



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ HDL- Cholesterol

WI-LAB-007

แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ

(นายสีปพนนท์ ศรีระมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน

ร.ท.หญิง

(อรกาญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ


พ.อ.

(จิตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

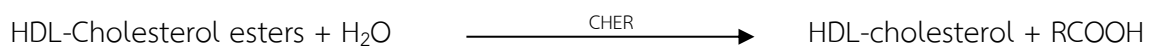
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 1 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ (purpose of examination)

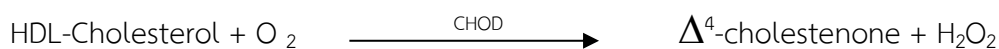
- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ HDL-Cholesterol ในตัวอย่าง serum, plasma, ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c501 ร่วมกับน้ำยา HDL-Cholesterol Gen.4 (HDLc4 Cat. No. 07528566 190)
- 1.2 เพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยและรักษาความผิดปกติของไขมัน (lipid disorders) เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวาน atherosclerosis, various liver และ renal diseases.
- 1.3 เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อภาวะ atherosclerosis
- 1.4 เพื่อติดตามการรักษาในผู้ป่วยที่ได้รับยาลดระดับไขมันในเลือด

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

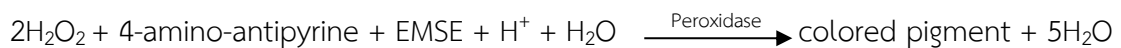
2.1 หลักการ (Principle) : น้ำยา HDL-Cholesterol Gen.4 ใช้หลักการ Homogeneous Enzymatic Colorimetric Assay โดยสารจำพวก Non-HDL lipoproteins เช่น LDL, VLDL และ chylomicrons จับกับ polyanion และ detergent อยู่ในรูปสารประกอบที่ละลายน้ำได้ ในรูปสารประกอบนี้ ปฏิกริยาของเอนไซม์ CHER และ CHOD กับ non-HDL lipoproteins จะไม่เกิดขึ้นจะมีเฉพาะ HDL-cholesterol เท่านั้นที่สามารถทำปฏิกิริยากับ CHER และ CHOD ได้ HDL-cholesterol จะทำปฏิกิริยากับ CHER ได้เป็น free cholesterol และ fatty acids




Cholesterol จะถูกออกซิไดซ์โดย Cholesterol oxidase ในสถานะที่มีออกซิเจน กลายเป็น Δ^4 -cholestenone และ hydrogen peroxide



H_2O_2 จะทำปฏิกิริยากับ 4-amino-antipyrine และ EMSE ในสถานะที่มี Peroxidase ได้เป็นสารที่มีสี ซึ่งแปรผันตรงกับปริมาณ HDL-cholesterol สารมีสีนี้จะถูกวัดด้วยหลักการ photometry



2.2 วิธีการ (method) : ใช้วิธี Homogeneous Enzymatic Colorimetric Assay


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 2 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ (Precision): เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตามแนวปฏิบัติของ CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP5 ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา HDL-Cholesterol Gen.4 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).

Repeatability (n=21)	Mean mmol/L(mg/dL)	SD mmol/L(mg/dL)	CV %	Allowable CV %	ผลการ ตรวจสอบ
PCCC Multi 1	0.73 (28.2)	0.004 (0.15)	0.6	5.00	PASS
PCCC Multi 2	1.76 (68.0)	0.01 (0.39)	0.6	5.00	PASS
Human serum 1	0.25 (9.67)	0.004 (0.15)	1.8	5.00	PASS
Human serum 2	1.05 (40.6)	0.01 (0.39)	0.7	5.00	PASS
Human serum 3	1.53 (59.1)	0.01 (0.39)	0.5	5.00	PASS
Human serum 4	2.05 (79.3)	0.01 (0.39)	0.6	5.00	PASS
Human serum 5	3.66 (141)	0.02 (0.77)	0.6	5.00	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 %	ผลการ ตรวจสอบ
PCCC Multi 1	0.73 (28.2)	0.01 (0.27)	1.0	6.67	PASS
PCCC Multi 2	1.72 (66.5)	0.02 (0.77)	1.4	6.67	PASS
Human serum 1	0.25 (9.67)	0.01 (0.19)	2.2	6.67	PASS
Human serum 2	1.05 (40.6)	0.01 (0.39)	0.8	6.67	PASS
Human serum 3	1.53 (59.1)	0.01 (0.39)	0.7	6.67	PASS
Human serum 4	2.05 (79.3)	0.02 (0.77)	0.8	6.67	PASS

