ใหม่
- มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไข ปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่(re-calibration)

9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารปรับแต่งมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารปรับแต่งมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบ ประกอบด้วย


- Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)
- Standard 2: Calibrator f.a.s.

9.2 วิธีการสอบเทียบ

9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ Calibrator f.a.s. Cat. No. 10759350 190 ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับ Lot ที่เคย download ข้อมูลการกำหนดค่าความเข้มข้นของ Uric acid เก็บไว้ในเครื่อง cobas c 501 ถ้าหาก Lot ที่จะใช้งานไม่ตรงกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ให้ download ข้อมูล Calibrator f.a.s. Lot ใหม่ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby โดยปฏิบัติตามหัวข้อ “การตรวจสอบ lot และการ download calibrator” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

9.2.2 นำขวดที่บรรจุผง C.f.a.s มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10-20 นาที แล้วละลายด้วยน้ำกลั่น 3 mL โดยใช้ Volumetric pipette ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันโดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้อง หรือแบ่งเก็บที่อุณหภูมิ (-25 °C) – (-20 °C) ใน Hitachi cup 300-500 ไมโครลิตร /cup กรณีมีการนำ C.f.a.s. ที่เก็บแช่แข็งไว้มาใช้งานให้นำออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 10-20 นาที หรือจนกว่าจะหายเย็น แล้วจึงผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 8 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

9.2.4 บรรจุ c.f.a.s ที่ละลายจนพร้อมใช้งานแล้วประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample cup (Hitachi cup) ใส่ลงไป Rack สีดำอันเดียวกันกับในข้อ 9.2.3 แล้วทำการ calibrate น้ำยา UA2 โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “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

- เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำ Daily begin เวลา 05.00 น. โดยอัตโนมัติ
- 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)

- นำ Cassette น้ำยา UA2 ออกจากตู้เย็น แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัส แถบ barcode
- เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ำยา UA2 ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยา แต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
- นำ Cassette น้ำยา UA2 ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ำยาเข้าไปในเครื่องขณะเครื่องอยู่ในสถานะ preparation เครื่องจะเจาะรูที่ฝาน้ำยาและนำไปเก็บใน reagent disk พร้อมกับ register น้ำยาโดยอัตโนมัติ โปรแกรมของระบบเครื่องมือจะเริ่มนับอายุของน้ำยาทยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 8 สัปดาห์


10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวน การทดสอบเมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจได้ Serum/Plasma แล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจ ต้องไม่มีฟองหรือก้อนไขมันลอยอยู่ และควรมีส่วนของ Serum/Plasma อย่างน้อย 500 μ L

10.2 ถ้ายังไม่มี การสอบเทียบน้ำยา UA2 Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.

10.3 ถ้ายังไม่มี การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น ให้ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 11.

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 9 จาก 20 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	


- 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 uL) วางบน Rack สีเทา(กรณีไม่เร่งด่วน)หรือ Rack สีแดง(กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 uL) 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

Cobas c 501 test definition for Serum/Plasma

Assay type	:	2-Point End		
Reaction time / Assay points	:	10 / 37-70		
Wavelength (sub/main)	:	700/546 nm		
Reaction direction	:	Increase		
Units	:	µmol/L (mg/dL, mmol/L)		
Reagent pipetting			Diluent (H ₂ O)	
R1	:	77 µL		-
R3	:	38 µL		-
<i>Sample volumes</i>		<i>Sample</i>	<i>Sample dilution</i>	
			<i>Sample</i>	<i>Diluent (NaCl)</i>
Normal	:	2 µL	-	-
Decreased	:	5 µL	15 µL	135 µL
Increased	:	2 µL	-	-

cobas c 501 test definition, Application for urine

Assay type	:	2-Point End		
Reaction time / Assay points	:	10 / 37-70		
Wavelength (sub/main)	:	700/546 nm		
Reaction direction	:	Increase		
Units	:	µmol/L (mg/dL, mmol/L)		
Reagent pipetting			Diluent (H ₂ O)	
R1	:	77 µL		-
R3	:	38 µL		-
<i>Sample volumes</i>		<i>Sample</i>	<i>Sample dilution</i>	
			<i>Sample</i>	<i>Diluent (NaCl)</i>
Normal	:	5 µL	3 µL	147 µL
Decreased	:	2 µL	3 µL	147 µL
Increased	:	5 µL	3 µL	147 µL

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 10 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

Calibration

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

Calibration interval may be extended based on acceptable verification of calibration by the laboratory.

