



แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจ HDL

WI-LAB-007

แก้ไขครั้งที่ 00

ผู้จัดทำ

ส.ป.นนท์

(นายสีปนนท์ ศรีวระมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

อ.สังยุต

(อรทัยญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ


พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 1 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

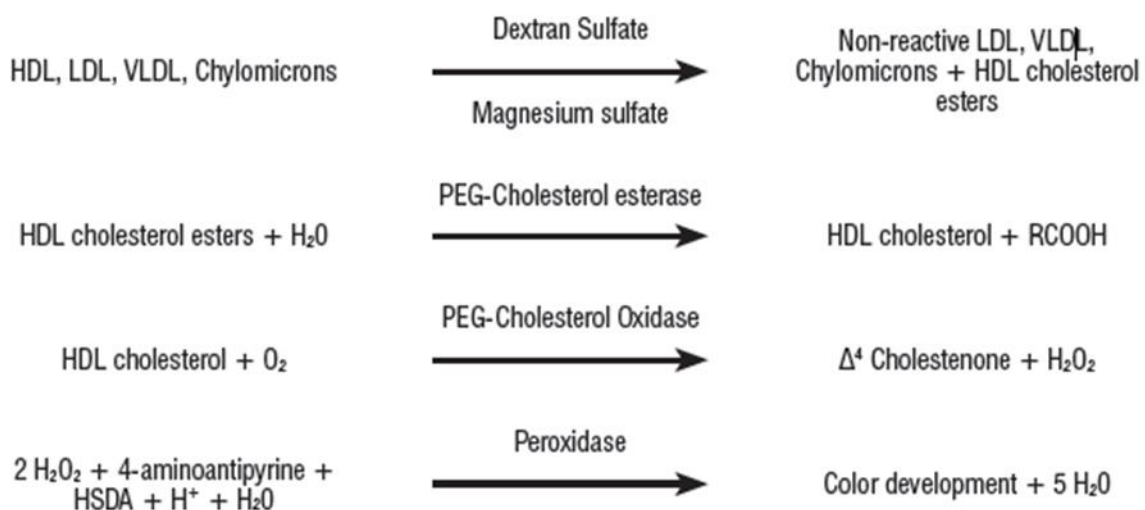
1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)


- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ HDL-Cholesterol ในตัวอย่าง serum และ plasma ด้วย Dimension® clinical chemistry system
- 1.2 เพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยและรักษาความผิดปกติของไขมัน(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 AHDL Flex® reagent cartridge และสารสอบเทียบ AHDL Calibrator ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์เดียวกัน

2.2 อาศัยหลักการที่ Chylomicron, VLDL และ LDL จะละลายน้ำและรวมตัวกับ Dextran Sulfate และ Magnesium Sulfate หลังจากนั้นส่วนที่รวมตัวกันจะยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาดัง polyethylene glycol (PEG)-modified cholesterol esterase และ cholesterol oxidase จะเข้าทำปฏิกิริยากับ HDL Cholesterol และถูกออกซิไดส์ เกิดเป็น 4-cholestenone และ hydrogen peroxide โดย hydrogen peroxide จะเข้าทำปฏิกิริยากับ 4-aminoantipyrine and sodium N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline (HSDA) เกิดเป็นสารที่มีสี และวัดความเข้มข้นของสีที่ความยาวคลื่น 600 และ 700 นาโนเมตร โดยสีที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของ HDL-Cholesterol ดังปฏิกิริยา



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 2 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

มีระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา AHDL Flex[®] reagent cartridge (PI-LAB-007)

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(กรณีบรรจุใน sample cup) และ 1.5 mL(สำหรับการบรรจุใน sample tube ขนาด 13x75 mm.) แต่ปริมาตรที่ใช้ตรวจวิเคราะห์จริงครั้งละเท่ากับ 3 ไมโครลิตร


5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

- 5.1 ควรบริโภคอาหารตามปกติในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนตรวจ และมีน้ำหนักคงที่
- 5.2 กรณีส่งตรวจ HDL-Cholesterol โดยไม่ตรวจ Triglycerides ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด แต่ถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ HDL-Cholesterol แต่ความชุ่นของไขมัน(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 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (หลอดจุกเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ HDL-Cholesterol ร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ โดยให้เก็บตัวอย่างที่ห้องเจาะเลือดของห้องปฏิบัติการ
 - 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Gel & clot activator tube (จุกเหลืองทอง) ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียม และห้องตรวจสุขภาพ
- 6.2 ความคงตัวของระดับ HDL-Cholesterol ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

