



แผนกพยาธิวิทยา  
โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา

วิธีปฏิบัติงาน  
เรื่อง  
การตรวจ ALKALINE PHOSPHATASE (ALP)

WI-LAB-020

แก้ไขครั้งที่ 0

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวัชรเมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน ร.ต.หญิง

( อรกัญญา ทรงทอง )

ผู้จัดการคุณภาพ


11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ พ.อ.

( ฉัตรมงคล คนขยัน )

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

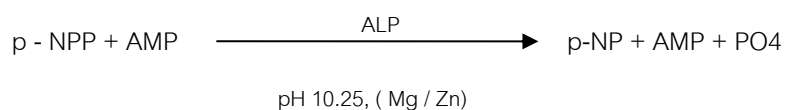
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 1 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562


## 1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับของเอนไซม์ Alkaline Phosphatase (ALP) ใน serum และ plasma ด้วย Dimension® clinical chemistry system
- 1.2 เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคของตับและท่อน้ำดี(Hepatobiliary disease) เช่น hepatitis, necrosis, jaundice และ cirrhosis เป็นต้น
- 1.3 เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคที่เกี่ยวข้องกับกระดูก (Skeletal disease) เช่น Rickets, Paget's disease, มะเร็งกระดูก เป็นต้น

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

- 2.1 ทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ร่วมกับน้ำยา ALPI Flex® reagent cartridge และสารสอบเทียบ ALPI Calibrator ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์จากผู้ผลิตเดียวกัน
- 2.2 เอนไซม์ Alkaline Phosphatase จะ Catalyzed ปฏิกริยา Tranphosphorylation ของ p - Nitrophenylphosphate ( p - NPP ) ไปเป็น p - Nitrophenol ( p - NP ) โดยมี Tranphosphorylating Buffer คือ 2 - Amino - 2 - Methyl - 1 - Propanol ( AMP ) ร่วมด้วย ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะถูกเร่ง ด้วย Mg ion หรือ Zinc ion การเปลี่ยนในการดูดกลืนแสงที่ 405 nm อันเนื่องมาจากการเกิด p-NP นั้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ Activity ของ Enzyme ALP และจะถูกวัดโดยใช้ Bichromatic ( 405 , 510 nm )



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 2 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

### 3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

ระบุไว้ในใบแทรกนํ้ายา ALPI Flex<sup>®</sup> reagent cartridge (PI-LAB-020) ดังนี้

#### Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the Dimension<sup>®</sup> clinical chemistry systems and were collected on a Dimension<sup>®</sup> RxL.

Material	Mean U/L [ $\mu$ kat/L]	Precision <sup>7,1</sup>	
		Standard Deviation (%CV)	
		Repeatability	Within-Lab
Multiquel <sup>®</sup> Assayed QC			
Level 1	37 [0.62]	0.6 [0.01] (1.5)	1.6 [0.03] (4.2)
Level 2	157 [2.62]	1.0 [0.02] (0.6)	3.7 [0.06] (2.3)
Level 3	303 [5.06]	3.3 [0.06] (1.1)	7.1 [0.12] (2.4)
Serum Pool 1	81 [1.35]	1.1 [0.02] (1.4)	1.8 [0.03] (2.2)
Serum Pool 2	842 [14.06]	5.7 [0.10] (0.7)	13.3 [0.22] (1.6)

f. CLSI/NCCLS EP5-A2 was used. During each day of testing, two separate runs, with two test samples, for each test material, were analyzed for 20 days.

Multiquel<sup>®</sup> Assayed Control is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA 92618, USA.

#### Method Comparison<sup>8</sup> Regression Statistics<sup>9</sup>

Comparative Method	Slope	Intercept U/L [ $\mu$ kat/L]	Correlation Coefficient	n
ADVIA <sup>®</sup> ALPAMP	1.06	-0.4 [-0.01]	0.999	116 <sup>h</sup>

g. CLSI/NCCLS EP9-A2 was used. The method used to fit the linear regression line was ordinary least squares.

h. The range of alkaline phosphatase values in the correlation study was 20 – 959 U/L [0.33 – 16.02  $\mu$ kat/L].