Traceability: This method has been standardized against ID/MS

10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น mg/dL

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

ให้อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

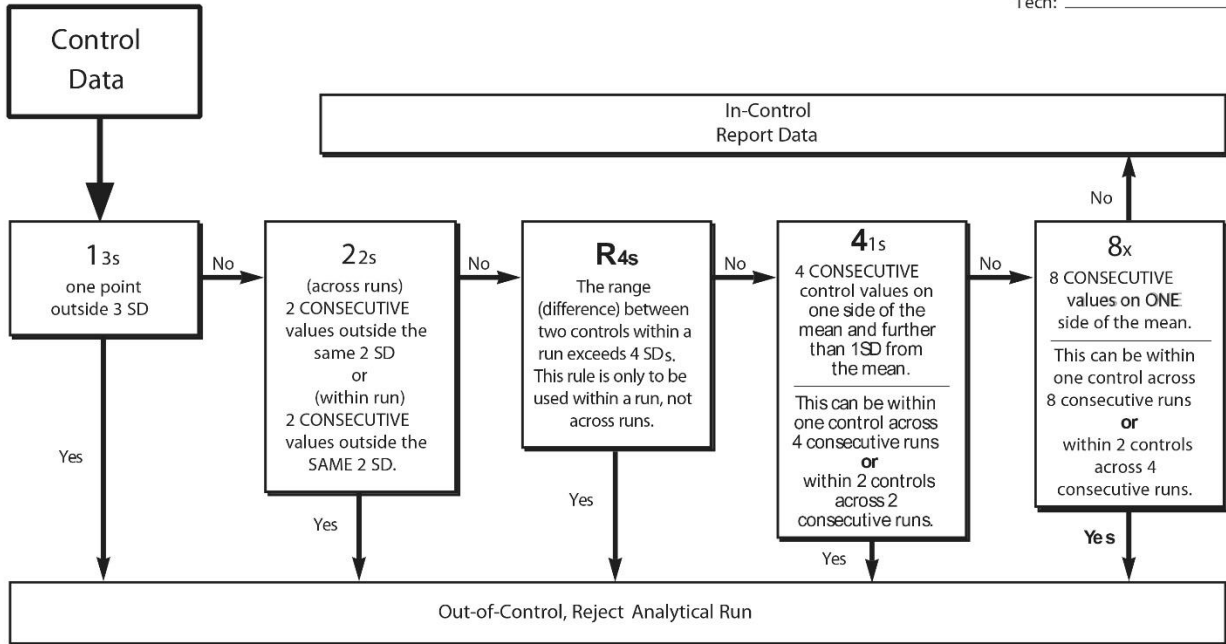
11.1.1 เกณฑ์การตัดสินผลการควบคุมคุณภาพภายใน ให้พิจารณาเลือกใช้กฎบางกฎที่แนะนำไว้ใน Modern “Westgard Rules” ได้แก่ 1-3S, 2-2S หรือ 2of3-2S, R-4S ร่วมกับเกณฑ์ between run $CV \leq 0.33TEa$ และ Peer group $SDI \leq 1$ โดยการติดตามตรวจสอบและประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจวิเคราะห์ Uric acid ใน Quality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