สิ่งส่งตรวจทั้ง ซีรัมและพลาสมาควรปั่นแยกภายใน 2 ชั่วโมง โดยสามารถคงสภาพได้นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และคงสภาพได้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 2-8°C นอกจากนี้ยังสามารถคงสภาพได้นาน 3 เดือน ที่ -70°C โดยสิ่งส่งตรวจที่เก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C และ -70°C จะส่งผลให้ค่า HDL-Cholesterol สูงขึ้นหรือต่ำลงได้ 10 %

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 3 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)


- 7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ : Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System
- 7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : AHDL Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF48B
- 7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ AHDL-Cholesterol : AHDL Calibrator, Cat.No. DC48B
- 7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น HDL-Cholesterol 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed and Unassayed Multiquel®
- 7.5 Auto pipette, Volumetric pipette 2 mL 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 น้ำยามีส่วนผสมของสารอันตรายบางส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

- ขั้นตอนการสอบเทียบให้ดำเนินการตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงาน Standard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 9.1 ใช้สารสอบเทียบ AHDL Calibrator, Cat. No. DC48B ซึ่งมีระดับค่า HDL-Cholesterol สอบกลับ (Traceability) ถึง Center for Disease Control (CDC) Designated Comparison Method (DCM) reference method
 - 9.2 บันทึกข้อมูลของสารสอบเทียบแต่ละรุ่นที่ผลิต (lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารสอบเทียบ AHDL Calibrator (PI-LAB-118)
 - 9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารสอบเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารสอบเทียบ AHDL Calibrator (PI-LAB-118)
 - 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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 4 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562


10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)

- 10.1.1 นำน้ำยา AHDL Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา
- 10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา AHDL Flex® reagent cartridge ออกจากห่อ ซึ่งมีขนาดบรรจุ 30 tests/Flex
- 10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB-187) เพื่อใช้ประโยชน์ในการทบทวนเมื่อผลการควบคุมคุณภาพภายในไม่ผ่านเกณฑ์
- 10.1.4 นำ Flex น้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ โดยน้ำยาทุกหลอดตั้งแต่หลอดที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลอดที่ถูกเจาะแล้วในหลอดที่1-3 จะมีอายุการใช้งาน 3 วัน หลอดที่ 4 จะมีอายุการใช้งาน 10 วันและหลอดที่5-6 จะมีอายุการใช้งาน 15 วัน
- 10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา AHDL Flex® reagent cartridge (PI-LAB-007)

10.2 สอบเทียบ(Calibration) ตามข้อ 9.

- 10.3 ตรวจสอบความถูกต้องของการใส่ภาชนะบรรจุตัวอย่างลงใน 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) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกกัน cup และกรณีใช้ Primary tube(ขนาดบรรจุ 5, 7 และ 10 mL ควรบรรจุตัวอย่างตรวจให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดสูงจากกันหลอดเกิน 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) และ

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 5 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

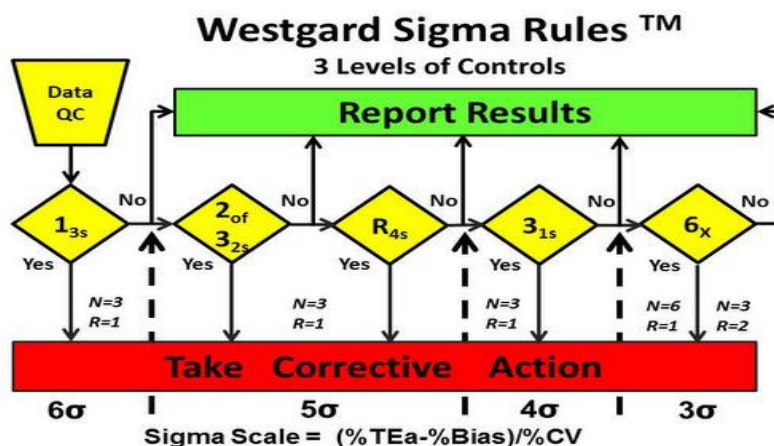
เลือกใช้ Sample segment ที่ถูกกำหนดให้ใช้กับ SSC ไว้แล้วใน System Configuration Menu ของเครื่องวิเคราะห์