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งสุดท้าย

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา					
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol					
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007			หน้า 3 จาก 16 หน้า		
	แก้ไขครั้งที่ : 2			วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566		
Human serum 5	3.66 (141)	0.03 (1.16)	0.8	6.67	PASS	

- เกณฑ์ Imprecision(%CV) : within-run CV \leq 5.00%, between-run CV \leq 6.67%

อ้างอิงจากค่า TEa = \pm 20 (CLIA2019)

- ผลการตรวจสอบ imprecision เทียบกับเกณฑ์ : ผ่าน(PASS)

3.2 เปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

3.2.1 เป็นการตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ในตัวอย่าง serum ของมนุษย์โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 701 (y) เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 (x) ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 59

Passing/Bablok24 : $y = 1.006x + 0.032$ mmol/L, T = 0.994

Linear regression : $y = 1.012x + 0.021$ mmol/L , r = 1.000

The sample concentrations were between 0.11 and 3.69 mmol/L (4.25 and 143 mg/dL).

3.2.2 เป็นการตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ในตัวอย่าง serum ของมนุษย์โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ COBAS INTEGRA 400 plus analyzer (y) เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 (x) ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 59

Passing/Bablok24 : $y = 0.980x + 0.013$ mmol/L, T = 0.973

Linear regression : $y = 0.988x + 0.001$ mmol/L , r = 0.998

The sample concentrations were between 0.08 and 3.83 mmol/L (3.09 and 148 mg/dL).

3.2.3 เป็นการตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ในตัวอย่าง serum ของมนุษย์โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 (y) เปรียบเทียบกับการตรวจวิเคราะห์ด้วย HDL Ultra Cholesterol Reagent โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ Roche/Hitachi 917 analyzer (x). ได้ผลดังนี้

Sample size (n) = 111

Passing/Bablok24 : $y = 0.957x - 0.024$ mmol/L , T = 0.944


Linear regression : $y = 0.961x - 0.033$ mmol/L , r = 0.995

The sample concentrations were between 0.13 and 3.86 mmol/L (5.03 and 149 mg/dL).

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 Serum

4.2 Plasma ที่ใช้ Lithium heparin หรือ K2-EDTA, K3-EDTA

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 4 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

- 5.1 ควรบริโภคอาหารตามปกติในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนตรวจ และมีน้ำหนักคงที่
- 5.2 กรณีส่งตรวจ HDL-Cholesterol โดยไม่ตรวจ Triglycerides ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด แต่ถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ HDL-Cholesterol แต่ความขุ่นของไขมัน (chylomicrons) ในอาหารมีผลกระทบต่อวิธีที่ใช้วิเคราะห์รายการทดสอบอื่นๆ ที่ใช้ตัวอย่างตรวจร่วมกันกับ HDL-Cholesterol การอดอาหาร 8-16 ชั่วโมง จะทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้องน่าเชื่อถือกว่า

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)


- 6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา HDL-Cholesterol ได้แก่
 - 6.1.1 Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL ใช้ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ HDL-Cholesterol ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ
 - 6.1.2 EDTA Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีม่วง) มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 2-3 mL ใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ HDL-Cholesterol แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.3
 - 6.1.3 Clot activator Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีแดง) ขนาดบรรจุ 3-4 mL ใช้กรณีที่ส่งตรวจ HDL-Cholesterol ในงานประจำวันสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากหน่วยงานอื่น เช่น ห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ
- 6.2 ความคงตัวของระดับ HDL-Cholesterol ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง
ความคงตัวของปริมาณ HDL-Cholesterol ในสิ่งส่งตรวจหลังการเก็บตัวอย่าง