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

Date: _____


Tech: _____



Problem: _____

Resolution: _____

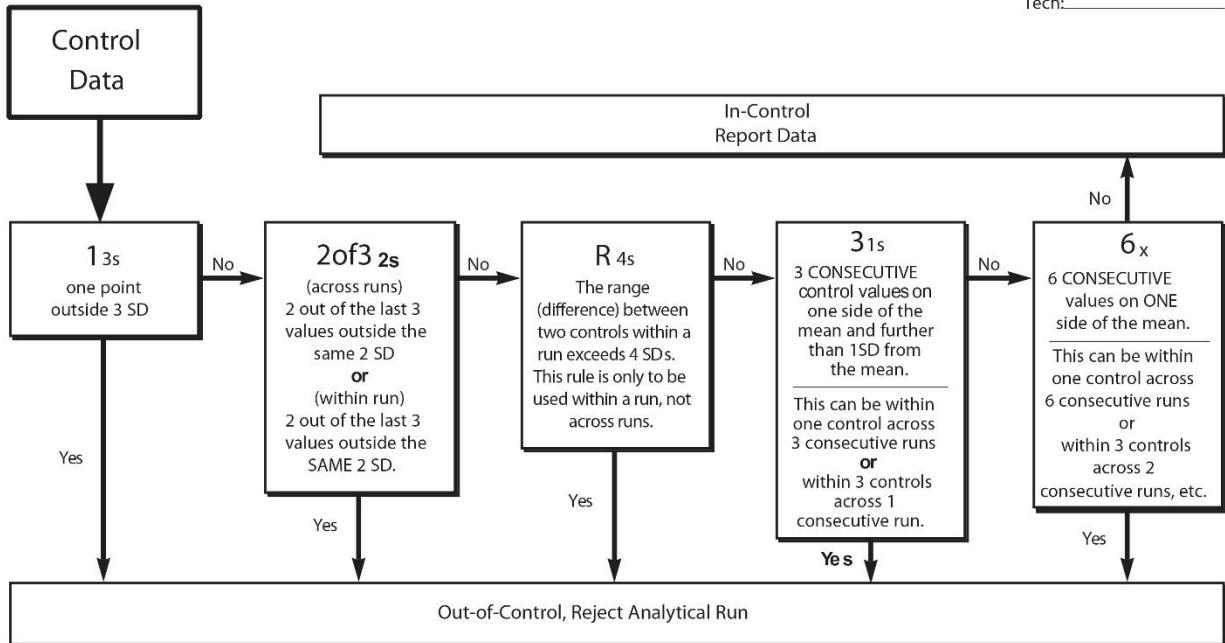
Find out more at <http://www.westgard.com>

	แผนกพยาบาลวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 12 จาก 20 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 Uric acid 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 Uric acid ดังต่อไปนี้
- Serum/Plasma, TEa = $\pm 10\%$ (อ้างอิงจาก CLIA 2019)
 - 24h urine, TEa = $\pm 19.39\%$ (อ้างอิงจาก Desirable Biological Variation Database specifications)
- 11.1.4 การติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบ Uric acid ระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV_{bd}) โดยใช้เกณฑ์ ดังนี้
- Serum/Plasma : between-run CV $\leq 3.33\%$ (จาก 0.33TEa)
 - 24h urine, between-run CV $\leq 8.4\%$ (จาก BV desirable specification for imprecision)
- 11.1.5 การละลายสารวัสดุควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ที่เป็นผงซีรัมแห้ง(Lyophilized serum) ก่อนละลายให้นำขวดบรรจุเอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 13 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566


ซีรัมแห้งนี้มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน 10-20 นาที จนมั่นใจว่าได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง และในเวลาเปิดฝาขวดให้เปิดด้วยความระมัดระวัง เพราะการบรรจุขวดใช้ระบบสุญญากาศ ถ้าเปิดทันทีจะทำให้ผงซีรัมแห้งที่อยู่ภายในขวดปลิวออกมาได้ ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นไม่ถูกต้อง ใช้ Volumetric pipette ตูจจ่ายตัวทำละลาย(น้ำกลั่น) 5 mL ลงไปละลายผงซีรัมแห้ง ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน โดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากัน จนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหยางขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้องหรือแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าเท่ากับ -20°C ถ้ามีการแช่แข็งในช่องแช่แข็ง (-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 Uric acid ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้

- การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ Uric acid 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)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 14 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- ติดตามตรวจสอบผล IQC ให้ละเอียดมากขึ้น สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Uric acid ใน Levey-Jennings chart โดยใช้โปรแกรม TIQCon (Total Integrated Quality Control for clinical laboratory) ผลิตภัณฑ์ Roche ช่วยประมวลผล รวมถึงการเปรียบเทียบผลกับ Peer group ตรวจสอบผล IQC แบบอัตโนมัติตาม control rule ที่กำหนดไว้ และติดตาม between-run CV

11.2.6 เมื่อผลการทำ IQC ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดหรือมีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ Uric acid มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญ ให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาส่งต่อผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก และผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึก รายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่ทำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025) เมื่อทำการแก้ไขสาเหตุของความคลาดเคลื่อนแล้ว จึงจะตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยซ้ำ รวมทั้งย้อนกลับไปพิจารณารายงานผลวิเคราะห์ที่ออกไปแล้วนับตั้งแต่การทำควบคุมคุณภาพภายในรอบก่อนหน้านี้นี้

หมายเหตุ : TIQCon is Web base peer group comparison tool(inter-laboratory) for Roche SWA customers using Roche manufactured controls.