### 4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)


- 4.1 ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด(Blood) ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ตามข้อกำหนดของแต่ละภาชนะบรรจุ แต่ไม่ควรน้อยกว่า 2 mL
- 4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์(analytical sample) ได้แก่ plasma, serum ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ (dead volume) ประมาณ 150 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน small sample cup), 250 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน sample cup) และ 2 mL(สำหรับการบรรจุใน sample tube ขนาด 13x75 mm.) แต่ปริมาตรที่ใช้ตรวจวิเคราะห์จริงครั้งละเท่ากับ 7 ไมโครลิตร

### 5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

ไม่มี

### 6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

- 6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา ALP ได้แก่

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 3 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (หลอดจุกเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ ALP ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ โดยให้เก็บตัวอย่างที่ห้องเจาะเลือดของห้องปฏิบัติการ

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Gel & clot activator tube ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ

## 6.2 ความคงตัวของระดับ ALP ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

ส่งตรวจทั้งซีรัมและพลาสมาควรปั่นแยกภายใน 2 ชั่วโมง โดยส่งตรวจสามารถคงสภาพได้นาน 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และคงสภาพได้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 2-8°C นอกจากนี้ยังสามารถคงสภาพได้นาน 6 เดือนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C หรือต่ำกว่า -20°C

## 7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)


- 7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ : Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System
- 7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ALPI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF150
- 7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ ALPI CAL, Cat. No. DC150
- 7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น ALP 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed Multiquel®
- 7.5 Auto pipette, Volumetric pipette และ Pipette tip
- 7.6 Distilled water
- 7.7 ภาชนะบรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมา ได้แก่ Sample cup, Small sample cup, Plastic plain tube
- 7.8 Sample segment

## 8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)


- 8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ
- 8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

## 9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures; metrological traceability)

ขั้นตอนการสอบเทียบให้ดำเนินการตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงาน Standard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณส์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 4 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

- 9.1 ใช้สารสอบเทียบ ALPI CAL, Cat. No. DC150 ซึ่งค่า API สอบกลับ (Traceability) ถึง IFCC Reference Method
  - 9.2 บันทึกข้อมูลของสารสอบเทียบแต่ละรุ่นที่ผลิต (lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารสอบเทียบ ALPI CAL (PI-LAB-115)
  - 9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารสอบเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารสอบเทียบ ALPI CAL (PI-LAB-115)
  - 9.4 ทำการสอบเทียบ (calibration) ทุก 90 วัน และเมื่อเปลี่ยนน้ำยา Lot. ใหม่ โดยใช้สารสอบเทียบจำนวน 3 ระดับ ทำซ้ำระดับละ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย
  - 9.5 ให้ทำการสอบเทียบซ้ำ (re-calibration) เมื่อมีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQAS บ่งชี้ว่ามี systematic error
- 10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)**
- 10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)
    - 10.1.1 นำน้ำยา ALPI Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา
    - 10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา ALPI Flex® reagent cartridge ออกจากห่อ ซึ่งมีขนาดบรรจุ 90 tests/Flex
    - 10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาในแบบบันทึกการนำออกมาใช้น้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB-187)
    - 10.1.4 นำ Flex น้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ โดยน้ำยาทุกหลอดตั้งแต่หลอดที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง (expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลอด 1 ถึง 6 ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 2 วัน ส่วนหลอด 7 และ 8 ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 4 วัน
    - 10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา ALPI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-020)
  - 10.2 สอบเทียบ (Calibration) ตามข้อ 9.
  - 10.3 ตรวจสอบความถูกต้องของการใส่ภาชนะบรรจุตัวอย่างลงไป Sample segment โดยเลือกชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างให้ตรงกับชนิดของ Sample segment โดยเฉพาะ Primary tube ต้องวางให้ตรงกับสีของ adaptor ใน sample segment


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 5 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