- 10.7 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ตามวิธีการในข้อ 11.
- 10.8 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วย ตามวิธีการที่ระบุไว้ในข้อ 10.7 ของคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Standard 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 ครั้งในช่วงเวลาตอนเช้าของแต่ละวันทุกวันก่อนตรวจตัวอย่างผู้ป่วย (N=3, R=1 ในที่นี้หมายถึง ความถี่ 1 ครั้งใน 24 ชั่วโมง) แต่ถ้า Performance ของการตรวจ HDL-cholesterol มีระดับ Sigma metric **น้อยกว่า 4.0** ควรเพิ่มความถี่ในการทำ IQC เป็นวันละ 2 ครั้ง (N=3, R=2 ในที่นี้หมายถึง ทำตอนเช้า 1 ครั้ง และตอนบ่าย 1 ครั้ง)



- 11.3 ก่อนใช้งานสารควบคุมคุณภาพต้องตรวจสอบสภาพของสารควบคุมคุณภาพที่เปิดใช้งานอย่างน้อย 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ตรวจสอบในวันแรกที่เปิดใช้งาน ครั้งที่ 2 ตรวจสอบช่วงระหว่างที่เก็บรักษา(วันที่

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 6 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

3-4 หลังวันเปิดใช้งาน) ครั้งที่ 3 ตรวจสอบในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่ใช้งานหมด พร้อมลงบันทึกผลการตรวจสอบในแบบบันทึกตรวจสอบสภาพของวัสดุควบคุมคุณภาพ(FM-LAB-311)

11.4 ใช้ค่า Allowable total error(TEa) ของการทดสอบ HDL-cholesterol = $\pm 20\%$ (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

11.5 ติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CV_{bd}) และ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 6.67%

11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ HDL-cholesterol 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

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 เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา			
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol			
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007		หน้า 7 จาก 13 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 0		วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562	

13. สิ่งรบกวน (interferences)

ลักษณะ ตัวอย่าง	สารรบกวน		Bias ที่ค่า HDL-Cholesterol ระดับต่างๆ	
	ชื่อสารรบกวน	ระดับที่ทดสอบ	37 mg/dL	43 mg/dL
Hemolysis	Hemoglobin(Hb)	1000 mg/dL	<10%	-
Icterus	Unconjugated bilirubin	80 mg/dL	-	<10%
	Conjugated bilirubin	60 mg/dL	-	<10%
Lipemia	Intralipid®	1000 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
mg/dL	0.0259	mmol/L

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

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


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

$$Y = mx + b$$

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

delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 8 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

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

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

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ HDL Cholesterol เท่ากับ 3 - 150 mg/dL

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

ถ้าผลการทดสอบ HDL-Cholesterol >150 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 = 2 μ L เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการคำนวณค่าผลการทดสอบออกมาให้หลังจากการตรวจวิเคราะห์ HDL-Cholesterol สิ้นสุดแล้ว

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

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผลโดยพิจารณาเฉพาะระดับ HDL-Cholesterol


Expected Values

The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) provides the following classifications of HDL-C concentrations:

HDL < 40 mg/dL [1.04 mmol/L] Low HDL Cholesterol

HDL \geq 60 mg/dL [1.55 mmol/L] High HDL Cholesterol

Each laboratory should establish its own expected values for AHDH as performed on the Dimension® system.

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 9 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

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 น้ำยา (Reagent)


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

20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวดัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิวดัด (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 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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 10 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

- 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 AHDL-cholesterol Flex[®] reagent cartridge (PI-LAB-007)
- 21.2 SOP For EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 21.3 ใบแทรกสารสอบเทียบ AHDL Calibrator (PI-LAB-118)
- 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

- 22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกน้ำยา Automated HDL-cholesterol Flex[®] reagent cartridge (PI-LAB-007)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 11 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

SIEMENS

REF DF48B

PI-LAB-007/00(01/10/2560)

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

AHDL

Issue Date 2009-07-22

Automated HDL Cholesterol

Intended Use: The AHDL method is an *in vitro* diagnostic test for the quantitative measurement of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in human serum and plasma on the Dimension® clinical chemistry system. Measurements of HDL-C are used as an aid in the diagnosis of lipid disorders (such as diabetes mellitus), various liver and renal diseases and in the assessment of risk for atherosclerosis and cardiovascular disease.