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดที่สำคัญ ดังนี้

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

12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า Uric acid ร่วมกันกับรายการทดสอบอื่นๆ ในตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS โดยการตรวจพร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง EQAS ของแต่ละเดือน

12.3 บันทึกส่งรายงานผล online เข้าประเมิน(submit results) ดูผลหรือพิมพ์ผลการประเมิน(view or print EQAS reports) ทาง www.OCNet.com


12.4 เมื่อโปรแกรม EQAS ประเมินผลเสร็จแล้ว ให้ Download รายงานผลมาเก็บไว้ใช้ทบทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

12.5 ตรวจสอบผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยใช้เกณฑ์และเป้าหมายดังนี้

12.5.1 Serum/Plasma

EQA Uric acid, เกณฑ์ผ่าน Absolute Z-score < 2.0, เป้าหมายที่ต้องการ < 1.5

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 15 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

TE < TEa, เมื่อ TEa = $\pm 10\%$ (CLIA 2019), %TE=%Bias+1.65%CV

Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 4.5055%

12.5.2 24h Urine

EQA Uric acid, เกณฑ์ผ่าน VIS ≤ 150 , เป้าหมายที่ต้องการ ≤ 100

TE < TEa, เมื่อ TEa = $\pm 19.39\%$ (BV desirable), %TE=%Bias+1.65%CV

Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 5.53% (BV desirable specification for inaccuracy)

12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหรือกันเมื่อผลประเมินEQASการทดสอบ Uric acid ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกันในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

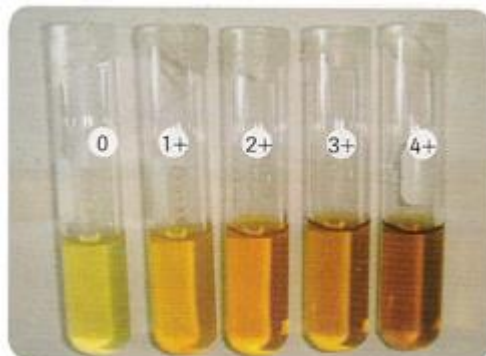
13. สิ่งรบกวน (interferences)

เกณฑ์(critical) : ความเข้มข้นของสารต่อไปนี้จะรบกวนผลการวิเคราะห์ไม่เกิน 10% ที่ความเข้มข้นของ Uric acid ที่ 7 mg/dL

13.1 สิ่งรบกวนการทดสอบ Uric acid ใน Serum/Plasma

13.1.1 Serum/Plasma ที่มีส่วนประกอบ 4 ชนิดต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ Uric acid

ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา		ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	I index ≤ 40 for conjugated and Unconjugated Bilirubin.	conjugated and Unconjugated Bilirubin. ≤ 40 mg/dL	4+
Hemolysis	H index $\leq 1,000$	hemoglobin $\leq (1,000$ mg/dL)	4+
Lipemic (Intralipid)	L index $\leq 1,500$	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)