ชนิดตัวอย่าง	อุณหภูมิ	ความคงตัว
Serum	15-25°C	72 ชั่วโมง
	2-8°C	7 วัน
	-20°C	12 เดือน
Plasma ที่ใช้สารกันเลือดแข็ง K ₂ -EDTA หรือ K ₃ -EDTA	15-25°C	72 ชั่วโมง
	2-8°C	7 วัน
	-15 ถึง -25°C	3 เดือน
	-70 ถึง -80°C	18 เดือน

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและน้ำยาทดสอบ (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

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 5 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

7.2 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่นแยก

7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา HDLC4 (HDL-Cholesterol Gen.4 Cat. No. 07528566 190) เป็น cassette ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน(ready-to-use) ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 cassette ตรวจได้ 350 Tests เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C วางให้ตั้งตรง จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานบนเครื่อง cobas c 501 แล้วจะมีอายุการใช้งาน 12 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา HDLC4 มีดังนี้

R1 TAPSO buffer: 62.1 mmol/L, pH 7.77;
 polyanion: 1.25 g/L; EMSE: 1.08 mmol/L;
 ascorbate oxidase (cucurbita): $\geq 50 \mu\text{kat/L}$;
 peroxidase (horseradish): $\geq 166.7 \mu\text{kat/L}$;
 detergent; BSA: 2.0 g/L; preservative

R2 Bis-Tris buffer: 20.1 mmol/L, pH 6.70;
 cholesterol esterase (microorganism): $\geq 7.5 \mu\text{kat/L}$;
 cholesterol oxidase (recombinant E. coli): $\geq 7.17 \mu\text{kat/L}$;
 cholesterol oxidase (microorganism): $\geq 76.7 \mu\text{kat/L}$;
 peroxidase (horseradish): $\geq 333 \mu\text{kat/L}$;
 4-amino-antipyrine: 1.48 mmol/L;
 BSA: 3.0 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 HDL-Cholesterol ที่กำหนดไว้ ไม่เกิน 9.0110 % และใช้ QC material อย่างน้อย 1 ระดับ โดยต้องอยู่ในช่วง $\pm 1\text{SD}$ ของ Lot เก่า ถ้าเกิน $\pm 1\text{SD}$ ให้ปรับ Lab mean ใหม่

- ทุกครั้งที่รับน้ำยา Lot เก่าเข้ามาใช้งานใหม่(New shipment) ให้ประเมินโดยใช้ QC material อย่างน้อย 1 ระดับ โดยต้องอยู่ในช่วง $\pm 1\text{SD}$ ของ Lot เก่า ถ้าเกิน $\pm 1\text{SD}$ ให้ปรับ Lab mean ใหม่ด้วย


7.4 สารมาตรฐาน

7.4.1 Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)

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

7.5 สารควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ใช้ตรวจวิเคราะห์ทันทีหลังจากทำ daily maintenance เครื่อง cobas c 501 แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 6 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 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 HDL-Cholesterol สูงเกิน 150 mg/dL น้ำยา Diluent NaCl 9% เมื่อยังไม่เปิดใช้งานควรเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานแล้วจะมีอายุ 12 สัปดาห์
- 7.9 ภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากหลอดเก็บตัวอย่างเริ่มต้น ได้แก่ Sample cup(Hitachi cup) Cat No. 10394246001, Plastic plain tube, Hitachi micro cup
- 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 น้ำยามีส่วนผสมของสารเคมีที่ระคายเคืองผิวหนังไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง
- 8.3 Cassette น้ำยาที่ใช้หมดแล้วให้ทิ้งในถังขยะเคมี

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ(calibration procedures)

- 9.1 ข้อกำหนดในการสอบเทียบ
 - 9.1.1 ทำการสอบเทียบน้ำยา HDLC4 ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ
 - เปิดใช้งานน้ำยา HDLC4 ครั้งแรก
 - น้ำยา HDLC4 เปลี่ยนรุ่นการผลิต(Lot) ใหม่
 - มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไขปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่(re-calibration)
 - 9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบประกอบด้วย
 - Standard 1: H₂O (sterile distilled water for injection)
 - Standard 2: Standard 2: Calibrator f.a.s. Lipids

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 7 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

