แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง
การตรวจ Direct LDL-CHOLESTEROL

WI-LAB-008

แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ 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**

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ LDL-Cholesterol ในตัวอย่าง serum และ plasma ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา LDL-cholesterol Gen.3 (LDLC3 Cat. No. 07005717 190

1.2 เพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยและรักษาความผู้ป่วยที่มีผิดปกติของไขมัน(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) : น้ำยา LDLC3 ใช้หลักการ Homogeneous enzymatic colorimetric assay

LDL-Cholesterol ester ในตัวอย่างถูกทำให้แตกตัวให้เป็น free cholesterol และ fatty acids โดย Cholesterol esterase, ส่วน LDL-Cholesterol จะถูกออกซิไดซ์โดย Cholesterol oxidase เป็น Δ^4-Cholestenone และ Hydrogen peroxide

$$\text{LDL-Cholesterol esters} + H_2O \xrightarrow[\text{cholesterol esterase}]{\text{Detergent}} \text{Cholesterol} + \text{free fatty acids}$$

(selective micellary solubilization)

$$\text{LDL-Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Cholesterol oxidase}} \Delta^4\text{-Cholestenone} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{4-aminoantipyrine} + \text{EMSE} + H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Red purple pigment} + 5\,H_2O$$

ในสภาวะที่มี Peroxidase, Hydrogen peroxide ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ 4-aminoantipyrine และ EMSE เกิดเป็นสีแดง-ม่วง ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ LDL-Cholesterol ซึ่งวัดได้จากการดูดกลืนแสง

2.2 วิธีการ(method) : ใช้วิธี Direct measure

Traceability: This method has been standardized against the beta quantification method as defined in the recommendations in the LDL-Cholesterol Method Certification Protocol for Manufacturers.

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

คุณลักษณะทางประสิทธิภาพของการทดสอบต่อไปนี้อ้างอิงจากใบแทรกน้ำยา LDL-cholesterol Gen.3 (PI-LAB-008) ในหัวข้อ Specific performance data เป็นรายงานผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในตัวอย่างชนิดต่างๆ ดังนี้

3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตามแนวปฏิบัติของ CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP5:Traditional Replication Test ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา LDL-cholesterol Gen.3 โดยใช้วิธีการตรวจซ้ำแบบ within-run precision หรือ repeatability (n=21) และแบบ between-run precision หรือ intermediate precision (4 aliquots per run, 1 run per day, 21 days). ได้ผลดังนี้

Repeatability (n=21)	Mean mmol/L(mg/dL)	SD mmol/L(mg/dL)	CV %	Allowable CV %	ผลการตรวจสอบ
Precinorm L	2.69(104)	0.02(1)	0.7	4.45	**PASS**
Precipath HDL/LDL-C	4.93(191)	0.03(1)	0.7	4.45	**PASS**
Human serum 1	0.302(11.7)	0.004(0.2)	1.2	4.45	**PASS**
Human serum 2	2.93(113)	0.02(1)	0.7	4.45	**PASS**
Human serum 3	7.83(303)	0.06(2)	0.7	4.45	**PASS**
Human serum 4	3.67(142)	0.03(1)	0.7	4.45	**PASS**
Human serum 5	13.6(526)	0.1(4)	0.8	4.45	**PASS**
Intermediate precision (4 aliquots per run, 1 run per day, 21 days).	Mean mmol/L(mg/dL)	SD mmol/L(mg/dL)	CV %	Allowable CV %	**ผลการตรวจสอบ**
Precinorm L	2.69(104)	0.06(2)	2.3	5.9	**PASS**
Precipath HDL/LDL-C	5.02(194)	0.11(4)	2.1	5.9	**PASS**
Human serum 1	0.316(12.2)	0.008(0.3)	2.5	5.9	**PASS**
Human serum 2	3.03(117)	0.06(2)	2.1	5.9	**PASS**
Human serum 3	8.14(315)	0.16(6)	1.9	5.9	**PASS**
Human serum 4	3.71(143)	0.08(3)	2.1	5.9	**PASS**
Human serum 5	13.7(530)	0.3(12)	2.0	5.9	**PASS**