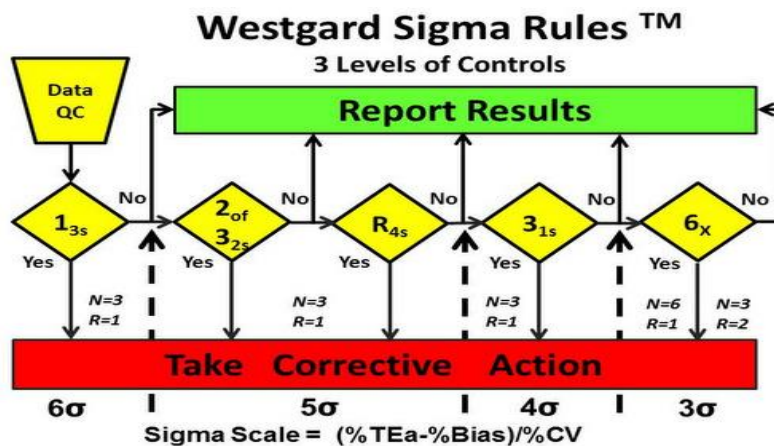
- 10.4 ตรวจสอบความความเพียงพอของการบรรจุตัวอย่างตามชนิดภาชนะบรรจุ ได้แก่ Small sample cup(ควรบรรจุ 0.20-1 mL), sample cup(ควรบรรจุ 0.25-1.5 mL) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกกัน cup และกรณีใช้ Primary tube(ขนาดบรรจุ 5, 7 และ 10 mL ควรบรรจุตัวอย่างตรวจให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดสูงจากก้นหลอดเกิน 3 cm.)
- 10.5 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างไม่มี barcode และมีปริมาตรสิ่งส่งตรวจรวมทั้งหมดแล้วน้อยกว่า 2 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น sample cup หรือ Small sample cup(SSC) แล้วเปลี่ยน Mode เลือกชนิดภาชนะให้ตรงกับชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างที่ใช้
- 10.6 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างมี barcode และมีปริมาณสิ่งส่งตรวจน้อยกว่า 2 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น Small sample cup(SSC) และเลือกใช้ Sample segment ที่ถูกกำหนดให้ใช้กับ SSC ไว้แล้วใน System Configuration Menu ของเครื่องวิเคราะห์
- 10.7 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ตามวิธีการในข้อ 11.
- 10.8 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วย ตามวิธีการที่ระบุไว้ในข้อ 10.7 ของคู่มือปฏิบัติงานเรื่องStandard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลงใน sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ

## 11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (Internal Quality Control, IQC) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดและเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ ดังนี้


- 11.1 ใช้ Sigma metric เป็น QC planning tool
- 11.2 ใช้สารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed and Unassayed Multiquel® ตรวจวิเคราะห์ทั้ง 3 ระดับพร้อมกันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้งในช่วงเวลาตอนเช้าของแต่ละวันก่อนตรวจตัวอย่างผู้ป่วย(N=3, R=1 ในที่นี้หมายถึง ความถี่ 1 ครั้งใน 24 ชั่วโมง) แต่ถ้า Performance ของการตรวจ ALP มีระดับ Sigma metric น้อยกว่า 4.0 ควรเพิ่มความถี่ในการทำ IQC เป็นวันละ 2 ครั้ง(N=3, R=2 ในที่นี้หมายถึงทำตอนเช้า 1 ครั้ง และตอนบ่าย 1 ครั้ง)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายฤกษ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 6 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562



- 11.3 ก่อนใช้งานสารควบคุมคุณภาพต้องตรวจสอบสภาพของสารควบคุมคุณภาพที่เปิดใช้งานอย่างน้อย 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ตรวจสอบในวันแรกที่เปิดใช้งาน ครั้งที่ 2 ตรวจสอบช่วงระหว่างที่เก็บรักษา(วันที่ 3-4 หลังวันเปิดใช้งาน) ครั้งที่ 3 ตรวจสอบในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่ใช้งานหมด พร้อมลงบันทึกผลการตรวจสอบในแบบบันทึกตรวจสอบสภาพของวัสดุควบคุมคุณภาพ(FM-LAB-311)
- 11.4 ใช้ค่า Allowable total error(TEa) ของการทดสอบ ALP =  $\pm 20\%$  (อ้างอิงจาก CLIA 2019)
- 11.5 ติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV<sub>bd</sub>) และ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 6.67%
- 11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ ALP ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอต่อเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟในเมนู Process Control /Method Review ของเครื่อง Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System (EXL200-LAB-003) หรือติดตามตรวจสอบผล IQC ได้ในโปรแกรม Bio-Rad's Unity Real Time(URT-LAB-001)
- 11.7 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบมีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้งดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกปฏิบัติการแก้ไขและมาตรการป้องกันที่นำไปในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025)
- 12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)**
- การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons) ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21) โดยมีข้อกำหนดและเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ ดังนี้
- 12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม EQAS Clinical Chemistry(Monthly) Program ซึ่งให้บริการโดย BIO-RAD มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในห้วงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 7 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

- 12.2 บุคลากรห้องปฏิบัติการดำเนินการตรวจตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS พร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง EQAS ของแต่ละเดือน
- 12.3 บันทึกส่งรายงานผล online เข้าประเมิน(submit results) ดูผลหรือพิมพ์ผลการประเมิน(view or print EQAS reports) ทาง [www.QCNet.com](http://www.QCNet.com)
- 12.4 เมื่อโปรแกรม EQAS ประเมินผลเสร็จแล้ว ให้ Download รายงานผลมาเก็บไว้ใช้ทบทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ
- 12.5 เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

