แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจ Triglyceride

WI-LAB-006

แก้ไขครั้งที่ 00

ผู้จัดทำ สิปปนนท์

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน ร.ต.หญิง อรกัญญา

(อรกัญญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ Triglycerides ในตัวอย่าง serum และ plasma ด้วย Dimension® clinical chemistry system

1.2 เพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยที่มีผิดปกติของไขมัน(lipid disorders) เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวาน atherosclerosis, various liver และ renal diseases.

1.3 ประเมินความเสี่ยงต่อภาวะ atherosclerosis

1.4 เพื่อติดตามการรักษาในผู้ป่วยที่ได้รับยาลดระดับไขมันในเลือด

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

2.1 ทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ร่วมกับน้ำยา TGL Flex® reagent cartridge และสารสอบเทียบ CHEM II Calibrator ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์บริษัทเดียวกัน

2.2 อาศัยหลักการตรวจวัดระดับ Triglyceride จะถูก hydrolyte ด้วยเอนไซม์ตั้งต้นคือ Lipase ได้ผลิตผลเป็น glycerol และ fatty acid โดยจะมีเอนไซม์หลายตัวเข้าร่วมในขบวนการต่อมาได้แก่ Glycerol kinase, GPO, peroxidase สุดท้ายได้สารสี (quinoneimine) ซึ่งจะถูกวัดโดย Bichromatic endpoint technique. ที่ความยาวคลื่น 540 และ 700 nm.

$$\text{Triglycerides} \xrightarrow{\text{LPL}} \text{Glycerol + Fatty Acids}$$

$$\text{Glycerol + ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{Glycerol-3-Phosphate + ADP}$$

$$\text{Glycerol-3-Phosphate + } O_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{Dihydroxyacetone phosphate + } H_2O_2$$

$$2H_2O_2 \text{ + Aminoantipyrine + 4-Chlorophenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinoneimine + HCL + } 4H_2O$$

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

มีระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา TGL Flex® reagent cartridge (PI-LAB-006)

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด(Blood) ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ 1 mL และตามข้อกำหนดของแต่ละภาชนะบรรจุ

4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์(analytical sample) ได้แก่ plasma, serum ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ (dead volume) ประมาณ 200 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน small sample cup), 250 ไมโครลิตร(กรณี

บรรจุใน sample cup) และ 1.5 mL(สำหรับการบรรจุใน sample tube ขนาด 13x75 mm.) แต่ปริมาตรที่ใช้ตรวจวิเคราะห์จริงครั้งละเท่ากับ 4 ไมโครลิตร

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

5.1 ควรบริโภคอาหารตามปกติในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนตรวจ และมีน้ำหนักคงที่

5.2 งดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมง และควรงดดื่มแอลกอฮอล์ในคืนก่อนตรวจ

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา Triglycerides ได้แก่

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

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ Triglycerides แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.3 เท่านั้น

6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Gel & clot activator tube (จุกเหลืองทอง) ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ

6.2 **ความคงตัวของระดับ** Triglycerides **ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง**

สิ่งส่งตรวจทั้งซีรั่มและพลาสมาที่ปั่นแยกแล้วสามารถคงสภาพได้นาน 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และคงสภาพได้นาน 2 วัน ที่อุณหภูมิ 2-8°C นอกจากนี้ยังสามารถคงสภาพได้นานขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C หรือต่ำกว่า –20°C

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ : Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System

7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : TGL Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF69A

7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ Triglycerides : CHEM II Calibrator, Cat. No. DC20

7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น Triglycerides 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed and Unassayed Multiqual®

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 น้ำยามีส่วนผสมของสารถนอมรักษาส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

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

9.1 ใช้สารสอบเทียบ CHEM II Calibrator, Cat. No. DC20 ซึ่งมีระดับค่า Triglycerides สอบกลับ (Traceability) ถึง Glycerol Anhydrous (ACS Grade)

9.2 บันทึกข้อมูลของสารสอบเทียบแต่ละรุ่นที่ผลิต(lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารสอบเทียบ CHEM II Calibrator (PI-LAB-111)

9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารสอบเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารสอบเทียบ CHEM II Calibrator (PI-LAB-111)

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 และ/หรือ EQAS บ่งชี้ว่ามี systematic error

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)

10.1.1 นำน้ำยา TGL Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา

10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา TGL Flex® reagent cartridge ออกจากห่อ ซึ่งมีขนาดบรรจุ 120 tests/Flex

10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB-187) เพื่อใช้ประโยชน์ในการทบทวนเมื่อผลการควบคุมคุณภาพภายในไม่ผ่านเกณฑ์

10.1.4 นำ Flex น้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ โดยน้ำยาทุกหลุมตั้งแต่หลุมที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลุมที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 10 วัน

10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา TGLFlex® reagent cartridge (PI-LAB-006)

10.2 สอบเทียบ(Calibration) ตามข้อ 9.

