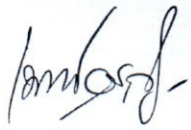
วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง
การตรวจหาระดับ Calcium (Arsenazo III)
โดยเครื่อง AU680 /DxC700AU
โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

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

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-084	00		1 สิงหาคม 2562

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน **เรื่อง :**การตรวจหาระดับ Calcium (Arsenazo III) โดยเครื่อง AU680 /DxC700AU	**เอกสารเลขที่** MSUH-WI-LAB-084	**หน้า 1 จาก 9**
		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

แก้ไขครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติการแก้ไข	วันที่เริ่มใช้เอกสารฉบับแก้ไข

บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง

<table>
<tr><td rowspan="5"></td><td colspan="3">โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม</td></tr>
<tr><td rowspan="2">วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง :การตรวจหาระดับ Calcium (Arsenazo III) โดยเครื่อง AU680 /DxC700AU</td><td>เอกสารเลขที่
MSUH-WI-LAB-084</td><td>หน้า 2 จาก 9</td></tr>
<tr><td>แก้ไขครั้งที่ 00</td><td>วันที่เริ่มใช้
1 สิงหาคม 2562</td></tr>
<tr><td>ผู้จัดทำ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส</td><td colspan="2">หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์</td></tr>
<tr><td>ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส
ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์</td><td colspan="2">ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้
ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์</td></tr>
</table>

การตรวจหาระดับ Calcium (Arsenazo III) โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU

วัตถุประสงค์ เพื่อให้นักเทคนิคการแพทย์สามารถตรวจหาระดับ Calcium โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU ได้อย่างถูกต้อง

ขอบข่าย นักเทคนิคการแพทย์ที่ปฏิบัติการในหน่วยเคมีคลินิค

คำจำกัดความ CA = Calcium

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

รายละเอียด

1. วัตถุประสงค์การตรวจวิเคราะห์ (Purpose of the examination)

การตรวจวัดระดับ Calcium ถูกใช้ในการวินิจฉัยและการรักษาในโรค Parathyroid โรคกระดูก โรคไต (Chronic renal disease) โรคนิ่ว (Urolithiasis) และ อาการทำงานผิดปกติของกล้ามเนื้อ (Tetany)

Calcium ในซีรั่มประกอบด้วย 3 รูปแบบ ได้แก่

1. Free form หรือ ionized calcium
2. Protein bound calcium มีประมาณ 50% ส่วนใหญ่จะเป็น Protein ชนิด Albumin มีส่วนน้อยที่เป็น globulin
3. Complex-bound calcium กับ Phosphate , citrate , bicarbonate พบประมาณ 45%

Ionized calcium เป็น form ที่สำคัญต่อกระบวนการทางชีวภาพ แต่การตรวจวัดโดยตรงทำได้ยาก Calcium ions เป็น ion ที่สำคัญในการส่งกระแสประสาท และยังเป็น Cofactor ของปฏิกิริยาเอนไซม์หลายๆชนิด เป็นตัวที่ช่วยรักษาการหดตัวของกล้ามเนื้อ กระบวนการแข็งตัวของเลือด

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

น้ำยาตรวจวิเคราะห์ Calcium ใช้หลักการ Endpoint Method โดย Calcium ในตัวอย่างตรวจจะทำปฏิกิริยากับ Arsenazo III เกิดเป็นสารที่มีสีม่วงแดง วัดค่าการดูดกลืนแสงแบบ Bichromatics ที่ 660/700 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นในตัวอย่างตรวจ ตามสมการเคมี ดังนี้

$$Ca^{2+} + \text{Arsenazo III} \xrightarrow[\text{pH 6.7}]{} \text{Ca-Arsenazo III Complex (Purple)}$$

3. รายละเอียดเพิ่มเติมในการทำ (Performance specifications)

- **Method Comparison / Equivalency**

เปรียบเทียบตัวอย่างตรวจ Serum คนไข้ ด้วยน้ำยา Calcium OSR61117 บนเครื่อง AU640 เปรียบเทียบกับ Calcium OSR6176 ได้ผล Linear regression ดังนี้

y = 1.003x + 0.015	r = 0.999	n = 105	Sample range = 1.03 – 3.83 mmol/L

เปรียบเทียบตัวอย่างตรวจ Urine คนไข้ด้วยน้ำยา Calcium OSR61117 บนเครื่อง AU640 เปรียบเทียบกับ Calcium OSR6176 ได้ผล Linear regression ดังนี้

y = 1.000x + -0.038	r = 0.999	n = 94	Sample range = 0.50 – 9.62 mmol/L

- **ความแม่นยำ (Precision)**

ทดสอบความแม่นยำจาก 3 serum pools บนเครื่อง AU2700 โดยการทำมากกว่า 20วัน ได้ผลดังนี้

n = 80	Within Run		Total	
Mean mmol/L	SD	CV%	SD	CV%
1.61	0.01	0.57	0.02	0.95
2.52	0.02	0.65	0.03	0.96
4.19	0.02	0.48	0.04	0.94

ทดสอบความแม่นยำจาก 3 urine pools บนเครื่อง AU2700 โดยการทำมากกว่า 20 วัน ได้ผลดังนี้

n = 80	Within Run		Total	
Mean mmol/L	SD	CV%	SD	CV%
0.11	0.00	2.05	0.00	2.60
5.52	0.06	1.00	0.07	1.21
9.33	0.10	1.09	0.13	1.40

Linearity

Serum/Plasma = 4 – 20 mg/dL (1-5 mmol/L)

Urine = 0 – 40 mg/dL (0-10 mmol/L)