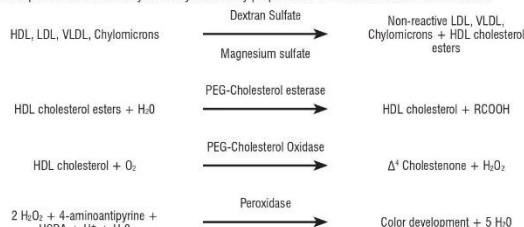
Summary: Plasma lipoproteins are spherical particles of varying composition. The outer surface of these particles is made up of phospholipids, free cholesterol and protein; the inner core contains mostly esterified cholesterol and triglyceride. Lipoproteins function to solubilize and transport cholesterol and triglycerides in the blood stream.

Four types of lipoproteins are recognized clinically based on the relative proportions of their lipid and protein content: chylomicrons, very low-density lipoproteins (VLDL), low-density lipoproteins (LDL) and high-density lipoproteins (HDL). The primary function of HDL is to transport cholesterol from peripheral tissues to the liver where it is metabolized.¹ This process, known as reverse cholesterol transport, has been proposed to be a cardiovascular protective mechanism. Patients with low levels of HDL cholesterol are generally considered to be at increased risk for coronary artery disease.²⁻⁴

The determination of serum HDL cholesterol level is a useful tool in identifying at-risk patients. The Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program (NCEP) recommends that all adults 20 years of age and over should have their total and HDL cholesterol levels measured at least every 5 years to screen for risk of coronary artery disease.⁵

The reference method for measuring HDL cholesterol utilizes ultracentrifugation and chemical precipitation to separate HDL from the other lipoproteins, followed by a determination of the cholesterol content using the Abell-Kendall method. Since this procedure is tedious and requires an ultracentrifuge, most laboratories now use methods which selectively measure HDL-C by chemical means.

Principles of Procedure: The AHDL assay measures HDL cholesterol levels directly without the need for sample pretreatment or specialized centrifugation steps, using a two reagent format. In the first reaction, chylomicrons, VLDL and LDL form water soluble complexes with dextran sulfate in the presence of magnesium sulfate. These complexes are resistant to the polyethylene glycol (PEG)-modified cholesterol esterase and cholesterol oxidase that react with HDL cholesterol. In the presence of oxygen, the HDL cholesterol is oxidized to Δ^4 -cholestenone and hydrogen peroxide. The generated hydrogen peroxide then reacts with 4-aminoantipyrine and sodium N-(2-hydroxy-3-sulfoethyl)-3,5-dimethoxyaniline (HSDA) in the presence of peroxidase to form a colored dye that is measured using a bichromatic (600/700 nm) endpoint technique. The color intensity of the dye is directly proportional to the serum HDL-C concentration.



Reagents				
Wells ^a	Form	Ingredient	Concentration ^b	Source
1, 2, 3 (Reagent 1)	Liquid	HEPES Buffer	10.07 mmol/L, pH 7.4	
		2-(N-cyclohexylamino)-ethanesulfonic acid	96.95 mmol/L	
		Dextran Sulfate	1.5 g/L	
		Magnesium Nitrate Hexahydrate	≥ 11.7 mmol/L	
		N-(2-hydroxy-3-sulfoethyl)-3,5-dimethoxyaniline	0.96 mmol/L	
		Ascorbate Oxidase	≥ 50 µkat/L	bacterial
		Peroxidase	≥ 16.7 µkat/L	horseradish
		Preservative		
		HEPES Buffer	10.07 mmol/L, pH 7.0	
		PEG-Cholesterol Esterase	≥ 3.33 µkat/L	bacterial
4 (Reagent 2)	Liquid	PEG-Cholesterol Oxidase	≥ 127 µkat/L	bacterial
		Peroxidase	≥ 333 µkat/L	horseradish
		4-Aminoantipyrine	2.46 mmol/L	
		Preservative		
5, 6	Liquid	NaOH ^c	1.00 M	

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

b. Nominal value per well in a cartridge.

c. Sodium hydroxide is used as a probe cleaning solution and is not used in the reaction.

Risk and Safety



Corrosive. Contains Sodium Hydroxide.
R34: Causes burns.
S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

S36/37/39: Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection.
S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately. (Show the label where possible.)

Safety data sheets (MSDS/SDS) available on www.siemens.com/diagnostics

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 or ingestion.

For *in vitro* diagnostic use

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

Store at: 2 – 8 °C

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: 3 days for wells 1 – 3
10 days for well 4
15 days for wells 5 – 6

Specimen Collection and Handling

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

Serum and plasma should be collected after a 12-hour period of fasting using recommended procedures for collection of diagnostic blood specimens by venipuncture.^{6,7} 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.⁸ Specimens should be free of particulate matter.