10.3 ตรวจสอบความถูกต้องของการใส่ภาชนะบรรจุตัวอย่างลงไปใน Sample segment โดยเลือกชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างให้ตรงกับชนิดของ Sample segment โดยเฉพาะ Primary tube ต้องวางให้ตรงกับสีของ adaptor ใน sample segment

10.4 ตรวจสอบความความเพียงพอของการบรรจุตัวอย่างตามชนิดภาชนะบรรจุ ได้แก่ Small sample cup(ควรบรรจุ 0.20-1 mL), sample cup(ควรบรรจุ 0.25-1.5 mL) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกก้น cup และกรณีใช้ Primary tube(ขนาดบรรจุ 5, 7 และ 10 mL ควรบรรจุตัวอย่างตรวจให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดสูงจากก้นหลอดเกิน 3 cm.)

10.5 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างไม่มี barcode และมีปริมาตรสิ่งส่งตรวจรวมทั้งหมดแล้วน้อยกว่า 1.5 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น sample cup หรือ Small sample cup(SSC) แล้วเปลี่ยน Mode เลือกชนิดภาชนะให้ตรงกับชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างที่ใช้

10.6 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างมี barcode และมีปริมาณสิ่งส่งตรวจน้อยกว่า 1.5 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)

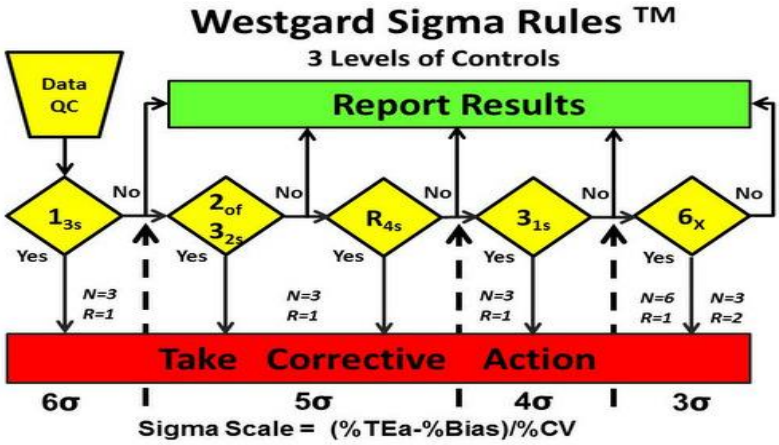
10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลงที่ sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ

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 Multiqual® ตรวจวิเคราะห์ทั้ง 3 ระดับพร้อมกันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้งในช่วงเวลาตอนเช้าของแต่ละวันทุกวันก่อนตรวจตัวอย่างผู้ป่วย(N=3, R=1 ในที่นี้หมายถึง ความถี่ 1 ครั้งใน 24 ชั่วโมง) แต่ถ้า Performance ของการตรวจ Triglycerides มีระดับ Sigma metric น้อยกว่า 4.0 ควรเพิ่มความถี่ในการทำ IQC เป็นวันละ 2 ครั้ง(N=3, R=2 ในที่นี้หมายถึงทำตอนเช้า 1 ครั้ง และตอนบ่าย 1 ครั้ง)



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 Triglycerides = ±15% (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

11.5 ติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV_{bd}) และ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 5%

11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ Triglycerides 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 ลงบันทึกปฏิบัติการแก้ไขและมาตรการป้องกันที่ทำไปในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล 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

12.2 บุคลากรห้องปฏิบัติการดำเนินการตรวจตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS พร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง 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 เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อหารือกันเมื่อผลการประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

ลักษณะตัวอย่าง	สารรบกวน		Bias ที่ค่า Triglycerides ระดับต่างๆ		
	ชื่อสารรบกวน	ระดับที่ทดสอบ	155 mg/dL	156 mg/dL	200 mg/dL
Hemolysis	Hemoglobin(Hb)	300 mg/dL	< 10%	-	-
Icterus	Unconjugated bilirubin	5 mg/dL	-	<10%	-
	Conjugated bilirubin	60 mg/dL	-	-	<10%

14. หลักการของของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ 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
mg/dL	0.0113	mmol/L

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

การตรวจหา Triglycerides ใช้วิธี Photometric บนเครื่อง Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ซึ่งมีโปรแกรมของเครื่องคำนวณค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจหาระดับ Triglycerides ในตัวอย่างตรวจเปลี่ยนเป็นค่าความเข้มข้นของ Triglycerides โดยใช้สมการ Linear method ที่ได้จากผลการสอบเทียบ ดังนี้

Linear method

$$Conc = (C_1 \times \Delta Abs) + C_0$$
$$Y = mx + b$$

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

delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)

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

Normal	< 150 mg/dL
Borderline high	150-199 mg/dL
High	200-499
Very high	≥ 500 mg/dL

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ Triglycerides เท่ากับ 15 – 1,000 mg/dL

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

ถ้าผลการทดสอบ Triglycerides > 1,000 mg/dL สามารถเลือกวิธีการเจือจางตัวอย่างได้ 2 วิธี ดังนี้

17.1 การเจือจางเองโดยผู้ตรวจวิเคราะห์(manual dilution) ให้เจือจางตัวอย่างด้วย Reagent grade water(RGW) เช่น ถ้าเจือจางตัวอย่างเป็น 1:2(ใช้ตัวอย่าง 1 ส่วน ผสมกับ RGW 1 ส่วน) ให้กำหนดค่า dilution factor = 2 ในเครื่องตรวจวิเคราะห์เพื่อให้โปรแกรมในระบบเครื่องมือคำนวณค่าให้ หรืออาจเลือกใช้วิธีไม่ต้องกำหนดค่า dilution factor ในเครื่องตรวจวิเคราะห์ แต่ผู้ตรวจวิเคราะห์ต้องคำนวณค่าเองโดยใช้ค่าที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างที่เจือจางเป็น 1:2 แล้วคูณด้วย dilution factor = 2 เป็นต้น

17.2 **การเจือจางอัตโนมัติโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์(autodilution)** เมื่อเลือกใช้ auto-dilution feature ซึ่งใช้ autodilution volume = 4 µL เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการคำนวณค่าผลการทดสอบออกมาให้หลังจากการตรวจวิเคราะห์ Triglycerides สิ้นสุดแล้ว

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

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

ระดับ Triglycerides ที่วัดได้สูงกว่าปกติอาจมีสาเหตุมาจาก

- สภาวะท่อน้ำดีอุดตัน (Biliary Obstruction)
- โรคเบาหวาน
- โรคเกี่ยวกับไต
- โรคเกี่ยวกับต่อมไร้ท่อ (Endocrine Disorders)
- การดื่มแอลกอฮอล์มากเกินไป เนื่องจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทุกชนิดนั้น จะมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก
- การกินอาหารประเภท คาร์โบไฮเดรต เช่น ข้าว ขนม แป้ง น้ำตาล มากเกินไปกว่าที่ร่างกายต้องการ
- การกินอาหารประเภทไขมัน เช่น เนื้อสัตว์ติดมัน อาหารประเภททอด มากเกินกว่าที่ร่างกายต้องการ

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 ละลายผิดสัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิดพลาด(การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง(freeze-thaw)ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก(ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator
- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นานหรือนำ 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
- เลยเวลา Calibration (วงรอบการทำไม่เกิน 60 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)

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

21. **เอกสารอ้างอิง** (references)

21.1 ใบแทรกน้ำยา Automated TGL Flex® reagent cartridge (PI-LAB-006)

21.2 SOP For EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)

21.3 ใบแทรกสารสอบเทียบ CHEM II Calibrator (PI-LAB-111)

21.4 Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-007)

21.5 ใบแทรกสารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed Multiqual® (PI-LAB-130)

21.6 การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)

21.7 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก

22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกน้ำยา Automated TGL Flex® reagent cartridge (PI-LAB-006)

SIEMENS

REF DF69A

PI-LAB-006/00(01/10/2560)

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge — TGL

See shaded sections: Updated information from 2001-08 version.

Issue Date 2008-02-29

Triglycerides

Intended Use: The TGL method used on the Dimension® clinical chemistry system is an *in vitro* diagnostic test intended for the quantitative determination of triglycerides in human serum and plasma. Measurements obtained are used in the diagnosis and treatment of patients with diabetes mellitus, nephrosis, liver obstruction, other diseases involving lipid metabolism, or various endocrine disorders.