- เกณฑ์ Imprecision(%CV) : within-run CV ≤ 4.45%, between-run CV ≤ 5.9%

อ้างอิงจากค่า TEa = ± 17.8% (Minimum Specifications from Biological Variation database)

- ผลการตรวจสอบ imprecision เทียบกับเกณฑ์ : ผ่าน(PASS)

3.2 คุณลักษณะเมื่อเปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

3.2.1 เป็นการตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol ในตัวอย่าง serum ของมนุษย์ ด้วยเครื่อง cobas c 501 (y) โดยใช้น้ำยา LDL-cholesterol Gen.3 เปรียบเทียบกับน้ำยารุ่นก่อน(previous reagent) ด้วยเครื่องเดียวกัน (x) ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 100

Passing/Bablok24 : y = 0.984x - 0.019 mmol/L, T= 0.919

Linear regression : y = 0.971x + 0.043 mmol/L, r = 0.999

The sample concentrations were between 0.129 and 13.8 mmol/L(4.99 and 534 mg/dL).

3.2.2 เป็นการตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol ในตัวอย่าง serum ของมนุษย์ด้วยน้ำยา LDL-cholesterol Gen.3 โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 (y) เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 701 (x) ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 167

Passing/Bablok24 : y = 0.988x + 0.021 mmol/L, **T** = 0.937

Linear regression : y = 0.982x + 0.047 mmol/L, r = 0.999

The sample concentrations were between 0.180 and 14.2 mmol/L(6.926 and 549 mg/dL

เกณฑ์การยอมรับ inaccuracy จากการทำ method comparison ของ LDC-c :-

- Correlation coefficient (r) : r > 0.975
- มีหลักฐานแสดง bias โดยใช้เกณฑ์การยอมรับจากแหล่งที่เชื่อถือได้ ได้แก่ Minimum Specifications from Biological Variation database กำหนดค่า %B(minimum specification for inaccuracy) ≤8.2%

ผลการตรวจสอบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับ inaccuracy จาก method comparison

- ค่า Bias เทียบกับเกณฑ์ ณ ค่า Medical decision level ของ LDL-cholesterol ที่ 100 mg/dL และ 130 mg/dL: ผ่าน (PASS)
- ค่า r เทียบกับเกณฑ์ แล้วมากกว่า 0.975 : ผ่าน(PASS)

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Serum

4.2 Plasma ที่ใช้ Lithium heparin, K2 และ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง

4.3 การตรวจ LDL-cholesterol แต่ละครั้ง เครื่อง cobas c 501 จะใช้ Normal sample volume 2 ไมโครลิตร

4.4 การเก็บรักษาตัวอย่าง Serum และ Plasma ที่แบ่งแยกออกมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นใส่ภาชนะบรรจุใหม่แล้วสามารถเก็บที่ 2-8°C ได้นาน 7 วัน เก็บที่ -20 °C และ -70 °C ได้นาน 12 เดือน

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

5.1 ควรบริโภคอาหารตามปกติในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนตรวจ และมีน้ำหนักคงที่

5.2 กรณีส่งตรวจ LDL-Cholesterol โดยไม่ตรวจ Triglycerides ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด แต่ถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ LDL-Cholesterol แต่ความขุ่นของไขมัน(chylomicrons) ที่เกิดจากการรับประทานอาหารอาจรบกวนการทดสอบนี้ และการอดอาหาร 8-16 ชั่วโมงก่อนเจาะเลือด จะทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์รายการทดสอบอื่นๆ ที่ใช้ตัวอย่างเลือดจากการเจาะเก็บครั้งเดียวกันนี้มีความถูกต้องน่าเชื่อถือมากกว่า

5.3 ท่าของผู้ป่วยมีผลกับ LDL-Cholesterol โดยค่าจะลดลง 10-15% หลังนอนลง 20 นาทีและค่าจะลดลง 6% หลังจากเปลี่ยนท่ายืนเป็นนั่ง ดังนั้นควรอยู่ในท่านั่งขณะตรวจเลือด หรือหากตรวจในท่านอนควรตรวจด้วยท่าเดิมในแต่ละครั้ง เพื่อป้องกันผลแปรปรวนจากการเปลี่ยนแปลงท่า