Serum or plasma samples may be refrigerated at 2 – 8 °C for up to 7 days if not tested within 8 hours. For longer storage, samples may be frozen at -70 °C for up to three months. Samples may be frozen once. When using samples stored at 2 – 8 °C or -70 °C, increases or decreases of up to 10% may be observed in HDL-C concentrations.

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.⁹

Procedure

Materials Provided

AHDL Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF48B

Materials Required But Not Provided

AHDL Calibrator, Cat. No. DC48B
Quality Control Materials

Test Steps

Sampling⁹, 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.

d. 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	3 µL
Reagent 1 Volume	300 µL
Reagent 2 Volume	100 µL
Temperature	37.0 °C ± 0.1 °C
Reaction time	8.6 minutes
Wavelength	600 and 700 nm
Type of Measurement	Bichromatic end point

Calibration

The general calibration procedure is described in your Dimension® Operator's Guide. The following information should be considered when calibrating the AHDL method:

Measurement Range	3 – 150 mg/dL [0.08 – 3.89 mmol/L] ^e
Calibration Material	AHDL Calibrator, Cat. No. DC48B
Calibration Scheme	3 levels, n = 3
Units	mg/dL [mmol/L] (mg/dL x 0.0259) = [mmol/L]

Typical Calibration Levels
0, 40, 165 mg/dL
[0.00, 1.04, 4.27 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 0.000
	C ₁ 1.700

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีระรา		
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol		
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 12 จาก 13 หน้า	
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562	

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 HDL-C concentrations. The National Cholesterol Education Program (NCEP) Lipid Standardization Panel (LSP) recommends two levels of controls: one in the normal range (40 – 60 mg/dL [1.04 – 1.55 mmol/L]) and one near the concentrations for decision-making (<40 mg/dL [<1.04 mmol/L]).¹ Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

Results: The instrument automatically calculates and prints the concentration of AHDL in mg/dL [mmol/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: 3 – 150 mg/dL [0.08 – 3.89 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 150 mg/dL [3.89 mmol/L] are reported as "Above Assay Range" and should be repeated on dilution.

Manual Dilution: Dilute with Reagent Grade water to obtain results within reportable range. Recommended dilution is 1:2. Enter dilution factor on the instrument. Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.

Autodilution (AD): The recommended autodilute sample volume is 2 µL. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

- Samples with results less than 3 mg/dL [0.08 mmol/L] should be reported as "less than 3 mg/dL [0.08 mmol/L]".

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 AHDL 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 and not reported.

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

AHDL Concentration		SD
45 mg/dL [1.17 mmol/L]		>1.4 mg/dL [0.04 mmol/L]
60 mg/dL [1.55 mmol/L]		>2.0 mg/dL [0.05 mmol/L]

Interfering Substances

Abnormal liver function may affect lipid metabolism; therefore, HDL cholesterol and LDL cholesterol results are of limited diagnostic value. In some patients with abnormal liver function, the HDL-C result may significantly differ from the designated comparison method (DCM) result.¹

In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenstrom's macroglobulinemia), may cause unreliable results.^{10,11}

Expected Values

The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) provides the following classifications of HDL-C concentrations:

HDL < 40 mg/dL [1.04 mmol/L] Low HDL Cholesterol
HDL ≥ 60 mg/dL [1.55 mmol/L] High HDL Cholesterol

Each laboratory should establish its own expected values for AHDL as performed on the Dimension® system.

Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the Dimension® System.

Material	Precision ^{12,f}		
	Mean mg/dL [mmol/L]	Standard Deviation (% CV)	
		Repeatability	Within-Lab
Bio-Rad Liquid Unassayed Multiquel®			
Level 1	25 [0.65]	0.6 [0.02] (2.3)	0.6 [0.02] (2.4)
Level 2	44 [1.14]	0.6 [0.02] (1.4)	0.7 [0.02] (1.7)
Level 3	58 [1.50]	1.2 [0.03] (2.2)	1.3 [0.03] (2.2)
Serum Pool	48 [1.24]	0.9 [0.02] (1.9)	1.0 [0.03] (2.1)
Serum Pool	92 [2.38]	1.3 [0.03] (1.4)	1.7 [0.04] (1.8)

f. CLSI 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® is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA 92618.