Sensitivity

ค่าต่ำสุดที่วัดได้บนเครื่อง AU640 = 0.04 mg/dL (0.01 mmol/L)

4. ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจปฐมภูมิ (Primary sample system)

Serum และ Plasma (Heparinised plasma) ห้ามใช้สารกันเลือดแข็งชนิด EDTA, Sodium Citrate, Sodium Fluoride หรือ Oxalate

เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C ได้นาน 3 สัปดาห์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15-25°C ได้นาน 7 วัน

Urine ให้เก็บด้วยขวดที่บรรจุ Acidified with 6M HCl. เก็บภายในเวลา 24 ชั่วโมง

เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C ได้นาน 4 วัน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15-25°C ได้นาน 2 วัน

5. ชนิดของภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจและสารที่เติมเพื่อรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ (Type of container and additives)

6. เครื่องมือของห้องปฏิบัติการที่จำเป็นและน้ำยา (Required equipment and reagents)

6.1 เครื่องอัตโนมัติ AU480/AU680/AU5800

6.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ Calcium

การเตรียมน้ำยา

Calcium เป็นน้ำยาที่พร้อมใช้งาน

การจัดเก็บและเสถียรภาพ

น้ำยาที่ยังไม่ได้เปิดใช้งานและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C จะมีอายุถึงวันที่ระบุไว้

น้ำยาที่เปิดใช้งานแล้วและอยู่ในตู้เย็นน้ำยาของเครื่อง จะมีอายุหลังเปิดใช้งาน 90 วัน

น้ำยา Calcium ประกอบด้วย

Imidazole (pH 6.9)	
Arsenazo III	0.1 – 0.2%
Triton X-100	
Preservative	

6.3 เครื่อง Centrifuge

6.4 สารมาตรฐาน

System Calibrator Cat. No. 66300 สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Magnesium ใน Serum

Urine Calibrator Cat. No. ODC0025 สำหรับการตรวจวิเคราะห์ Magnesium ใน Urine

ค่า Calcium ใน System Calibrator และ Urine Calibrator แสดง traceability ตามมาตรฐาน National Institute of Standards and Technology (NIST) Standard Reference Material (SRM) 909b Level 1

<u>วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน</u>

System Calibrator Cat. No. 66300

1. ก่อนเปิดฝาควรตั้งขวดทิ้งไว้ให้หายเย็นที่อุณหภูมิห้อง
2. เคาะฝาขวดก่อนเปิด แล้วเปิดฝาอย่างระมัดระวัง
3. ใช้ Volumetric pipette ดูด 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

Urine Calibrator Cat. No. ODC0025 เป็นของเหลวที่พร้อมใช้งาน

<u>การจัดเก็บและเสถียรภาพของสารมาตรฐาน</u>

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.

Urine Calibrator Cat. No. ODC0025

- Urine Calibrator ที่ยังไม่ได้เปิดใช้งานและเก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C จะมีอายุถึงวันที่ระบุไว้ (ห้ามแช่แข็ง)
- Urine Calibrator ที่เปิดใช้งานและเก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C จะมีอายุหลังเปิดใช้งาน 60 วัน

7. การสอบเทียบ (Calibration procedures)

7.1 ใช้ System Calibrator รหัส 66300 และ Urine Calibrator รหัส ODC0025

7.2 ทำการ Calibrate เมื่อเปลี่ยนใช้น้ำยา Lot ใหม่, เมื่อค่า Control ผิดปกติ, เมื่อมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่สำคัญ

8. ขั้นตอนกระบวนการ (Procedural steps)

ขั้นตอนและรายละเอียดวิธีการใช้เครื่อง AU480/AU680/AU5800 ให้ปฏิบัติตามการใช้และการบำรุงรักษาเครื่อง AU480/AU680/AU5800

9. วิธีการควบคุมคุณภาพ (Quality control procedures)

9.1 ใช้สารสารควบคุมคุณภาพ รหัส ODC0003 และ ODC0004 สำหรับการตรวจวิเคราะห์ใน Serum และ Control อื่นๆ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ใน Urine

9.2 ทำการทดสอบคุณภาพภายในทุกวันที่มีการตรวจวัดคนไข้ หรือทุกครั้งที่ทำ Calibration

10. สิ่งหรือปัจจัยรบกวน (Interferences)

การศึกษาในSerum

Icterus: Interference less than 3% up to 40 mg/dL or 684 µmol/L bilirubin

Haemolysis: Interference less than 3% up to 5.0 g/L haemoglobin

Lipemia: Interference less than 10% up to 1000 mg/dL Intralipid®

Magnesium: Interference less than 10% up to 4 mmol/L magnesium

การศึกษาในUrine

Ascorbate : Interference less than 3% up to 50 mg/dL ascorbate

Magnesium: Interference less than 3% up to 4 mmol/L magnesium

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

เครื่องวิเคราะห์จะคำนวณระดับของสารในแต่ละสารตัวอย่างโดยอัตโนมัติ ค่าความไม่แน่นอนให้ดูรายละเอียดในเอกสารเรื่องการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของการวัดเชิงปริมาณ

12. ค่าอ้างอิง (Biological reference intervals)

Serum or Plasma

Adults	2.20 – 2.65 mmol/L(8.8 – 10.5 mg/dL)
Children (0 -10 Days)	1.90 – 2.60 mmol/L(7.6 – 10.4 mg/dL)
Children (10 Days -24 Months)	2.25 – 2.75 mmol/L(9.0 – 11.0 mg/dL)

Urine 24h

Female	< 6.2 mmol/L (250 mg)
Male	<7.5 mmol/L (300 mg)