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 **ประเภทของภาชะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา LDL-Cholesterol** ได้แก่

6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL ใช้ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ LDL-Cholesterol ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ โดยให้เก็บตัวอย่างที่ห้องเจาะเลือดของห้องปฏิบัติการ

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีแดง)ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้ในงานประจำวัน สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ

6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ LDL-Cholesterol แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.2 เท่านั้น เมื่อต้องการตรวจสอบเปรียบเทียบผลการตรวจ LDL-Cholesterol กับผลการตรวจจาก serum ให้คูณผลการตรวจที่ได้จาก EDTA plasma ด้วย 1.03

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 LDL-cholesterol Gen.3 (LDLC3 Cat. No. 07005717190 เป็น cassette ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน(ready-to-use) ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 cassette ตรวจได้ 200 Tests เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C วางให้ตั้งตรง จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุ

ข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานบนเครื่อง cobas c 501 แล้วจะมีอายุการใช้งาน 12 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา LDLC3 มีดังนี้

R1 : Bis-trisb) buffer: 20.1 mmol/L, pH 7.0; 4-aminoantipyrine: 0.98 mmol/L; ascorbate oxidase (AOD, Acremonium spec.): ≥ 66.7 μkat/L; peroxidase (recombinant from Basidiomycetes): ≥ 166.7 μkat/L; BSA: 4.0 g/L; preservative

R2 : MOPS buffer: 20.1 mmol/L, pH 7.0; EMSE: 2.16 mmol/L; cholesterol esterase (Pseudomonas spec.): ≥ 33.3 μkat/L; cholesterol oxidase (recombinant from E. coli): ≥ 31.7 μkat/L; peroxidase (recombinant from Basidiomycetes): ≥ 333.3 μkat/L; BSA: 4.0 g/L; detergents; preservative

กรณีรับน้ำยาเข้ามาใหม่ ต้องประเมินคุณภาพ (Verified for performance) ก่อนนำไปใช้งานดังนี้

- ทุกน้ำยา Lot ใหม่ (new lot) ให้ทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำยา lot เก่า ประเมินโดยใช้ตัวอย่างผู้ป่วยอย่างน้อย 3 ระดับให้ครอบคลุม Medical decision level โดยควรมีความแตกต่างอยู่ในช่วงไม่เกินเกณฑ์ Bias ของ LDL-Cholesterol ที่กำหนดไว้ ไม่เกิน 8.0155 % และใช้ QC material อย่างน้อย 1 ระดับ โดยต้องอยู่ในช่วง ±1SD ของ Lot เก่า ถ้าเกิน ±1SD ให้ปรับ Lab mean ใหม่

-ทุกครั้งที่รับน้ำยา Lot เก่าเข้ามาใช้งานใหม่(New shipment) ให้ประเมินโดยใช้ QC material อย่างน้อย 1 ระดับ โดยต้องอยู่ในช่วง ±1SD ของ Lot เก่า ถ้าเกิน ±1SD ให้ปรับ Lab mean ใหม่ด้วย

7.4 สารปรับแต่งมาตรฐาน(calibrator)

7.4.1 Standard 1: H_2O (sterile distilled water for injection)

7.4.2 Standard 2: Calibrator f.a.s. Lipids, Cat. No. 12172623 122 ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 1 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 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

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 น้ำยามีส่วนผสมของสารถนอมรักษาส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

9.1 **ข้อกำหนดในการสอบเทียบ**

9.1.1 ทำการสอบเทียบแบบ 2-point calibration กับน้ำยา LDLC3 ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ

- เปิดใช้งานน้ำยา LDLC3 ครั้งแรก
- น้ำยา LDLC3 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: H_2O (sterile distilled water for injection)
- Standard 2: Calibrator f.a.s. Lipids