Summary: Triglycerides are water-insoluble lipids consisting of three fatty acids linked to one glycerol molecule. Triglycerides are transported in the blood as core constituents of all lipoproteins, but the greatest concentration of these molecules is carried in the triglycerides-rich chylomicrons and very low density lipoproteins (VLDL).[1] Through the action of lipases and bile acids, triglycerides are hydrolyzed into glycerol and fatty acids which are absorbed by adipose tissue for storage or by other tissues requiring a source of energy. A peak concentration of chylomicron-associated triglycerides occurs within 3 – 6 hours after ingestion of a fat-rich meal; however, the rate of absorption of fats is highly variable, depending on the individual and dietary composition of the fat. After absorption, triglycerides are resynthesized in the epithelial cells and combined with cholesterol and a number of apolipoproteins to form chylomicrons.[2]

Principles of Procedure: The triglycerides method is based on an enzymatic procedure in which a combination of enzymes are employed for the measurement of serum or plasma triglycerides. The sample is incubated with lipoprotein lipase (LPL) enzyme reagent that converts triglycerides into free glycerol and fatty acids. Glycerol kinase (GK) catalyzes the phosphorylation of glycerol by adenosine-5-triphosphate (ATP) to glycerol-3-phosphate. Glycerol-3-phosphate-oxidase oxidizes glycerol-3-phosphate to dihydroxyacetone phosphate and hydrogen peroxide (H_2O_2). The catalytic action of peroxidase (POD) forms quinoneimine from H_2O_2, aminoantipyrine and 4-chlorophenol. The change in absorbance due to the formation of quinoneimine is directly proportional to the total amount of glycerol and its precursors in the sample and is measured using a bichromatic (510, 700 nm) endpoint technique.

$$\text{Triglycerides} \xrightarrow{\text{LPL}} \text{Glycerol + Fatty Acids}$$

$$\text{Glycerol + ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{Glycerol-3-Phosphate + ADP}$$

$$\text{Glycerol-3-Phosphate + } O_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{Dihydroxyacetone phosphate + } H_2O_2$$

$$2H_2O_2 \text{ + Aminoantipyrine + 4-Chlorophenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinoneimine + HCL + } 4H_2O$$

Reagents

Wells[a]	Form	Ingredient	Concentration[b,c]
1 – 6	Liquid	Lipoprotein Lipase	7.5 KU/L
		ATP	3 mmol/L
		Glycerol kinase	0.5 KU/L
		Glycerol-3-Phosphate-oxidase	2.2 KU/L
		4-aminoantipyrine	0.75 mmol/L
		4-chlorophenol	6 mmol/L
		Peroxidase	5 KU/L
		Mg^{2+}	22.5 mmol/L
		Buffer pH 7.2	50 mmol/L

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.
b. This represents the nominal value in final reaction mixture.
c. Contains bovine serum albumin.

Precautions: Contains sodium azide (< 0.1%) as a preservative. Sodium azide can react with copper or lead pipes in drain lines to form explosive compounds. Dispose of properly in accordance with local regulations.

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

For *in vitro* diagnostic use

Store at: 2 – 8 °C

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

Open Well Stability: 10 days for wells 1 – 6

Specimen Collection and Handling: Normal procedures for collecting and storing serum and plasma may be used for samples to be analyzed by this method.[3]

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.[4]

Blood collection tubes containing glycerol lubricated stoppers should be avoided since they will cause erroneously elevated result.

Corvac®, and SST®, collection tubes do not affect the TGL method.

Separated specimens are stable for 8 hours at room temperature, 2 days at 2 – 8 °C. For longer storage, specimens may be frozen at -20 °C or colder.[5]

Corvac® is a registered trademark of Monoject, Division of Sherwood Medical, St. Louis, MO.
SST® is a registered trademark of Becton-Dickinson, Rutherford, NJ.

Procedure

Materials Provided

TGL Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF69A

Materials Required But Not Provided

CHEM II Calibrator, Cat. No. DC20
Quality Control Materials

Test Steps

Sampling,[d] reagent delivery, mixing, processing, and printing of results are automatically performed by the Dimension® system. For details of this processing, refer to your Dimension® Operator's Guide.

d. The sample container (if not a primary tube) must contain sufficient quantity to accommodate the sample volume plus dead volume.