Method Comparison¹³ Regression Statistics^h

Comparative Method	Slope	Intercept mg/dL [mmol/L]	Correlation Coefficient	n
Dimension® AHDL method DF48A	1.04	-3.9 [-0.10]	1.00	130 ^g

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

h. The range of AHDL values in the correlation study was 4 – 131 mg/dL [0.10 – 3.39 mmol/L].

Specificity

HIL Interference

The AHDL method was evaluated for interference according to CLSI EP7-A2.¹⁴

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	HDL Cholesterol mg/dL [mmol/L]	Bias* %
Hemoglobin (hemolysate)	Hemoglobin (monomer) 1000 mg/dL [0.62 mmol/L]	37 [0.96]	< 10
Bilirubin (unconjugated)	80 mg/dL [1368 µmol/L]	43 [1.11]	< 10
Bilirubin (conjugated)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	43 [1.11]	< 10
Lipemia (Intralipid®)	1000 mg/dL [11.3 mmol/L]	37 [0.96]	< 10


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

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

Non Interfering Substances

The following substances do not interfere with the AHDL method when present in serum and plasma at the concentrations indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances are less than 10% at HDL-C concentrations of 40 mg/dL [1.04 mmol/L].

Substance	Test Concentration	SI Units
Acetaminophen	20 mg/dL	1324 µmol/L
Albumin	6000 mg/dL	60 g/L
Amikacin	8.0 mg/dL	137 µmol/L
Ampicillin	5 mg/dL	143 µmol/L
Ascorbic Acid	6.0 mg/dL	342 µmol/L
Atorvastatin	3.6 µg/mL	2.98 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
Cimetidine	2 mg/dL	79.2 µmol/L
Clofibrate	400 µg/mL	1.65 mmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2652 µmol/L
Dextran 40	6000 mg/dL	1500 µmol/L
Diazepam	0.51 mg/dL	17.9 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
Fenofibrate	46 µg/mL	127.4 µmol/L
Furosemide	6 mg/dL	181 µmol/L
Gemfibrozil	124 µg/mL	495.3 µmol/L
Gentamicin	1 mg/dL	21 µmol/L
Heparin	3 U/mL	3000 U/L
Ibuprofen	50 mg/dL	2425 µmol/L
Immunoglobulin G (IgG)	6 g/dL	60 g/L
Lidocaine	1.2 mg/dL	51.2 µmol/L
Lithium	2.2 mg/dL	3.2 mmol/L
Lovastatin	2 µg/mL	4.94 µmol/L
Niacin	31 µg/mL	251.8 µmol/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
Pravastatin	10.3 µg/mL	23.07 µmol/L
Primidone	4 mg/dL	183 µmol/L
Propoxyphene	0.16 mg/dL	4.91 µmol/L
Protein: Albumin	6 g/dL	60 g/L
Protein: Total	12 g/dL	120 g/L
Rheumatoid Factor	775 IU/mL	775 IU/mL
Salicylic Acid	60 mg/dL	4.34 mmol/L
Simvastatin	6.9 µg/mL	16.48 µmol/L
Theophylline	4 mg/dL	222 µmol/L
Triglycerides	1150 mg/dL	13.0 mmol/L
Urea	500 mg/dL	83.3 mmol/L
Uric Acid	20 mg/dL	1190 µmol/L
Valproic Acid	50 mg/dL	3467 µmol/L

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ HDL-Cholesterol	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-007	หน้า 13 จาก 13 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

Cross-reactivity

Low-density lipoprotein cholesterol was evaluated for cross-reactivity in the presence of 40 mg/dL [1.04 mmol/L] HDL-C. The percent cross-reactivity was calculated as follows:

$$\% \text{ crossreactivity} = \frac{\text{measured HDL-C} - \text{control HDL-C}}{\text{LDL-C}} \times 100\%$$

LDL-C Concentration	% Crossreactivity
282 mg/dL	0.3

Limit of Detection¹: 3 mg/dL [0.08 mmol/L]

The limit of detection represents the lowest concentration of high density lipoprotein cholesterol that can be detected with at least 95% probability. CLSI/NCCLS EP17-A, Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation, was followed using 60 replicate determinations at two concentration levels to determine Limit of Blank and Limit of Detection.

Certification

This method has been evaluated by and met the certification acceptance criteria of the Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRM/LN).¹

Symbols Key: See adjacent panel.

Bibliography: See adjacent panel.

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

©2009 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

All rights reserved.

FM-LAB-008/00(01/10/2560)

