วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง
การตรวจหาระดับ HDL-cholesterol เครื่อง AU680 และ 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-091	00		1 สิงหาคม 2562

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน **เรื่อง :**การตรวจหาระดับ HDL-cholesterol โดยเครื่อง AU680 และ DXC700AU	**เอกสารเลขที่** MSUH-WI-LAB-091	**หน้า 1 จาก 8**
		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

การตรวจหาระดับ HDL-cholesterol โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU

วัตถุประสงค์ เพื่อให้นักเทคนิคการแพทย์สามารถตรวจหาระดับ HDL-cholesterol โดยเครื่อง AU480/AU680/AU5800/DxC700AU ได้อย่างถูกต้อง

ขอบข่าย นักเทคนิคการแพทย์ที่ปฏิบัติการในหน่วยเคมีคลินิค

คำจำกัดความ HDL-c = HDL-cholesterol

รายละเอียด

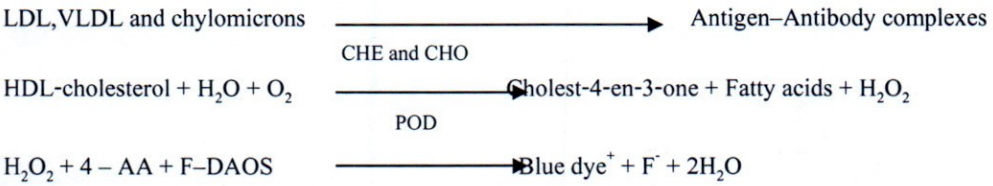
1. วัตถุประสงค์การตรวจวิเคราะห์ (Purpose of the examination)

ประมาณ 25% ของ Total Cholesterol ใน Serum จะถูกขนส่งในรูป HDL การศึกษาทางคลินิกและระบาดวิทยาจำนวนมากได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ตรงกันข้าม อันลึกซึ้งระหว่าง HDL-Cholesterol กับอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary heart disease) ว่าการดูดซึมและการขนส่งของ Cholesterol จากเนื้อเยื่อไปที่ตับทำหน้าที่เป็นปัจจัยในการป้องกันการพัฒนาไปสู่ atherosclerotic plaques การตรวจหาระดับของ HDL-cholesterol จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการแปลผลระดับคอเลสเตอรอลของแต่ละบุคคล ระดับ HDL-cholesterol ที่ต่ำถือว่าเป็นปัจจัยเสี่ยง โดยไม่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของ Total Cholesterol และมีความเสี่ยงสูงในการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary heart disease) การวัดของ HDL-cholesterol ถูกใช้เป็นตัวแรกในการแสดงความเสี่ยงของ atherosclerosis และอาจจะใช้ในการติดตามการรักษาของแต่ละบุคคลในระหว่างรักษาด้วยยาลดไขมัน

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

Anti human-β-lipoprotein antibody ในน้ำยา R1 จับกับ Lipoproteins ตัวอื่นๆนอกเหนือจาก HDL (LDL, VLDL และ Chylomicrons). เกิดเป็น antigen-antibody complexes ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เมื่อมีการเติมน้ำยา R2 ลงไป HDL-cholesterol ถูกแสดงปริมาณโดยสี ของปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่เกิดขึ้น ตามสมการเคมี ดังนี้

Anti human - β – lipoprotein antibody



3. รายละเอียดเพิ่มเติมในการปฏิบัติงาน (Performance specifications)

ข้อมูลที่บรรจุอยู่ ภายในส่วนนี้เป็นตัวแทนของประสิทธิภาพการทำงานบนระบบ Beckman Coulter ข้อมูลที่ได้ในห้องปฏิบัติการของคุณอาจแตกต่างจากค่าเหล่านี้

- **Method Comparison**

เปรียบเทียบตัวอย่างตรวจ Serum คนไข้ ด้วยน้ำยา HDL-Cholesterol OSR6187 บนเครื่อง AU640 กับ กับการทดสอบ HDL-Cholesterol อื่นในเชิงพาณิชย์ที่มีจำหน่าย ได้ผล Linear regression ดังนี้

y = 1.212x + 0.080	r = 0.993	n = 200	Sample range = 0.31 – 2.54 mmol/L

- **ความแม่นยำ (Precision)**

ทดสอบความแม่นยำจาก 3 serum pools บนเครื่อง AU600 โดยการทำมากกว่า 10 วัน ได้ผลดังนี้

n = 60	Within Run		Total	
Mean mmol/L	SD	CV%	SD	CV%
0.69	0.006	0.85	0.013	1.92
1.09	0.007	0.62	0.018	1.69
2.08	0.013	0.61	0.027	1.32

- **Linearity**

Serum/Plasma = 0.05 - 4.65 mmol/L (2 -180 mg/dL)

- Sensitivity

ค่าต่ำสุดที่วัดได้บนเครื่อง AU400 = 0.002 mmol/L. (0.077 mg/dL)

4. ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจปฐมภูมิ (Primary sample system)[3]

Serum หรือ heparinised plasma (fasting and non-fasting) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C อยู่ได้นาน 7 วัน , ถ้าเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 15-25°C อยู่ได้นาน 2 วัน

5. ชนิดของภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจและสารที่เติมเพื่อรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ

(Type of container and additives)

Serum หรือ Heparinised plasma

6. เครื่องมือของห้องปฏิบัติการที่จำเป็นและน้ำยา (Required equipment and reagents)