### 13. สิ่งรบกวน (Interferences)

ลักษณะ ตัวอย่าง	สารรบกวน		Bias ที่ค่า ALPระดับต่างๆ			
	ชื่อสารรบกวน	ระดับที่ทดสอบ	297 U/L 823 U/L	300 U/L 834 U/L	307 U/L 856 U/L	308 U/L 878 U/L
Hemolysis	Hemoglobin(Hb)	1000 mg/dL	<10%	-	-	-
Icterus	Unconjugated bilirubin	80 mg/dL	-	<10%	-	-
	Conjugated bilirubin	80mg/dL	-	-	<10%	-
Lipemia	Intralipid®	500 mg/dL	-	-	-	<10%


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

#### 14.1 การคำนวณผลให้เป็น SI Unit

Conventional Unit	Conversion Factor	SI Unit
μkat/L	0.0167	U/L

#### 14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณส์สระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 8 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

การตรวจหา ALP ใช้วิธี Photometric บนเครื่อง Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ซึ่งมีโปรแกรมของเครื่องคำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจหา ALP ในตัวอย่างตรวจ เปลี่ยนเป็นค่า Activity ของ ALP โดยใช้สมการ verify method ที่ได้จากผลการสอบเทียบ ดังนี้

$$\text{Verify method} \quad \text{Conc} = (C_1 \times \Delta\text{Abs}) + C_0$$

$$Y = mx + b$$

$C_0$  = ค่า intercept = b,  $C_1$  = slope = m,

delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17) มีหลักการคำนวณ ดังนี้

- 1) ระบุองค์ประกอบของความไม่แน่นอนของการวัด ได้แก่ IQC, Calibrator
- 2) คำนวณค่า Standard Uncertainty(SU) ของแต่ละองค์ประกอบ
  - SU ของ IQC = ค่า Standard deviation (SD) โดยใช้ข้อมูลย้อนหลัง  $\geq 6$  เดือน แต่กรณีเป็นรายการทดสอบใหม่(new test)ให้ข้อมูลอย่างน้อย 30 ค่า
  - SU ของ Calibrator = Uncertainty  $\div$  Divisor ซึ่งระบุไว้ในใบรับรองของผู้ผลิต
- 3) คำนวณ Relative Standard Uncertainty (RSU) ของแต่ละองค์ประกอบ โดยใช้สูตร
$$\text{RSU} = \text{SU} \div \text{Concentration} \quad \text{จะได้ RSU 2 ค่า ได้แก่}$$
  - RSU จากผลการทำ IQC (RSUIQC)
  - RSU จาก Certificate of Calibrator (RSUcal) ที่ได้จากบริษัทผู้ผลิต calibrator
- 4) คำนวณ Combined relative standard uncertainty (Uc) จากสูตร

$$U_c = \sqrt{(\text{RSUIQC})^2 + (\text{RSUcal})^2}$$

- 5) คำนวณ Expanded relative standard uncertainty (Ux) ของการวัดค่า ALP จากสูตร

$$U_x = k \times U_c$$

K = coverage factor,  $U_c$  = Combined Uncertainty


- 6) คำนวณค่า Expanded uncertainty of results (UR)

$$\text{UR} = \text{ผลการทดสอบ ALP} \times U_x$$

- 7) การรายงานผล ให้รายงานผลการวิเคราะห์ ALP  $\pm$  UR mg/dL (95% Coverage probability) เช่น

ระดับ ALP ในเลือด : 82.64  $\pm$  9.25 mg/dL\*

\*ค่า uncertainty ที่รายงานเป็น expanded uncertainty คำนวณด้วยการใช้ coverage factor เท่ากับ 2 ซึ่งให้ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95%

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 9 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

**15. ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก(biological reference intervals or clinical decision values)**

Expected Values: 46-116 U/L

**16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)**

ค่า Analytical Measurement Range ของ ALP เท่ากับ 10 - 1000 U/L

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

ถ้าผลการทดสอบ ALP >1000 U/L สามารถเลือกวิธีการเจือจางตัวอย่างได้ 2 วิธี ดังนี้

17.1 การเจือจางเองโดยผู้ตรวจวิเคราะห์(manual dilution) ให้เจือจางตัวอย่างด้วย Enzyme Diluent (Cat. No. 790035901) เช่น ถ้าเจือจางตัวอย่างเป็น 1:10 (ใช้ตัวอย่าง 1 ส่วน ผสมกับ Enzyme Diluent 9 ส่วน) แล้วกำหนดค่า dilution factor = 10 ในเครื่องตรวจวิเคราะห์เพื่อให้โปรแกรมในระบบเครื่องมือคำนวณค่าให้ หรือผู้ตรวจวิเคราะห์คำนวณค่าเองโดยใช้ค่าที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างที่เจือจางเป็น 1:10 แล้วคูณด้วย dilution factor = 10 เป็นต้น

17.2 การเจือจางอัตโนมัติโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์(autodilution) ให้ทำตามคำแนะนำที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงาน Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-007)

17.3 ผลการทดสอบตัวอย่างตรวจที่ได้น้อยกว่า 10 U/L ให้รายงาน ALP <10 U/L

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

ไม่มี


**19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)**

**19.1 ระดับ ALP ต่ำ**

การมีระดับ ALP ต่ำกว่าปกติเป็นภาวะที่พบได้น้อย แต่สามารถแสดงว่ามีภาวะทุพโภชนาการซึ่งอาจเกิดจากโรคเซลล์ขาดหรือการขาดวิตามินและแร่ธาตุบางชนิด

**19.2 ระดับ ALP สูง**

การที่มีระดับ ALP สูงกว่าปกติจะแสดงว่ามีภาวะผิดปกติที่ตับหรือถุงน้ำดีซึ่งอาจแสดงว่าเป็นโรคตับอักเสบ ตับแข็ง มะเร็งตับ มีนิ่วในถุงน้ำดี หรือมีท่อน้ำดีอุดตัน นอกจากนั้นยังอาจแสดงว่ามีปัญหาที่เกี่ยวข้องกับกระดูกเช่นโรค rickets, Paget's disease, มะเร็งกระดูก หรือการทำงานของต่อมพาราไทรอยด์ที่มากเกินไปก็ได้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 10 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

## 20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

### 20.1 น้ำยา (Reagent)

- เสื่อมสภาพจากการเก็บรักษาไม่ถูกต้องหรือหมดอายุ
- เปลี่ยน lot ใหม่, เปลี่ยน Flex reagent cartridge อันใหม่
- มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ


### 20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด (การไปเปดต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป(ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง(freeze-thaw)ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก(ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator
- 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 6 เดือน)
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Windows สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- ระยะเวลา Calibration (วงรอบการทำไม่เกิน 90 วัน)
- 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)


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สัระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 11 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

- ตัวอย่างมีการ clot ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องวิเคราะห์
- ตัวอย่างมีการระเหยเนื่องจากตั้งทิ้งไว้นานเกินไปก่อนถูก sample probe ดูดไปตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะกรณีที่มีการแบ่งตัวอย่างปริมาณน้อยใส่ sample cup/small sample cup

## 21. เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา ALPI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-020)
- 21.2 SOP For Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 21.3 ใบแทรกสารสอบเทียบ ALPI CAL (PI-LAB-115)
- 21.4 Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-007)
- 21.5 ใบแทรกสารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed Multiquel® (PI-LAB-130)
- 21.6 การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)
- 21.7 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

## 22. ภาคผนวก

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณส์สระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 12 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

## 22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกน้ำยา ALPI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-020)

# SIEMENS

REF DF150

**Dimension®** clinical chemistry system

PI-LAB-020/00(01/10/2560)

**Flex® reagent cartridge**

**ALPI**

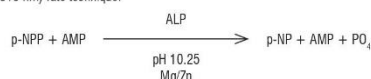
Issue Date 2012-09-04

### Alkaline Phosphatase

**Intended Use:** The ALPI method is an *in vitro* diagnostic test for the quantitative measurement of alkaline phosphatase in human serum and plasma on the Dimension® clinical chemistry system. Measurements of alkaline phosphatase or its isoenzymes are used in the diagnosis and treatment of liver, bone, parathyroid, and intestinal diseases.

**Summary:** The Dimension® ALPI method is based on the primary reference procedure for the measurement of catalytic activity of alkaline phosphatase at 37 °C as described by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). The alkaline phosphatase method is based on a procedure published by Bowers and McComb<sup>1</sup> and more recently reviewed by Rej<sup>2</sup>. This method responds to all alkaline phosphatase isoenzymes in human serum.

**Principles of Procedure:** Alkaline phosphatase catalyzes the transphosphorylation of p-nitrophenylphosphate (p-NPP) to p-nitrophenol (p-NP) in the presence of the transphosphorylating buffer, 2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP). The reaction is enhanced through the use of magnesium and zinc ions. The change in absorbance at 405 nm due to the formation of p-NP is directly proportional to the ALP activity, since other reactants are present in non-rate limiting quantities and is measured using a bichromatic (405, 510 nm) rate technique.



Reagents Wells <sup>a</sup>	Form	Ingredient	Concentration <sup>b</sup>
1 – 6 (Reagent 1)	Liquid	2-Amino-2-Methyl-1-Propanol (AMP) Magnesium Acetate Zinc Sulfate HEDTA	3.0 M 8.0 mmol/L 4.0 mmol/L 8.0 mmol/L
7 – 8 (Reagent 2)	Liquid	p-NPP Buffer	101.6 mmol/L

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.

b. Nominal final value per well in a cartridge.

### Risk and Safety:



Irritant. Contains 2-amino-2-methyl-1-propanol.  
R36/38: Irritating to eyes and skin.

R52/53: Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

Safety data sheets (MSDS/SDS) available on [www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

### Precautions:

Used cuvettes contain human body fluids; handle with appropriate care to avoid skin contact or ingestion.

For *in vitro* diagnostic use.

**Reagent Preparation:** All reagents are liquid and ready to use.

**Store at:** 2 – 8 °C

Protect from light after opening.

**Expiration:** Refer to carton for expiration date of individual unopened reagent cartridges. Sealed wells on the instrument are stable for 30 days.

**Open Well Stability:** 2 days for wells 1 – 6  
4 days for wells 7 – 8

### Specimen Collection and Handling:

Recommended specimen types: serum and plasma (lithium heparin).

Normal procedures for collecting and storing serum and plasma may be used for samples to be analyzed by this method. In the preparation of serum or plasma samples, avoid prolonged contact with separated red cells.<sup>3</sup>

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.<sup>4</sup>

For Serum: Complete clot formation should take place before centrifugation. Serum or plasma should be physically separated from cells as soon as possible with a maximum limit of two hours from the time of collection.<sup>5</sup>

Specimens are stable for 8 hours at room temperature, 7 days at 2 – 8 °C and 6 months when frozen at -20 °C or colder.<sup>6</sup> Avoid repeated freezing and thawing. Thawed specimens which are turbid must be clarified by centrifugation prior to testing.

The purpose of specimen handling and storage information is to provide guidance to users; however, users may validate their own procedures for handling and storing patient samples.

### Procedure

#### Materials Provided

ALPI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF150

#### Materials Required But Not Provided

ALPI CAL, Cat. No. DC150

Enzyme Diluent, Cat. No. 790035901

Quality Control Materials

#### Test Steps

Sampling,<sup>7</sup> reagent delivery, mixing, and processing are automatically performed by the Dimension® clinical chemistry system. For details of this processing, refer to your Dimension® Operator's Guide.

c. The sample container must contain sufficient quantity to accommodate the sample volume plus dead volume. Precise container filling is not required.

#### Test Conditions

Sample Volume (delivered to the cuvette)	7 µL
Reagent 1 Volume	90 µL
Reagent 2 Volume	57 µL
Diluent Volume	206 µL
Temperature	37 °C
Reaction Time	7.2 minutes
Wavelength	405 and 510 nm
Type of Measurement	Bichromatic rate

#### Calibration

Assay Range	10 – 1000 U/L [0.17 – 16.70 µkat/L] <sup>d</sup>
Calibration Material	Dimension® ALPI CAL, Cat. No. DC150
Calibration Scheme	Three levels (n = 3)
Units	U/L [µkat/L] (U/L x 0.0167) = [µkat/L]
Typical Calibration Levels	Level 1: 0 U/L [0.00 µkat/L] Level 2: 500 U/L [8.35 µkat/L] Level 3: 1000 U/L [16.70 µkat/L]
Calibration Frequency	Every 90 days for any one lot
A new calibration is required:	<ul style="list-style-type: none"> <li>For each new lot of Flex® reagent cartridges</li> <li>After major maintenance or service, if indicated by quality control results</li> <li>As indicated in laboratory quality control procedures</li> <li>When required by government regulations</li> </ul>
Assigned Coefficients	C <sub>0</sub> 0.000 C <sub>1</sub> 1.000

d. Système International d'Unités [SI Units] are in brackets.

#### Quality Control

Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency. At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known alkaline phosphatase activity. Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

**Results:** The instrument calculates the activity of alkaline phosphatase in U/L [µkat/L] using the calculation scheme described in your Dimension® Operator's Guide.

**Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.**

#### Analytical Measurement Range (AMR): 10 – 1000 U/L [0.17 – 16.70 µkat/L]

This is the range of analyte values that can be measured directly from the specimen without any dilution or pretreatment that is not part of the usual analytical process and is equivalent to the assay range.

• Samples with results in excess of 1000 U/L [16.70 µkat/L] are reported as "Above Assay Range" and should be repeated on dilution.


**Autodilution (AD):** The autodilute sample volume is 3 µL (dilution factor = 2.3) for serum and plasma. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

**Manual Dilution:** Results in excess of 1000 U/L [16.70 µkat/L] should be repeated after diluting the sample with Enzyme Diluent (Cat. No. 790035901) or equivalent to produce a sample within the assay range.<sup>8</sup> Enter dilution factor. Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.

• Samples with results less than 10 U/L [0.17 µkat/L] will be reported as "less than 10 U/L [0.17 µkat/L]."

e. Specimens should not be diluted to a final activity less than 200 U/L [3.34 µkat/L]



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณส์สระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alkaline Phosphatase (ALP)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-020	หน้า 2 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

#### Limitations of Procedure

The instrument reporting system contains flags and comments to provide the user with information regarding instrument processing errors, instrument status information and potential errors in alkaline phosphatase results. Refer to your Dimension® Operator's Guide for the meaning of report flags and comments. Any report containing flags and/or comments should be addressed according to your laboratory's procedure manual.

A system malfunction may exist if the following 5-test precision is observed:

Activity	SD
150 U/L [2.51 µkat/L]	> 7 U/L [0.12 µkat/L]
500 U/L [8.35 µkat/L]	> 16 U/L [0.27 µkat/L]

#### Interfering substances

Triglycerides above 1500 mg/dL [16.95 mmol/L] tripped a test report message; interference could not be determined.

Lipemia (Intralipid®) at 600 mg/dL [6 g/L] and above tripped a test report message; interference could not be determined.

Intralipid® is a registered trademark of Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Germany.

**Expected Values: 46 – 116 U/L [0.77 – 1.90 µkat/L]**

The reference interval was calculated non-parametrically and represents the central 95% of results determined from a population of healthy adults (n = 132).

Each laboratory should establish its own expected values for alkaline phosphatase as performed on the Dimension® clinical chemistry system.

#### Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the Dimension® clinical chemistry systems and were collected on a Dimension® RxL.

Material	Mean U/L [µkat/L]	Precision <sup>2,1</sup>	
		Standard Deviation (%CV)	Repeatability
			Within-Lab
Multiquel® Assayed QC			
Level 1	37 [0.62]	0.6 [0.01] (1.5)	1.6 [0.03] (4.2)
Level 2	157 [2.62]	1.0 [0.02] (0.6)	3.7 [0.06] (2.3)
Level 3	303 [5.06]	3.3 [0.06] (1.1)	7.1 [0.12] (2.4)
Serum Pool 1	81 [1.35]	1.1 [0.02] (1.4)	1.8 [0.03] (2.2)
Serum Pool 2	842 [14.06]	5.7 [0.10] (0.7)	13.3 [0.22] (1.6)

f. CLSI/NCCLS EP5-A2 was used. During each day of testing, two separate runs, with two test samples, for each test material, were analyzed for 20 days.

Multiquel® Assayed Control is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA 92618, USA.

Comparative Method	Slope	Method Comparison <sup>3</sup> Regression Statistics <sup>4</sup>		n
		Intercept U/L [µkat/L]	Correlation Coefficient	
ADVIA® ALPAMP	1.06	-0.4 [-0.01]	0.999	116 <sup>5</sup>

g. CLSI/NCCLS EP9-A2 was used. The method used to fit the linear regression line was ordinary least squares.

h. The range of alkaline phosphatase values in the correlation study was 20 – 959 U/L [0.33 – 16.02 µkat/L].

#### Serum and Plasma Equivalency

No clinically significant difference was observed between serum (x) and plasma (y) as shown in the following ordinary least squares regression.

Sample Comparison	Slope	Intercept U/L [µkat/L]	Correlation Coefficient	n
Lithium heparin plasma vs. Serum	1.02	-5 [-0.08]	0.999	50 <sup>6</sup>

i. The range of alkaline phosphatase values in the correlation study was 39 – 884 U/L [0.65 – 14.76 µkat/L].

#### Specificity

##### Hemolysis, Icterus, Lipemia (HIL) Interference

The ALPI method was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A2.<sup>8</sup> Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in percent. Bias exceeding 10% is considered interference.