9.2 วิธีการสอบเทียบ

- 9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ Calibrator f.a.s. Lipids ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับ Lot ที่เคย download ข้อมูลการกำหนดค่าความเข้มข้นของ Glucose 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 นำขวดที่บรรจุ Calibrator f.a.s. Lipids มาละลายด้วยน้ำกลั่น 3 mL โดยใช้ Volumetric pipette ตั้งขวดทิ้งไว้ 30 นาที และให้หมุนขวดเป็นวงกลมเป็นระยะจนละลายดีระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ
- 9.2.3 บรรจุ Calibrator f.a.s. Lipids ที่ละลายจนพร้อมใช้งานแล้วประมาณ 200 ไมโครลิตรลงใน Sample cup (Hitachi cup) ใส่ลงใน Rack สีดำ แล้วทำการ calibrate น้ำยาโดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ calibration” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

10. ขั้นตอนของกระบวนการงาน (procedural steps)

10.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ น้ำยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์


10.1.1 วิธีการเตรียมเครื่องมือ

- ผู้ปฏิบัติงานจะทำ Daily begin เครื่องตรวจวิเคราะห์ เวลา 06.00 น.
- 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 HDLC4 (HDL-Cholesterol Gen.4 Cat. No. 07528566 190) ออกจากตู้เย็น แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัสแถบ barcode
- เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ำยา HDLC4 ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้น้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
- นำ Cassette น้ำยา HDLC4 ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ำยาเข้าไปในเครื่องขณะเครื่องอยู่

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 8 จาก 16 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566	

ในสถานะ preparation โปรแกรมของระบบเครื่องมือจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 12 สัปดาห์

- ตรวจสอบให้แน่ใจว่าพารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องถูกต้องตรงกันตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา HDLC4 (PI-LAB-007)

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13 สารรบกวนการทดสอบ
- เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจ ซีรัม/พลาสมาแล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองหรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และควรมีปริมาตรอย่างน้อย 500 μ L

10.2 ถ้ายังไม่มี การสอบเทียบน้ำยา HDLC4 Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.

10.3 ถ้ายังไม่มี การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น 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 μ L) วางบน Rack สีเทา (กรณีไม่เร่งด่วน) หรือ Rack สีแดง (กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร (sample dead volume 100 μ L) 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

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)		
Reagent pipetting		Diluent (H2O)	
R1	120 μ L	-	
R2	40 μ L	-	
Sample volumes	Sample	Sample dilution	
		Sample	Diluent (NaCl)
Normal	2.4 μ L	-	-
Decreased	12.5 μ L	15 μ L	135 μ L
Increased	2.4 μ L	-	-
Calibration			
Calibrators	S1: H2O		
	S2: C.f.a.s. Lipids		

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 9 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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

10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น mg/dL ในกรณีที่ได้ค่าสูงเกิน 150 mg/dL ให้นำตัวอย่างออกมาจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องอีกครั้งเพื่อส่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะ dilute อัตโนมัติ 1:2 เมื่อตรวจเสร็จจะแสดงค่า HDL-Cholesterol ที่คูณด้วย 2 ให้เรียบร้อย

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

11.1.1 เกณฑ์การตัดสินผลการควบคุมคุณภาพภายใน ให้พิจารณาเลือกใช้กฎบางกฎที่แนะนำไว้ใน