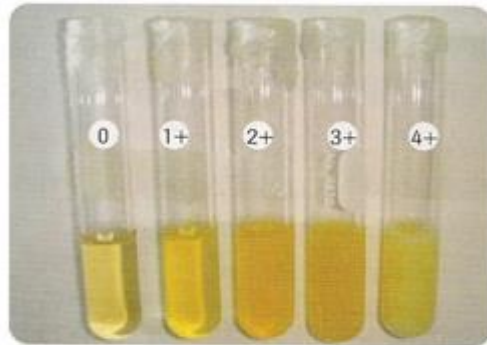
Hemoglobin concentration

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

- 13.1.2 ไม่พบการรบกวนของ Ascorbic acid ที่ < 3 mg/dL
- 13.1.3 ไม่พบการรบกวนของยาเมื่อทำทดสอบด้วย Common drug panels
- 13.1.4 ใน rare case ของ gammopathy โดยเฉพาะ IgM type (Waldenström's macroglobulinemia) อาจส่งผลให้ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่น่าเชื่อถือ
- 13.1.5 Dicynone (Etamsylate) ทำให้เกิดผลกรดยูริกต่ำปลอมได้
- 13.1.6 Acetaminophen intoxications ที่มักใช้รักษา กับ N-Acetylcysteine ปริมาณ N-Acetylcysteine ใน plasma ที่ระดับการรักษา และ Acetaminophen metabolite N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) จะส่งผลให้เกิดค่าต่ำปลอม
- 13.1.7 การเจาะเลือดควรเจาะก่อนการให้ Metamizole การเจาะเลือดทันทีหลังจากให้หรือระหว่างการให้ Metamizole จะส่งผลให้เกิดค่าต่ำปลอม
- 13.2 สิ่งรบกวนการทดสอบ Uric acid ใน Urine
- 13.2.1 ไม่พบการรบกวนของยาเมื่อทำทดสอบด้วย Common drug panels ยกเว้น Calcium dobesilate, Levodopa และ methyl dopa ทำให้เกิดผลกรดยูริกต่ำปลอมได้
- 13.2.2 กรดโฮโมเจนทิสิก (homogentisic acid) ความเข้มข้นสูงในตัวอย่างตรวจปัสสาวะให้ผลผิดพลาดได้
- 13.2.3 Acetaminophen, Acetylcysteine และ Metamizole metabolized เร็ว อาจรบกวนการตรวจได้
- 13.2.4 เกณฑ์(criterial) : ความเข้มข้นของสารต่อไปนี้รบกวนผลการวิเคราะห์ไม่เกิน 10% ที่ความเข้มข้นของกรดยูริกที่ 92 mg/dL
- ไม่พบการรบกวนของ Urea ที่ความเข้มข้น 12,612 mg/dL

For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 17 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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 Uric acid ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor: $\text{mg/dL} \times 59.5 = \mu\text{mol/L}$
 $\text{mg/dL} \times 10 = \text{mg/L}$

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

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

Serum/plasma

Males: 3.4-7.0 mg/dL (202.3-416.5 $\mu\text{mol/L}$)

Females: 2.4-5.7 mg/dL (142.8-339.2 $\mu\text{mol/L}$)

Urine (reference range according to Krieg and Colombo)

1st morning urine 37-92 mg/dL (2200-5475 $\mu\text{mol/L}$)

24hour urine 200-1000 mg/day (1200-5900 $\mu\text{mol/day}$)

ซึ่งเทียบเท่ากับ creatinine 1-67 mg/dL (773-3986 $\mu\text{mol/L}$) (คำนวณจาก urine volume of 1.5 L/24 h)

Urine (reference range according to Tietz)

Average diet : 250-750 mg/24 hours

Low purine diet :

Females < 400 mg/24 hours

Males < 480 mg/24 hours

High purine diet : < 1000 mg/24 hours

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)


ค่า AMR (Analytical Measurement Range) ของ Uric acid

Serum/plasma

0.2-25.0 mg/dL (11.9-1487 $\mu\text{mol/L}$)

Urine

2.2-275 mg/dL (131-16362 $\mu\text{mol/L}$)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 18 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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

- 17.1 ถ้าผลการทดสอบ Serum/Plasma Uric acid >25.0 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c501 จะเจือจางสิ่งส่งตรวจในอัตราส่วน 1:2.5 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคูณ dilution factor = 2.5 ให้โดยอัตโนมัติ
- 17.2 ถ้าผลการทดสอบ Urine Uric acid >275 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะเจือจางสิ่งส่งตรวจในอัตราส่วน 1:2.5 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคูณ dilution factor = 2.5 ให้โดยอัตโนมัติ

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

-

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

Uric acid เป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากการสลาย(catabolism) ของ purine nucleotides ได้แก่ adenosine และ guanosine ซึ่งเป็นสารสำคัญในการสร้างสาย DNA ในเซลล์ต่างๆ สาร purine ที่ได้จากอาหารและการสลายของ endogenous nucleic acids จะเปลี่ยนเป็น Uric acid ที่ตรวจพบในเลือด Uric acid ส่วนใหญ่ได้มาจากการสลายของ purine ที่สร้างขึ้นเองในร่างกายซึ่งพบมากกว่า 90% และน้อยกว่า 10% ที่ได้จากอาหาร เช่น ถั่วฝักยาว ผักยอดอ่อน หน่อไม้ กาแฟ โกโก้ และเครื่องในสัตว์ การกำจัดออกทางปัสสาวะโดยไตประมาณ 75% ส่วนที่เหลือกำจัดออกทางระบบทางเดินอาหาร การขับออกทางปัสสาวะ มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่สำคัญ คือ pH ของปัสสาวะ ถ้า pH สูงกว่า 5.57 จะอยู่ในรูปของ urate ion ละลายน้ำได้ดีกว่า ถ้า pH ต่ำกว่า 5.57 จะอยู่ในรูปที่เป็นผลึก urate crystal ดังนั้นหากมีการสะสมของ uric acid ในเนื้อเยื่อต่างๆ และตามข้อ จึงมีสาเหตุมาจากการที่ร่างกายผลิต uric acid สูงหรือเนื่องจากไตมีการขับออกทางปัสสาวะได้น้อยกว่าปกติ


19.1 Uric acid ในเลือดระดับสูงกว่าปกติ

Uric acid ที่มีระดับในเลือดสูงกว่าปกติ(hyperuricemia) เป็นตัวบ่งชี้ของการเป็นโรคเก๊าต์(gout) โดยวินิจฉัยร่วมกับอาการทางคลินิก ซึ่งผู้ป่วยจะมีอาการปวดข้ออย่างเฉียบพลัน (acute arthritis) มีอาการ ปวด บวม แดง ร้อน ที่ข้อ และมักเป็นข้อเดียว ข้อที่พบอาการแสดงบ่อย ได้แก่ ข้อนิ้วหัวแม่เท้า ข้อเท้า ข้อเข่า และการมีผลึกของ uric acid เกาะตามข้อ(tophi) โรคหรือภาวะที่มีระดับของ uric acid ในกระแสเลือดสูง ดังนี้

19.1.1 โรคเก๊าต์ เป็นโรคที่มี Uric acid ในเลือดสูง และมีการตกผลึกตามข้อ ที่ไต และเนื้อเยื่อต่างๆ เรียกว่า โทไฟ(tophi) เป็นผลึกชนิด urate crystal หากตรวจไม่พบ tophi จะเรียกผู้ที่มีระดับ uric acid สูง(hyperuricemia) ชนิดไม่มีอาการ

19.1.2 Acute arthritis

19.1.3 โรคไตเรื้อรัง(chronic kidney disease)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 19 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 19.1.4 โรคมะเร็งเม็ดเลือด(Leukemia, high WBC) ที่มีการสลายของเซลล์เม็ดเลือดตัวอ่อนที่ยังมีนิวเคลียสสูง
- 19.1.5 การรับประทานอาหารที่มี purine สูง เป็นประจำ
- 19.1.6 การได้รับยาลดการขับปัสสาวะ(antidiuretic drugs) ซึ่งจะมีผลต่อการขับ uric acid ออกทางปัสสาวะได้น้อยลง

19.2 Uric acid ในเลือดระดับต่ำกว่าปกติ ไม่มีความสำคัญทางคลินิกในการวินิจฉัยโรค

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)


- 20.1.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- 20.1.2 เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน UA2 cassette อันใหม่
- 20.1.3 มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ
- 20.1.4 เก็บรักษา UA2 cassette โดยไม่ตั้งให้ตรงอาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด(การไปเปดต์, 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
- เปลี่ยน lot ใหม่
- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน (ควรเปลี่ยนทุกๆ 1 เดือน)
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ดิบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration (การทำ Re-calibration ไม่ควรเกิน 90 วัน สำหรับน้ำยา UA2 Lot เดิม)
- Measurement syringe รั่ว/เสื่อม
- หลังการทำ preventive maintenance ครั้งใหญ่ หรือเปลี่ยนอะไหล่ใหม่ เช่น source Lamp, reagent probe, sample probe แล้วไม่ได้ calibration ใหม่

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Uric acid	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-004	หน้า 20 จาก 20 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 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 Uric acid(PI-LAB-004)
- 21.2 คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)
- 21.3 ใบแทรกสารเทียบ Calibrator 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-004 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Uric acid

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 11.2.5.3 แก้ไขข้อ 21 เอกสารอ้างอิง ยกเลิกข้อ 21.4	นายสิปปนนท์
1 ก.พ. 66	2	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ Uric acid

WI-LAB-004

แก้ไขครั้งที่

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรัมย์)

ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก

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

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

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

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

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

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)