Test Conditions

Sample Size	4 µL
Reagent 1 Volume	133 µL
Temperature	37 °C ± 0.1 °C
Wavelengths	510 and 700 nm
Type of Measurement	Bichromatic endpoint

Calibration

Assay Range[e]	15 – 1000 mg/dL [0.17 – 11.3 mmol/L][f]
Calibration Material	CHEM II Calibrator, Cat. No. DC20
Calibration Scheme	3 Levels, n = 3
Units	mg/dL [mmol/L] (mg/dL x 0.0113) = [mmol/L]
Typical Calibration Levels	120, 240, 485 mg/dL [1.37, 2.74, 5.54 mmol/L]
Calibration Frequency	Every 90 days for any one lot.
A new calibration is required	• For each new lot of Flex® reagent cartridges • After major maintenance or service, if indicated by quality control results • As indicated in laboratory quality control procedures • When required by government regulations
Assigned Coefficients	C_0 -2.6 C_1 1.5

e. Triglycerides-based samples (not glycerol samples) should be used to verify the assay range.
f. Système International d'Unités [SI Units] are in brackets.

Quality Control

At least once each day of use, analyze at least two levels of a quality control material with known triglycerides concentrations.

Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

Results: The instrument automatically calculates and prints the concentration of triglycerides in mg/dL [mmol/L] using the calculation scheme illustrated 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): 15 – 1000 mg/dL [0.17 – 11.3 mmol/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 mg/dL [11.3 mmol/L] should be repeated on dilution.

Manual Dilution: Make appropriate dilution with Reagent grade water to obtain a result within the assay range. Enter the dilution factor. Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.

Autodilution (AD): If using the auto-dilution feature, results above 1000 mg/dL [11.3 mmol/L] will automatically be repeated (for serum, plasma).

Results less than 15 mg/dL [0.17 mmol/L] should be reported as "less than 15 mg/dL [0.17 mmol/L]".

Limitations of Procedure

The instrument reporting system contains error messages to warn the user of specific malfunctions. Any report slip containing such error messages should be held for follow-up. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

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

Concentration	SD
100 mg/dL [1.13 mmol/L]	>5 mg/dL [0.06 mmol/L]
400 mg/dL [4.53 mmol/L]	>16 mg/dL [0.18 mmol/L]

Interfering Substances

Small amounts of free glycerol may be found in blood samples from healthy individuals due to natural lipolysis. The concentration of free glycerol may be increased by stress, disease states or administration of intravenous infusates.[6] Free glycerol or other polyols may cause a positive interference.

Glycerol-based quality control products should not be used with this method.

Hemoglobin (hemolysate) of 500 mg/dL [0.31 mmol/L] (monomer) will increase a triglycerides result of 155 mg/dL [1.75 mmol/L] by 12%.

Bilirubin (unconjugated) of 20 mg/dL [342 µmol/L] will increase a triglycerides result of 156 mg/dL [1.76 mmol/L] by 11%.

Expected Values

The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP- ATP III)[7] provides the following categories of triglycerides concentrations:

Category	Serum Triglycerides mg/dL	[mmol/L]
Normal	< 150	[< 1.70]
Borderline high	150 – 199	[1.70 – 2.25]
High	200 – 499	[2.26 – 5.64]
Very High	≥ 500	[≥ 5.65]

Each laboratory should establish its own reference interval for triglycerides as performed on the Dimension® system.

Specific Performance Characteristics[g]

Precision[h,i]

Material	Mean mg/dL [mmol/L]	Standard Deviation (% CV) Within-run	Between-day
Multiqual®			
Level 2	132 [1.49]	0.7 [0.01] (0.5)	1.1 [0.01] (0.8)
Level 3	216 [2.44]	0.9 [0.01] (0.4)	1.5 [0.02] (0.7)
Plasma Pool	364 [4.11]	1.4 [0.02] (0.4)	3.6 [0.04] (1.0)
Serum Pool	425 [4.80]	1.5 [0.02] (0.4)	5.5 [0.06] (1.3)

g. All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed on the Dimension® RxL system. (Refer to your Dimension® Operator's Guide).

h. Reproducibility testing was done in accordance with the NCCLS Approved Guideline for Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices (EP5-A, Feb. 1999).

i. Specimens at each level were analyzed in duplicate, once a day, for 20 days. The within-run and total standard deviations were calculated by the analysis of variance method.

Multiqual® is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA, 92618-2017, USA.