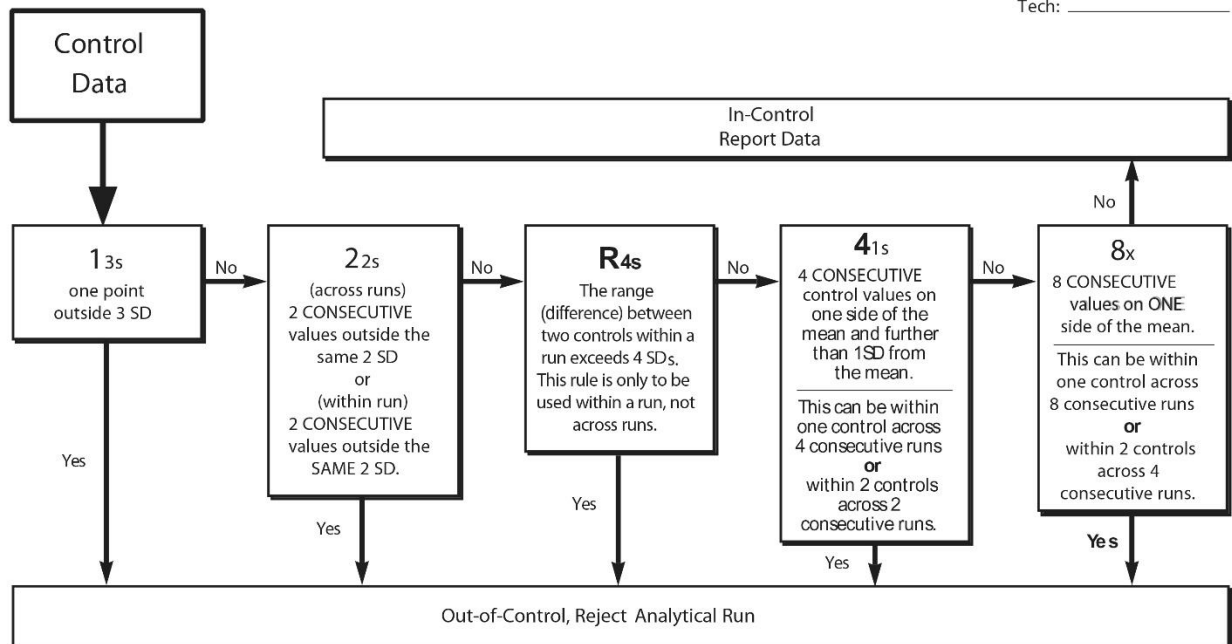
Modern "Westgard Rules" ได้แก่ 1-3S, 2-2S หรือ 2of3-2S, R-4S ร่วมกับเกณฑ์

between run $CV \leq 0.33TEa$ และ Peer group $SDI \leq 1$ โดยการติดตามตรวจสอบและ

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


Date: _____

Tech: _____



Problem: _____

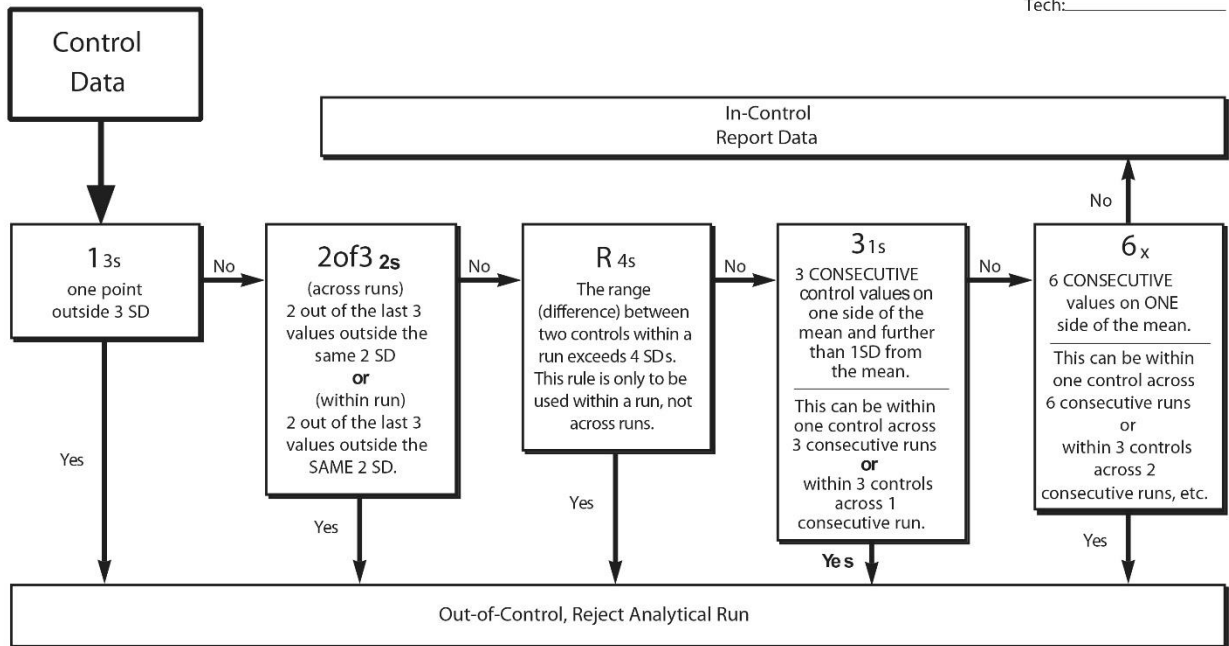
Resolution: _____

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 10 จาก 16 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>

ประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ใน Quality control chart (Levey-Jennings chart) ที่สร้างขึ้นมาจากการหาค่า Mean, SD ของห้องปฏิบัติการ


- 11.1.2 PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 เป็นสารวัสดุควบคุมคุณภาพชนิดซีรัมแห้ง ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ HDL-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 HDL-cholesterol = $\pm 20\%$ (อ้างอิงจาก CLIA2019)
- 11.1.4 การติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision) โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ between-run CV ต้องไม่เกิน 6.67%

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 11 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

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 μ L) 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 HDL-cholesterol ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ (control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้
 - การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ HDL-cholesterol ในรูปแบบกราฟผ่าน control unit ของเครื่อง cobas 6000 ได้ 3 รูปแบบที่เมนู **QC > run status** (แสดงผล QC ของทุก test ในกราฟเดียวกัน แสดงค่าของแต่ละ test ว่าตกอยู่ในขอบเขต $mean \pm 2SD$ หรือไม่), QC > individual(ใช้ตรวจสอบผล IQC โดยละเอียดเป็นราย test มีกราฟแบบ Lewy-Jenning Chart) และ QC > cumulative (คล้ายหน้า individual เป็นข้อมูลในหน้า individual ซึ่งถูกเลือกเป็นตัวแทนมาเก็บไว้ที่หน้า cumulative)
 - ติดตามตรวจสอบผล IQC ให้ละเอียดมากขึ้นใน Levey-Jenning chart สำหรับการตรวจวิเคราะห์ HDL-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 HDL-cholesterol มีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งงดผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่นำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025) เมื่อทำการแก้ไขสาเหตุของความคลาดเคลื่อนแล้ว จึงจะตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยซ้ำ รวมทั้งย้อนกลับไปพิจารณารายงานผลวิเคราะห์ที่ออกไปแล้วนับตั้งแต่การทำควบคุมคุณภาพภายในรอบก่อนหน้านั้น

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 12 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

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

- 12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม EQAS Clinical Chemistry(Monthly) Program เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย *BIO-RAD Laboratories* มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในห้วงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี
- 12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า HDL-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 HDL-c ของห้องปฏิบัติการว่าห่างจากค่าเฉลี่ยของ peer group เป็นกี่เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peer group
 - TE < TEa, เป้าหมาย TE < 10 เมื่อ TEa = ±20 (CLIA2019), %TE=%Bias+1.65%CV
 - Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 9.0110%
- 12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน EQAS การทดสอบ HDL-cholesterol ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)


13. สิ่งรบกวน (interferences)

Criterion: Recovery within ± 10 % of initial value at a HDL-cholesterol concentration of 1 mmol/L (38.7 mg/dL).

13.1 ซีรัม/พลาสมา ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ

ลักษณะ ซีรัม/พลาสมา	ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	I index ≤ 60 unconjugated bilirubin และ conjugated bilirubin ≤ 60 mg/dL	4+
Hemolysis	H index ≤ 1,200 hemoglobin ≤ (1,200 mg/dL)	4+
Lipemic (Intralipid)	L index หรือความขุ่น ไม่สัมพันธ์กับ ปริมาณ Triglyceride	4+

- LDL results are of limited diagnostic value. In some patients with abnormal
- เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 13 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

liver function, the HDL-cholesterol result may significantly differ from the DCM (designated comparison method) result due to the presence of lipoproteins with abnormal lipid distribution