Substance Tested	Substance Concentration	Alkaline Phosphatase U/L [µkat/L]	Bias* %
Hemoglobin (hemolysate)	1000 mg/dL [0.62 mmol/L]	297 [4.96]	<10
		823 [13.74]	<10
		300 [5.01]	<10
Bilirubin (unconjugated)	80 mg/dL [1026 µmol/L]	834 [13.92]	<10
		307 [5.12]	<10
		856 [14.29]	<10
Bilirubin (conjugated)	80 mg/dL [1026 µmol/L]	308 [5.14]	<10
		878 [14.66]	<10
		308 [5.14]	<10
Lipemia (Intralipid®)	500 mg/dL [5 g/L]	878 [14.66]	<10
		308 [5.14]	<10
		878 [14.66]	<10

\* Analyte results should not be corrected based on this bias.

j. Lipemia (Intralipid®) at 600 mg/dL and above tripped a test report message; interference could not be determined.

#### Non-Interfering Substances

The following substances do not interfere with the ALPI method when present in serum and plasma at the concentrations indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances are less than 10% at alkaline phosphatase activity of 299 U/L [4.99 µkat/L] and 842 U/L [14.06 µkat/L].

Substance	Test Concentration	SI Units
Acetaminophen	20 mg/dL	1324 µmol/L
Amikacin	8 mg/dL	137 µmol/L
Ampicillin	5.3 mg/dL	152 µmol/L
Ascorbic acid	6 mg/dL	342 µmol/L
Caffeine	6 mg/dL	308 µmol/L
Carbamazepine	3 mg/dL	127 µmol/L
Chloramphenicol	5 mg/dL	155 µmol/L
Chlordiazepoxide	1 mg/dL	33.3 µmol/L
Chlorpromazine	0.2 mg/dL	6.27 µmol/L
Cholesterol	503 mg/dL	13 mmol/L
Cimetidine	2 mg/dL	79.2 µmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2.65 mmol/L
Dextran 40	6000 mg/dL	1500 µmol/L
Diazepam	0.5 mg/dL	18 µmol/L
Digoxin	6.1 ng/mL	7.8 nmol/L
Erythromycin	6 mg/dL	81.6 µmol/L
Ethanol	400 mg/dL	86.8 mmol/L
Ethosuximide	25 mg/dL	1770 µmol/L
Furosemide	6 mg/dL	181 µmol/L
Gentamicin	1 mg/dL	21 µmol/L
Heparin	3.0 U/mL	3000 U/L
Ibuprofen	50 mg/dL	2425 µmol/L
Immunoglobulin G (IgG)	5000 mg/dL	50 g/L
Lidocaine	1.2 mg/dL	51.2 µmol/L
Lithium	2.2 mg/dL	3.2 mmol/L
Nicotine	0.1 mg/dL	6.2 µmol/L
Penicillin G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	8 mg/dL	354 µmol/L
Phenobarbital	10 mg/dL	431 µmol/L
Phenytoin	5 mg/dL	198 µmol/L
Primidone	4 mg/dL	183 µmol/L
Propoxyphene	0.16 mg/dL	4.91 µmol/L
Protein: Total	12000 mg/dL	120 g/L
Protein: Albumin	6000 mg/dL	60 g/L
Salicylic acid	60 mg/dL	4.34 mmol/L
Theophylline	4 mg/dL	222 µmol/L
Triglycerides	1500 mg/dL	16.95 mmol/L
Urea	500 mg/dL	83 mmol/L
Uric acid	20 mg/dL	1.2 mmol/L
Vancomycin	10 mg/dL	69 µmol/L
Valproic acid	50 mg/dL	3467 µmol/L

#### Limit of Detection and Limit of Blank<sup>10,8</sup>

The Limit of Detection (LoD) for ALPI is 8 U/L [0.13 µkat/L] determined consistent with CLSI guideline EP17-A<sup>10</sup> and with proportions of false positives (α) less than 5% and false negatives (β) less than 5%; based on 120 determinations, with 5 blank (12 reps per sample) and 5 low level samples (12 reps per sample). The Limit of Blank (LoB) is 3 U/L [0.05 µkat/L].

k. LoD is the lowest concentration of analyte that can be detected reliably. LoB is the highest concentration that is likely to be observed for a blank sample.

#### Limit of Quantitation<sup>10,9</sup>

The Limit of Quantitation (LoQ) for ALPI is 10 U/L [0.17 µkat/L] determined consistent with CLSI Guideline EP17-A and allowable total error of 40%.

l. LoQ is the lowest amount of alkaline phosphatase that can be quantitatively determined within a defined total error.

**Symbols Key:** See adjacent panel.

**Bibliography:** See adjacent panel.

Dimension®, ADVIA® and Flex® are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2012 Siemens Healthcare Diagnostics

All rights reserved.

[illegible]