6.1 เครื่องอัตโนมัติ AU480/AU680/AU5800

6.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ HDL-Cholesterol

การเตรียมน้ำยา

HDL-Cholesterol เป็นน้ำยาที่พร้อมใช้งาน

การจัดเก็บและเสถียรภาพ

น้ำยาที่มีเสถียรภาพ ไม่ถูกแสง ที่ถูกปิดสนิท มีอายุได้ถึงวันที่ระบุไว้ เมื่อเก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิ 2-8°C น้ำยามีอายุหลังการเปิดใช้งาน 30 วัน ที่อุณหภูมิในเครื่อง สีของน้ำยา R2 อาจเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน (light green) ได้เมื่อเก็บที่อุณหภูมิในเครื่อง ซึ่งสิ่งนี้ไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงาน ของน้ำยา

น้ำยา HDL-Cholesterol ประกอบด้วย

Anti human-β-lipoprotein antibody	Variable
Cholesterol esterase (CHE)	0.8 lU/mL
Cholesterol oxidase (CHO)	4.4 lU/mL
Peroxidase (POD)	1.7 lU/mL
Ascorbate oxidase	2.0 lU/mL
Good's buffer (pH 7.0)	30 mmol/L
N-Ethyl –N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3.5–dimethoxy–4fluoroaniline (F–DAOS)	0.20 mmol/L
4-Aminoantipyrine	0.67 mmol/L
Preservative	
Detergent	

6.3 เครื่อง Centrifuge

6.4 สารมาตรฐาน

HDL-Cholesterol Calibrator ODC0011.

HDL-Cholesterol Calibrator นี้แสดง traceability ตามมาตราฐาน US CDC (Centre for Disease Control) ซึ่งเป็น HDL-cholesterol reference method.

ควรทำการ Calibrate การทดสอบทุก 30 วัน และทำ Reagent blank ทุก 7 วัน หรือเมื่อมีการเปลี่ยนขวดน้ำยาใหม่ หรือค่า Control มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ, มีการทำpreventative maintenance หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่สำคัญ

วิธีการเตรียม Calibrator

System Calibrator Cat. No. 66300.

1. เปิดฝาอย่างระมัดระวัง หลีกเลี่ยงการสูญเสียของสาร Lyophilised
2. เติมSterile deionised water 3 mL ที่อุณหภูมิ 15- 25°C ในสาร Lyophilized โดยใช้ Volumetric pipette

3. ปิดฝา , ละลายสารอย่างสมบูรณ์โดยการผสมอย่างเบาๆ นาน 30 นาที หลีกเลี่ยง การทำให้เกิดฟอง
4. ดำเนินต่อไปจนกว่าการผสมสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันและสาร Lyophilized ทั้งหมดเป็นสารละลาย
5. บันทึกวันที่ถูกละลายบนฉลากขวด

<u>การจัดเก็บและเสถียรภาพของ Calibrator</u>

Calibrator ที่มีเสถียรภาพ , ถูกปิดสนิท มีอายุได้ถึงวันที่ระบุไว้ เมื่อเก็บรักษา Calibrator ที่อุณหภูมิ 2-8°C Calibrator , มีอายุหลังการละลายนาน 7 วัน เมื่อเก็บรักษา Calibrator ที่อุณหภูมิ 2-8°C สามารถแบ่งเก็บและแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C จะมีอายุนาน 30 วัน

6. <u>การสอบเทียบ (Calibration)</u>

7.1 ใช้ HDL-Cholesterol Calibrator ODC0011

7.2 ควรทำการ Calibrate การทดสอบทุก 30 วัน และทำ Reagent blank ทุก 7 วัน หรือเมื่อมีการเปลี่ยนขวดน้ำยาใหม่ หรือค่า Control มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ, มีการทำpreventative maintenance หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่สำคัญ

<u>8. ขั้นตอนกระบวนการ (Procedural steps)</u>

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

<u>9. วิธีการควบคุมคุณภาพ (Quality control procedures)</u>

9.1 ใช้สารสารควบคุมคุณภาพ HDL/LDL-Cholesterol Control Serum รหัส ODC0005

9.2 ทำการทดสอบคุณภาพภายในทุกวันที่มีการตรวจวัดคนไข้ หรือทุกครั้งที่ทำ Calibration

10. สิ่งหรือปัจจัยรบกวน (Interferences)

เมื่อ triglyceride ในตัวอย่างตรวจวัด เกิน 11.3 mmol/L (1000 mg/dL) ให้ dilute ตัวอย่าง ด้วย saline solution และทำการทดสอบซ้ำ

Ascorbate: Interference less than 3% up to 20 mg/dL ascorbate

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

Haemolysis: Interference less than 3% up to 5 g/L haemoglobin

Lipemia: Interference less than 10% up to 900 mg/dL *Intralipid®

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

เครื่องวิเคราะห์จะคำนวณระดับของสารในแต่ละสารตัวอย่างโดยอัตโนมัติ ค่าความไม่แน่นอนให้ดู รายละเอียดในเอกสารเรื่องการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของการวัดเชิงปริมาณ

12. ค่าอ้างอิง (Biological reference intervals)[1]

National Cholesterol Education Program (NCEP) guidelines

< 40 mg/dL Low HDL-cholesterol (major risk factor for coronary heart disease)

≥ 60 mg/dL High HDL-cholesterol ("negative" risk factor for coronary heart disease)

13. ช่วงในการรายงาน (Reportable interval of examination results)

ช่วงการตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ของเครื่อง 2 – 180 mg/dL

เอกสารอ้างอิง

AU System(s) : Clinical Chemistry Reagent Guide (Version .15 Revision date: 2012-01), AU480/AU680/AU5800 User Guide.