Method Comparison

Regression Statistics[j]

Comparative Method	Slope	Intercept	Correlation Coefficient	n[k]
Dimension® TRIG	1.01	-4.2 [-0.5]	0.999	230

j. Model equation for regression statistics is: Result of Dimension® analyzer = [Slope x Comparative method result] + Intercept.

k. The range of triglycerides in the correlation study was 30 – 906 mg/dL [0.34 – 10.24 mmol/L]. Triglycerides results greater than 500 mg/dL were obtained from diluted samples when analyzed by the Dimension® TRIG method (Cat. No. DF69). All triglycerides results analyzed by the Dimension® TGL method (Cat. No. DF69A) were obtained from undiluted samples.

Specificity

HIL Interference

The TGL method was evaluated for interference from hemolysis and icterus according to CLSI/NCCLS EP7-P. Bias, defined as the difference between the control sample (does not contain interferent) and the test sample (contains the interferent), is shown in the table below. Bias exceeding 10% is considered "interference".

Substance Tested	Test Concentration SI Units	TGL Concentration mg/dL [mmol/L]	Bias %[l]
Hemoglobin (hemolysate)	300 mg/dL [0.19 mmol/L] (monomer)	155 [1.75]	<10
Bilirubin (unconjugated)	5 mg/dL [86 µmol/L]	156 [1.76]	<10
Bilirubin (conjugated)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	200 [2.26]	<10

l. Analyte results should not be corrected based on this bias.

Non-Interfering Substances

The following substances do not interfere with the TGL method when present in serum and plasma at the concentrations indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances are less than 10% at triglycerides concentrations of 200 mg/dL [2.26 mmol/L].

Substance	Test Concentration	SI Units
Acetaminophen	20 mg/dL	1323 µmol/L
Albumin	6.8 g/dL	68 g/L
Amikacin	15 mg/dL	256 µmol/L
Ampicillin	5 mg/dL	143 µmol/L
Ascorbic Acid	3 mg/dL	170.3 µmol/L
Caffeine	10 mg/dL	515 µmol/L
Carbamazepine	12 mg/dL	508 µmol/L
Chloramphenicol	25 mg/dL	774 µmol/L
Chlordiazepoxide	2 mg/dL	67 µmol/L
Chlorpromazine	5 mg/dL	157 µmol/L
Cholesterol	500 mg/dL	13.0 mmol/L
Cimetidine	10 mg/dL	396 µmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2652 µmol/L
Dextran 75	2500 mg/dL	333 µmol/L
Diazepam	2 mg/dL	70 µmol/L
Digoxin	5 ng/mL	6.4 nmol/L
Erythromycin	20 mg/dL	273 µmol/L
Ethanol	350 mg/dL	76 mmol/L
Ethosuximide	30 mg/dL	2125 µmol/L
Furosemide	2 mg/dL	61 µmol/L
Gentamicin	12 mg/dL	251 µmol/L
Sodium Heparin	8000 U/L	8000 U/L
Ibuprofen	40 mg/dL	1939 µmol/L
Lidocaine	6 mg/dL	256 µmol/L
Lithium (lithium chloride)	3.5 mg/dL	5.07 mmol/L
Nicotine	2 mg/dL	123 µmol/L
Penicillin G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	10 mg/dL	442 µmol/L
Phenobarbital	15 mg/dL	646 µmol/L
Phenytoin	10 mg/dL	396 µmol/L
Primidone	10 mg/dL	458 µmol/L
Propoxyphene	0.4 mg/dL	12 µmol/L
Protein: Total	3.6 g/dL	36 g/L
Protein: Total	11.8 g/dL	118 g/L
Rheumatoid factors	500 IU/mL	500 IU/mL
Salicylic Acid	50 mg/dL	3.62 mmol/L
Theophylline	25 mg/dL	1388 µmol/L
Urea	500 mg/dL	83.3 mmol/L
Uric Acid	20 mg/dL	1.2 mmol/L
Valproic Acid	50 mg/dL	3467 µmol/L

Analytical Sensitivity: 15 mg/dL [0.17 mmol/L]

The analytical sensitivity represents the lowest activity of TGL that can be reported.

Symbols Key: See Adjacent Panel

Dimension® and Flex® are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
All rights reserved.

Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Newark, DE 19714, U.S.A.
www.siemens.com/diagnostics

EC REP **Siemens Healthcare Diagnostics Ltd.**
Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, UK GU16 8QD

2008-02-29 C 717069.101 - US

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-006 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจหา **Triglycerides**

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายสิปปนนท์ฯ