9.2 **วิธีการสอบเทียบ**

9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ Calibrator f.a.s. Lipids Cat. No. 12172623 122 ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับLot ที่เคย download ข้อมูลการกำหนดค่าความเข้มข้นของ LDL-cholesterol เก็บไว้ในเครื่อง cobas c 501 ถ้าหาก Lot ที่จะใช้งานไม่ตรงกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ให้ download ข้อมูล Calibrator f.a.s. Lipids 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 f.a.s. Lipids มาละลายด้วยน้ำกลั่น 1 mL โดยใช้ Volumetric pipette ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันโดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหงายขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้อง

9.2.3 บรรจุน้ำกลั่นประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample cup(Hitachi cup) แล้วใส่ลงไปในช่องที่ติดฉลากว่า “H_2O” ของ Rack สีดำ

9.2.4 บรรจุ Calibrator f.a.s. Lipids ที่ละลายจนพร้อมใช้งานแล้วประมาณ 200 ไมโครลิตรลงใน Sample cup(Hitachi cup) ใส่ลงไปใน Rack สีดำอันเดียวกันกับในข้อ 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

- 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)

10.1.3 นำ Cassette น้ำยา LDLC3 ออกจากตู้เย็น แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัสแถบ barcode

10.1.4 เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ำยา LDLC3 ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารปรับแต่งมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)

10.1.5 นำ Cassette น้ำยา LDLC3 ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ำยาเข้าไปในเครื่องขณะเครื่องอยู่ในสถานะ preparation เครื่องจะเจาะรูที่ฝาน้ำยาและนำไปเก็บใน

reagent disk พร้อมกับ register น้ำยาโดยอัตโนมัติ โปรแกรมของระบบเครื่องมือจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 8 สัปดาห์

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13. สารรบกวนการทดสอบ
- เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจได้ Serum/Plasmaแล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองหรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และควรมีส่วนของ Serum/Plasma อย่างน้อย 500 µL

10.2 ถ้ายังไม่มีการสอบเทียบน้ำยา LDLC3 Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.

10.3 ถ้ายังไม่มีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น 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 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

LDL-c test definition

Assay type	2 Point End
Reaction time/ Assay points	10/10-47
Wavelength (sub/main)	700/600 nm
Reaction direction	Increase
Units	mmol/L (mg/dL, g/L)

Reagent pipetting		Diluent (H_2O)
R1	150 µL	–
R2	50 µL	–

Sample volumes	Sample	Sample dilution	
		Sample	Diluent (NaCl)
Normal	2 µL	–	–
Decreased	10 µL	15 µL	135 µL
Increased	2 µL	–	–

Calibration

Calibrators	S1 : H_2O
	S2 : C.f.a.s. Lipids
Calibration mode	Linear
Calibration frequency	2-point calibration
	– after reagent lot change
	– and as required following quality control procedures

10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น mg/dL

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

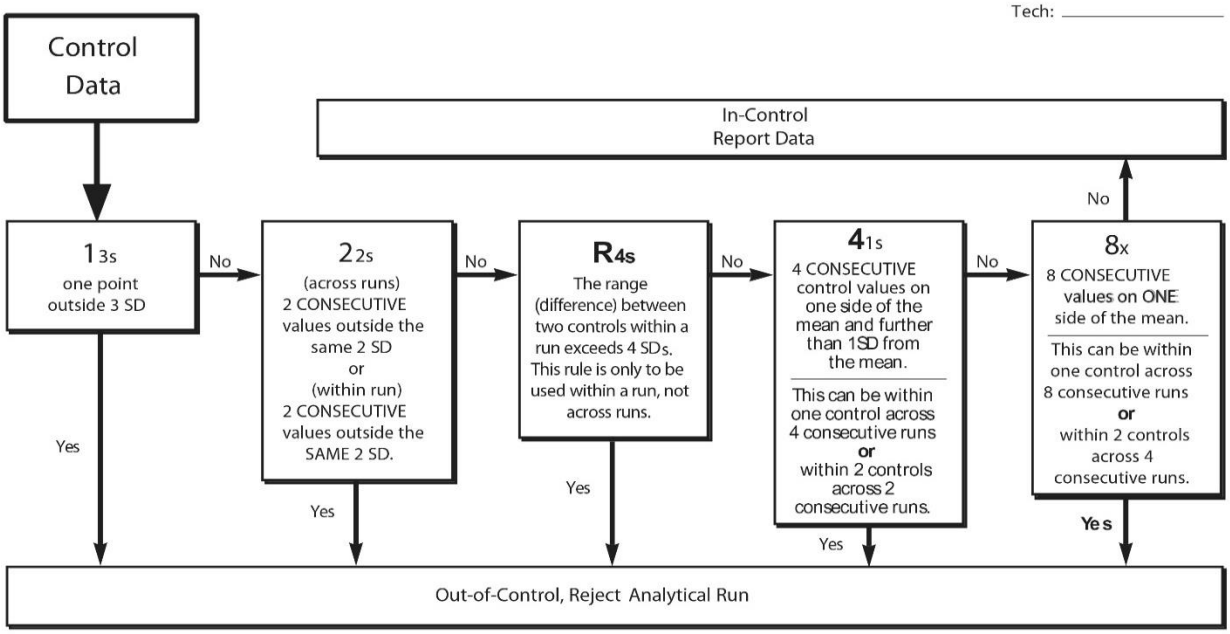
อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

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

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

Date: _____

Tech: _____



Problem: _____

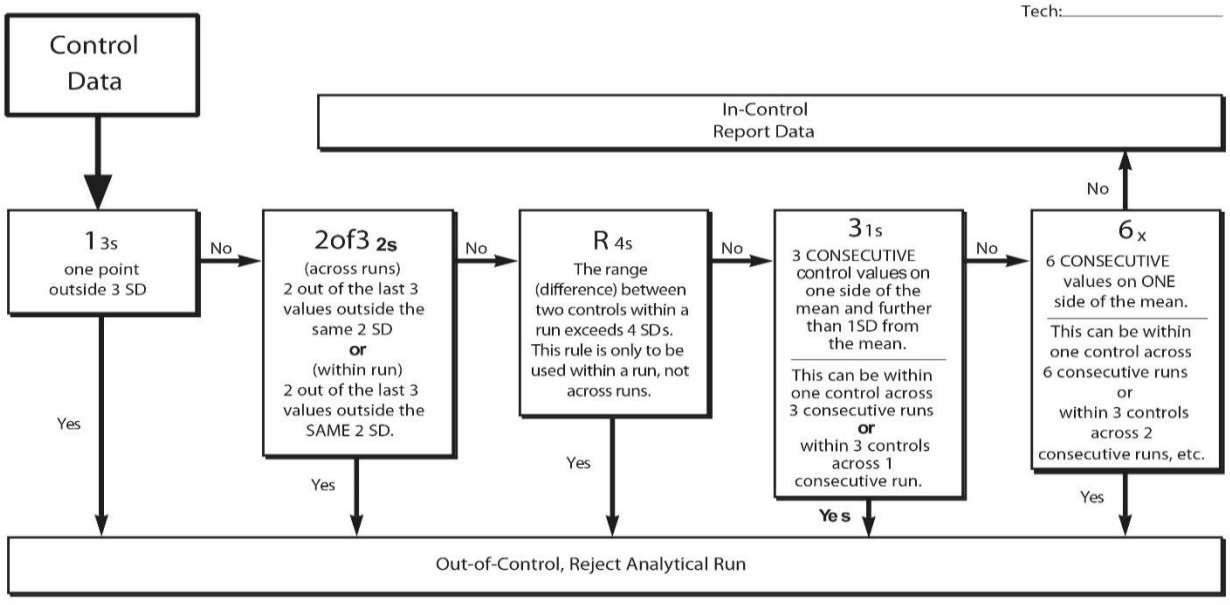
Resolution: _____

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

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 LDL-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 LDL-cholesterol = ±17.8% (อ้างอิงจาก BV minimum specification for allowable total error,)

11.1.4 การติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision) โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ between-run CV ต้องไม่เกิน 5.93%

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 LDL-cholesterol ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ (control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอต่อเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้

- การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ LDL-cholesterol ในรูปแบบกราฟผ่าน control unit ของเครื่อง cobas 6000 ได้ 3 รูปแบบที่เมนู ***QC > run status*** (แสดงผล QC ของทุก test ในกราฟเดียวกัน แสดงค่าของแต่ละ test ว่าตกอยู่ในขอบเขต mean± 2SD หรือไม่), QC > individual(ใช้ตรวจสอบผล IQC โดยละเอียดเป็นราย test มีกราฟแบบ Lewvy-Jenning Chart) และ *QC > cumulative* (คล้ายหน้า individual เป็นข้อมูลในหน้า individual ซึ่งถูกเลือกเป็นตัวแทนมาเก็บไว้ที่หน้า cumulative)

-ติดตามตรวจสอบผล IQC ให้ละเอียดมากขึ้นใน Levey-Jenning chart สำหรับการตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol โดยใช้โปรแกรม TIQCon (Total Integrated Quality Control for clinical laboratory) ผลิตภัณฑ์ Roche ช่วยประมวลผล รวมถึงการเปรียบเทียบผลกับ Peer group และ ตรวจสอบผล IQC แบบอัตโนมัติตาม control rule ที่กำหนดไว้

11.2.6 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ LDL-cholesterol มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งงดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่ทำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025) เมื่อทำการแก้ไขสาเหตุของความคลาดเคลื่อนแล้ว จึงจะตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยซ้ำ รวมทั้งย้อนกลับไปพิจารณารายงานผลวิเคราะห์ที่ออกผลไปแล้วนับตั้งแต่การทำควบคุมคุณภาพภายในรอบก่อนหน้านี้

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

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

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

12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า LDL-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 โดยใช้เกณฑ์และเป้าหมายดังนี้

- Absolute Z-score เกณฑ์ผ่าน < 3.0, เป้าหมายที่ต้องการ < 1.5
  Z-score เป็นการวัดข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ LDL-c ของห้องปฏิบัติการว่าห่างจากค่าเฉลี่ยของ peer group เป็นกี่เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peer group
- TE < TEa, เมื่อ TEa = ±17.8% (BV minimum), %TE=%Bias+1.65%CV
- Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 8.0155%

12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน EQAS การทดสอบ LDL-cholesterol ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

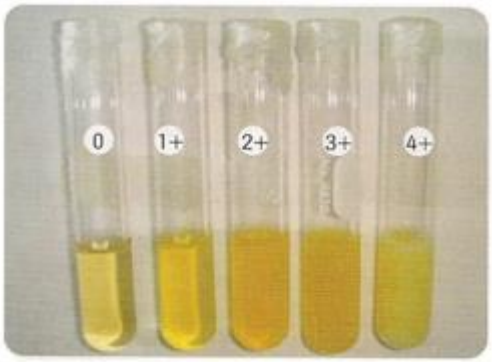
Criterion: Recovery within ± 0.40 mmol/L of initial values of samples ≤ 4.0 mmol/L and within ± 10 % for samples > 4.0 mmol/L

13.1 ซีรั่ม/พลาสมา ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ

ลักษณะ ซีรั่ม/พลาสมา		ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	I index ≤ 60	unconjugated bilirubin และ conjugated bilirubin ≤ 60 mg/dL	4+
Hemolysis	H index ≤ 1,000	hemoglobin ≤ (1,000 mg/dL)	4+
Lipemic (Intralipid)	L index ≤ 1,000	L index หรือความขุ่น ไม่สัมพันธ์กับปริมาณ Triglyceride	4+

ซีรั่มเหลือง (Icteric serum)
Billirubin 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

ซีรั่มที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (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



ซีรั่มขุ่นมีไขมัน (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

13.3 No significant interference from HDL-C (≤ 3.03 mmol/L or ≤ 117 mg/dL), VLDL-C (≤ 3.63 mmol/L or ≤ 140 mg/dL), or chylomicrons (≤ 22.6 mmol/L or ≤ 2000 mg/dL triglycerides).

13.4 Nicotinic acid (Niacin), statins (Simvastatin) and fibrates (Clofibrate) tested at therapeutic concentration ranges did not interfere.

13.5 Acetaminophen intoxications are frequently treated with N-acetylcysteine.

13.6 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 LDL-C results.

13.7 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.

13.8 Ascorbic acid: No significant interference from ascorbic acid up to a concentration of 28.4 mmol/L (500 mg/dL).

13.9 Abnormal liver function affects lipid metabolism; consequently HDL and LDL results are of limited diagnostic value. In some patients with abnormal liver function, the LDL-cholesterol result is significantly negatively biased versus beta quantification results.

13.10 EDTA plasma may cause decreased values compared to serum.

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

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

14.1 เครื่อง cobas c 501 จะคำนวณค่าความเข้มข้นของ Triglycerides ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor : mmol/L × 38.66 = mg/dL

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด LDL-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)

15.1 เป้าหมายการควบคุม LDL-cholesterol สำหรับผู้ที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงของเบาหวาน ความดัน และโรคหลอดเลือดหัวใจ <130 mg/dL

15.2 เป้าหมายการควบคุมเบาหวานและปัจจัยเสี่ยงสำหรับผู้ใหญ่

15.2.1 ระดับ LDL-cholesterol เป้าหมาย <100 mg/dL

15.2.2 ถ้ามีโรคหลอดเลือดหัวใจหรือปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจหลายอย่างร่วมด้วยควรควบคุมให้ LDL-cholesterol <70 mg/dL

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ LDL-cholesterol เท่ากับ 3.87 - 549 mg/dL

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

ถ้าผลการทดสอบ LDL-cholesterol >549 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะเจือจางสิ่งส่งตรวจในอัตราส่วน 1:2 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคูณ dilution factor = 2 ให้โดยอัตโนมัติ

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

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผลโดยพิจารณาเฉพาะระดับ LDL-Cholesterol

แบ่งตามระดับในแง่ของความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ(coronary heart disease) **อ้างอิงจาก**

The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP- ATP III)

ระดับในผู้ใหญ่ :-

	LDL -C	
Category	**mg/dL**	**[mmol/L]**
Optimal	<100	<2.6
Near optimal/above optimal	100-129	2.6-3.3
Borderline High	130-159	3.4-4.1
High	160-189	4.1-4.9
Very High	≥190	≥4.9

19.2 การแปลผลโดยพิจาณาอัตราส่วนระหว่าง LDL-Cholesterol กับ HDL-Cholesterol เกณฑ์ในการประเมินผลค่าความเสี่ยงต่อโอกาสการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary heart disease, CHD)

ค่าความเสี่ยงต่อการเกิด CHD	อัตราส่วนระหว่าง LDL-c กับ HDL-c	
	ชาย	หญิง
ครึ่งของอัตราเฉลี่ย	1	1.5
อัตราเฉลี่ย	**3.6**	**3.2**
สองเท่าอัตราเฉลี่ย	6.3	5.0
สามเท่าอัตราเฉลี่ย	8.0	6.1

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)

20.1.1 เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ

20.1.2 เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน LDLC3 cassette อันใหม่

20.1.3 มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ

20.1.4 เก็บรักษา LDLC3 cassette โดยไม่ตั้งให้ตรงอาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิดสัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิดพลาด(การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง(freeze-thaw)ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก(ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator
- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นานหรือนำ 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 ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration (วงรอบการทำ Re-calibration ไม่ควรเกิน 90 วัน สำหรับน้ำยา LDLC3 Lot เดิม)
- 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 LDL-cholesterol (PI-LAB-008)

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

21.3 ใบแทรกสารเทียบ Calibrator f.a.s. Lipids (PI-LAB-111)

21.4 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)

21.5 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-008 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Direct LDL-Cholesterol

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายสิปปนนท์ฯ
1 พ.ย. 63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	นายสิปปนนท์ฯ
1 ก.ย. 64	1	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์
1 ก.ย. 65	2	แก้ไขข้อ 7.5 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ ยกเลิกหัวข้อ 7.5.1 แก้ไขข้อ 11 ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ ยกเลิกข้อ 11.1.2 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 LDL-CHOLESTEROL

WI-LAB-008

แก้ไขครั้งที่.....

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรมย์)
ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก
...../...../.....

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการคุณภาพ
...../...../.....

ผู้อนุมัติ พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: **(วัน) (เดือน) (ปี)**