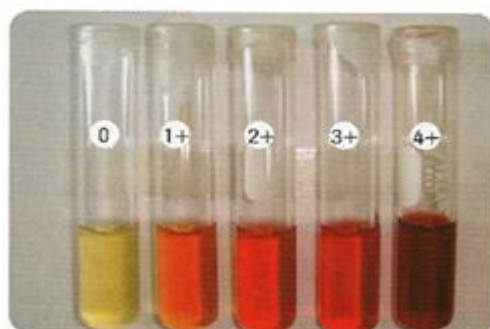
- Drugs: No interference was found at therapeutic concentrations using common drug panels.
- Statins (Simvastatin) and fibrates (Bezafibrate) tested at therapeutic concentration ranges did not interfere.
- N-acetylcysteine: No significant interference up to a N-acetylcysteine concentration of 2.76 mmol/L (450 mg/L).
- Acetaminophen intoxications are frequently treated with N-acetylcysteine.
- 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 HDL-cholesterol results.
- Metamizole: 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.
- In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.



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

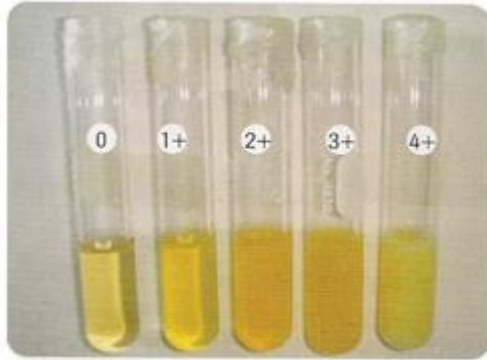


ซีรัมที่มีเม็ดเลือดแดงแตก (Hemolysed serum)

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 14 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566



<p>ซีรัมขุ่นมีไขมัน (Turbid serum)</p> <p>Absorbance 660 นาโนเมตร</p> <p>1+ = 0.4</p> <p>2+ = 0.8</p> <p>3+ = 1.0</p> <p>4+ = 1.2</p>
--

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

14.1 เครื่อง cobas c 501 จะคำนวณค่าความเข้มข้นของ HDL-cholesterol ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor: $\text{mmol/L} \times 38.66 = \text{mg/dL}$
 $\text{mg/dL} \times 0.0259 = \text{mmol/L}$

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


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

ช่วงค่าอ้างอิงทางชีวภาพ (biological reference intervals)

	No risk	Moderate risk	High risk
ผู้หญิง	>65 mg/dL	45-65 mg/dL	<45 mg/dL
ผู้ชาย	>55 mg/dL	35-55 mg/dL	<35 mg/dL

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้(reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range คือ 3.09 - 150 mg/dL

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 15 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

17. คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด

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

ถ้าผลการทดสอบ HDL-Cholesterol >150 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/ค่าแจ้งเตือนที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผลโดยพิจารณาเฉพาะระดับ HDL-Cholesterol

ระดับ HDL ที่น้อยกว่า 40 mg/dL หมายถึงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจที่มากขึ้น ทั้งนี้ขึ้นกับผลของค่าอื่นๆ หรือปัจจัยอื่นร่วมด้วย และพบว่าหากมีค่า HDL อยู่ที่สูงกว่าหรือเท่ากับ 60 mg/dL จะลดความเสี่ยงของโรคหัวใจได้

19.2 การแปลผลโดยพิจารณาอัตราส่วนระหว่าง 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 น้ายา (Reagent)

- เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน HDLC4 cassette อันใหม่
- มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ
- เก็บรักษา HDLC4 cassette โดยไม่ตั้งให้ตรง อาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 วัสดุสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด (การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายให้ได้อุณหภูมิห้อง (freeze-thaw) ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก (ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษัตริย์สุวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 16 จาก 16 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 2	วันที่ประกาศใช้ : 1 กุมภาพันธ์ 2566

- 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 ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- Probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration
- 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 sample cup/small sample cup
- ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เมื่อดเครื่องตีและอาหารก่อนเจาะเลือด

21 เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา HDL-Cholesterol (PI-LAB-007)
- 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 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22 ภาคผนวก



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร.....WI-LAB-007 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ HDL -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 HDL- Cholesterol

WI-LAB-007

แก้ไขครั้งที่.....

ผู้จัดทำ

(นายสิปพนท์ ศรีวะรัมย์)

ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก

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

ผู้ทบทวน

ร.ท.หญิง

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

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

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

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

วันที่ประกาศใช้: (วัน) (เดือน) (ปี)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด