






วิธีปฏิบัติงาน  
เรื่อง

การตรวจหาระดับ Alkaline Phosphatase

โดยเครื่อง AU680/DxC700AU

โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

จัดเตรียมเอกสารโดย	ตรวจสอบเอกสารโดย	อนุมัติใช้เอกสารโดย
		
(ทนาย.เบญจมาศ อรุณพาส) นักเทคนิคการแพทย์	(ทนาย.เบญจมาศ อรุณพาส) ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	(ทนาย.เบญจพร แก้วคำใต้) ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-080	00		1 สิงหาคม 2562



โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสarakam

วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-080	หน้า 1 จาก 7
	แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	


การควบคุมระบบเอกสารคุณภาพ

แก้ไข ครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติ การแก้ไข	วันที่เริ่มใช้ เอกสารฉบับ แก้ไข

บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 2 จาก 7
	เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	MSUH-WI-LAB-080	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

**การตรวจหาระดับ Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU**

**วัตถุประสงค์**

เพื่อให้ทันกเทคนิคการแพทย์สามารถตรวจหาระดับ Alkaline phosphates โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU ได้อย่างถูกต้อง

**ขอบข่าย**

นักเทคนิคการแพทย์ที่ปฏิบัติการในหน่วยเคมีคลินิก

**คำจำกัดความ**

ALP = Alkaline phosphatase

**เอกสารอ้างอิง**

AU System(s) : Clinical Chemistry Reagent Guide (Version.15, Revision date: 2012-01)


**รายละเอียด**

**1. วัตถุประสงค์การตรวจวิเคราะห์ (Purpose of the examination)**

Alkaline phosphatase (ALP) สามารถพบได้ในเนื้อเยื่อแทบทุกส่วนของร่างกาย โดยพบอยู่ บนหรือใน Cell membrane จะพบมีปริมาณสูงใน interstitial epithelium , ท่อไต , กระดูก (Osteoblast) , ตับและรก หน้าที่การทำงานของ ALP ยังไม่สามารถระบุได้ชัดเจน แต่เอนไซม์นี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการขนส่งไขมันในลำไส้ และการสะสมแคลเซียมของกระดูก ALP มีต้นกำเนิดจากตับและระบบของโครงกระดูกอย่างละเท่า ๆ กัน ประมาณ 25 % ของผู้ที่มีสุขภาพดี โดยเฉลี่ยจะพบ intestinal ALP ประมาณ 10 % ของ ALP ทั้งหมด ใน fasting sample ปริมาณ ALP ที่เพิ่มขึ้นบ่งบอกถึงภาวะความผิดปกติของร่างกาย อาจมีสาเหตุจากโรคของตับหรือกระดูก

ALP สูงพบได้ใน ภาวะตั้งครรภ์ตั้งแต่ระยะ 2<sup>nd</sup> trimester จะพบ placenta ALP , ในเด็กที่กำลังเจริญเติบโตจะพบ bone ALP , ในคนที่มีหมู่เลือด B และ O หลังทานอาหาร ซึ่งจะสามารถหลัง หมู่เลือด Substance H ( intestinal ALP) สาเหตุหลักโดยทั่วไปที่ทำให้ค่า ALP สูงคือภาวะอุดตันของทางเดินน้ำดี ใน 60 % ของผู้ป่วยที่มีภาวะ โรคตับและทางเดินน้ำดีจะตรวจพบค่า ALP เพิ่มสูงขึ้น ALP อาจเพิ่มสูงขึ้นได้ใน primary bone disease เช่น Osteomalasia , osteogenesis imperfecta , vitamin D intoxication และ primary bone tumours และ ALP อาจสูงขึ้นได้ใน secondary bone disease เช่น skeletal metastases , และในโรคอื่น ๆ เช่น multiple myeloma , acromegaly , renal insufficiency ,

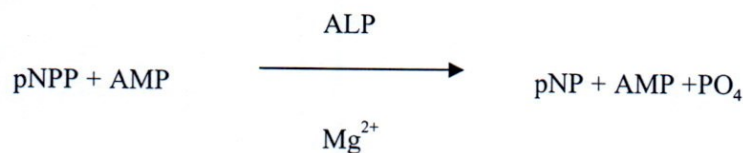


	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-080	หน้า 3 จาก 7
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
	ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

hyperthyroidism ,ectopic ossification , sarcoidosis , bone tuberculosis และ healing fractures ในโรคเกี่ยวกับกระดูก เช่น Paget's disease ,vitamin D deficiency rickets และ metastatic bone disease การทำงานของ ALP เป็นตัวบ่งชี้ที่ดีของการทำงานของกระดูกในภาวะที่ไม่มีโรค chronic liver disease ร่วมด้วย Total ALP จะเพิ่มสูงในบางครั้งในบางขบวนการของภาวะโรคกระดูก เช่น hyperparathyroidism ,osteopenia หรือ osteoporosis ALP ต่ำ พบได้ใน familial hypophosphatasia , hypoparathyroidism , achondroplasia , adynamic bone disease ในผู้ป่วยที่ล้างไต , pituitary dwarfism , chronic radiation sickness และ malnutrition

## 2. หลักการและวิธีการในการวิเคราะห์ (Principle of the procedure used for examination)


หลักการที่ใช้อ้างอิงตาม IFCC โดย การทำงานของ Alkaline phosphatase วัดโดยการวัด อัตราการเปลี่ยนแปลงของ p-nitro-phenylphosphate (pNPP) เป็น p-nitrophenol (pNP) โดยมี magnesium และ zinc ions และมี 2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP) เป็น phosphate acceptor ที่ pH 10.4 วัดอัตราการเปลี่ยนสีของ pNP ที่ความยาวคลื่น 410/480 nm ซึ่งแปรผันตรงกับการทำงานของ ALP ในตัวอย่างตรวจ ตามสมการเคมี ดังนี้



## 3. รายละเอียดเพิ่มเติมในการทำ (Performance specifications)

ข้อมูลที่บรรจุอยู่ภายในส่วนนี้เป็นตัวแทนของประสิทธิภาพการทำงานบนระบบ Beckman Coulter ข้อมูลที่ได้ในแต่ละห้องปฏิบัติการอาจแตกต่างจากค่าเหล่านี้

- Method Comparison / Equivalency

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 4 จาก 7
	เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	MSUH-WI-LAB-080	
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

เปรียบเทียบตัวอย่างตรวจ Serum คนไข้ ด้วยน้ำยา ALT OSR6107 บนเครื่อง AU680 เปรียบเทียบกับ IFCC Reference method ได้ผล Linear regression ดังนี้

$y = 0.947x - 12$	$r = 0.999$	$n = 120$	Sample range = 67 – 1404 U/L
-------------------	-------------	-----------	------------------------------

**- ความแม่นยำ (Precision)**

ทดสอบความแม่นยำจาก 3 serum pools บนเครื่อง AU680 โดยการทำการมากกว่า 10 วัน ได้ผลดังนี้

n = 60 Mean U/L	Within Run		Total	
	SD	CV%	SD	CV%
38	0.60	1.55	1.68	4.36
362	2.26	0.62	9.99	2.76
1088	5.81	0.53	23.40	2.15

**- Linearity**

Serum/Plasma = 5 – 1500 U/L (0.1-25  $\mu$ kat/L)

**- Sensitivity**

ค่าต่ำสุดที่วัดได้บนเครื่อง AU680 = 1 U/L

**4. ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจปฐมภูมิ (Primary sample system)**

Serum และ Plasma (Heparinised plasma)


ไม่ควรใช้สารกันเลือดแข็ง EDTA, Oxalate หรือ Citrate

เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-25°C ได้นาน 7 วัน

**5. ชนิดของภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจและสารที่เติมเพื่อรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ**

**(Type of container and additives)**



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-080	หน้า 5 จาก 7
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
	ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

## 6. เครื่องมือของห้องปฏิบัติการที่จำเป็นและน้ำยา (Required equipment and reagents)

6.1 เครื่องอัตโนมัติ AU480/AU680/AU5800

6.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ Alkaline phosphatase

### การเตรียมน้ำยา

Alkaline phosphatase เป็นน้ำยาที่พร้อมใช้งาน

### การจัดเก็บและเสถียรภาพ

น้ำยาที่ยังไม่ได้เปิดใช้งานและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C จะมีอายุถึงวันที่ระบุไว้

น้ำยาที่เปิดใช้งานแล้วและอยู่ในตู้เย็นน้ำยาของเครื่อง จะมีอายุหลังเปิดใช้งาน 14 วัน

AU5800 : น้ำยาที่เปิดใช้งานแล้วและอยู่ในตู้เย็นน้ำยาของเครื่อง จะมีอายุหลังเปิดใช้งาน 7 วัน

### น้ำยา Alkaline phosphatase ประกอบด้วย

2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP) pH 10.4	0.35 mmol/L
p-nitro-phenylphosphate (pNPP)	16 mmol/L
HEDTA	2 mmol/L
Zinc Sulphate	1 mmol/L
Magnesium Acetate	2 mmol/L
Preservative	

6.3 เครื่อง Centrifuge

6.4 สารมาตรฐาน

System Calibrator Cat. No. 66300

### วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน

System Calibrator Cat. No. 66300

1. ก่อนเปิดฝาควรตั้งขวดทิ้งไว้ให้หายเย็นที่อุณหภูมิห้อง



โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-080	หน้า 6 จาก 7
	แก๊วครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562
ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์	

2. เกาะฝาขวดก่อนเปิด แล้วเปิดฝอย่างระมัดระวัง
3. ใช้ Volumetric pipette คูด Sterile deionised water ที่มีอุณหภูมิประมาณ 20°C ปริมาตร 5.0 mL ใส่ลงในขวด System Calibrator
4. Mix แบบ invert 3 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นให้ mix เบาๆ บน Roller นาน 30 นาที ห้ามเขย่าขวดเพราะอาจทำให้เกิดฟอง
5. Mix ต่อไปจนกว่าสารจะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
6. บันทึกวันที่เตรียมบนฉลากขวด

การจัดเก็บและเสถียรภาพของสารมาตรฐาน

System Calibrator Cat. No. 66300

- System Calibrator ที่ยังไม่ได้เปิดใช้งานและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C จะมีอายุถึงวันที่ระบุไว้
- System Calibrator ที่เตรียมแล้ว สามารถจัดเก็บได้ทั้งที่ -20°C และ 2-8 °C โดยสารแต่ละตัวจะมีอายุตามระบุในตาราง

	-20°C *	2..8°C
Alkaline Phosphatase, ALT, AST, Amylase, Cholinesterase, CK-NAC, GGT, HBDH, LDH	Not recommended	8 hours
Albumin, Creatinine, Cholesterol, Glucose, Lactate, Lipase, Total Protein, Triglyceride, UIBC, Urea, Uric Acid, ** Bilirubin, *** Inorganic Phosphorous	1 month	30 hours
Calcium, Iron, Magnesium	1 month	1 week

\* When frozen once.


**7. การสอบเทียบ (Calibration)**

7.1 ใช้ Calibrator รหัส 66300

7.2 ทำการ Calibrate การทดสอบเมื่อ : เปลี่ยนน้ำยาขวดใหม่ หรือ ผล Control ให้ค่าเปลี่ยนแปลง (Shift) อย่างมีนัยสำคัญ , หลังทำการบำรุงรักษาที่สำคัญ หรือมีการเปลี่ยนอะไหล่ที่สำคัญ

**8. ขั้นตอนกระบวนการ (Procedural steps)**



	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : Alkaline Phosphatase โดยเครื่อง AU680/DxC700AU	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-080	หน้า 7 จาก 7
	แก๊วครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 สิงหาคม 2562	
ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

ขั้นตอนและรายละเอียดวิธีการใช้เครื่อง AU480/AU680/AU580 ให้ปฏิบัติตามการใช้และการบำรุงรักษาเครื่อง AU480/AU680/AU580

### 9. วิธีการควบคุมคุณภาพ (Quality control procedures)

- 9.1 ใช้สารสารควบคุมคุณภาพ รหัส ODC0003 และ ODC0004
- 9.2 ทำการทดสอบคุณภาพภายในทุกวันที่มีการตรวจวัดคนไข้หรือทุกครั้งที่ทำ Calibration

### 10. สิ่งหรือปัจจัยรบกวน (Interferences)

Icterus: Interference less than 5% up to 40 mg/dL or 684  $\mu$ mol/L bilirubin

Haemolysis: Interference less than 10% up to 1 g/L Haemoglobin

Lipemia: Interference less than 3% up to 1000 mg/dL Intralipid®

### 11. หลักการในการคำนวณและค่าความไม่แน่นอน (Principle of procedure for calculating results, including measurement uncertainty)

เครื่องวิเคราะห์จะคำนวณระดับของสารในแต่ละสารตัวอย่างโดยอัตโนมัติ  
 ค่าความไม่แน่นอนให้ดูรายละเอียดในเอกสารเรื่องการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอน  
 ของการวัดเชิงปริมาณ

### 12. ค่าอ้างอิง (Biological reference intervals)

Women	64-300 U/L(1.0-5.0 $\mu$ kat/L)
Men	80-300 U/L(1.3-5.0 $\mu$ kat/L)
Children up to 15 years	Up to 640 U/L(10.6 $\mu$ kat/L)
Children 15-17 years	Up to 480 U/L(8.0 $\mu$ kat/L)