แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ LDL-CHOLESTEROL

WI-LAB-008

แก้ไขครั้งที่ 0

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 LDL-Cholesterol 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 ใช้ Homogeneous method ทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System ร่วมกับน้ำยา ALDL Flex® reagent cartridge และสารสอบเทียบ ALDL Calibrator ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์บริษัทเดียวกัน

2.2 อาศัยหลักการตรวจวัดระดับ LDL-Cholesterol โดยตรง(direct measurement) ในตัวอย่าง serum หรือ plasma โดย LDL- cholesterol ในตัวอย่างตรวจจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาตามสมการเคมี ดังนี้

$$\text{Nonsoluble LDL-C, VLDL-C, HDL-C, Chylomicrons} \xrightarrow[\text{DSBmT + Peroxidase}]{\text{Detergent 1}} \text{Soluble Non-LDL-C (VLDL-C, HDL-C, Chylomicrons)}$$

$$\text{Soluble Non-LDL-C} \xrightarrow[\text{Cholesterol oxidase}]{\text{Cholesterol esterase}} \text{Non-color forming}$$

$$\text{Non-Soluble LDL-C} \xrightarrow{\text{Detergent 2}} \text{Soluble LDL -C}$$

$$\text{Soluble LDL-C} + O_2 \xrightarrow[\text{Cholesterol oxidase}]{\text{Cholesterol esterase}} \text{Cholestenone} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{DSBmT} + \text{4-AA} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Color Development}$$

ปริมาณของสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณ LDL-Cholesterol ในตัวอย่างตรวจ ซึ่งจะถูกวัดโดย Bichromatic endpoint technique. ที่ความยาวคลื่น 540 และ 700 nm.

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

มีระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา ALDL Flex® reagent cartridge (PI-LAB-008)

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 LDL-Cholesterol โดยไม่ตรวจ Triglycerides ไม่จำเป็นต้องอดอาหารก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด แต่ถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ LDL-Cholesterol แต่ความขุ่นของไขมัน(chylomicrons) ในอาหารมีผลกระทบต่อวิธีที่ใช้วิเคราะห์รายการทดสอบอื่นๆ ที่ใช้ตัวอย่างตรวจร่วมกันกับ LDL-Cholesterol การอดอาหาร 8-16 ชั่วโมง จะทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้องน่าเชื่อถือกว่า

5.3 ท่าของผู้ป่วยมีผลกับ LDL-Cholesterol โดยค่าจะลดลง 10-15% หลังนอนลง 20 นาทีและค่าจะลดลง 6% หลังจากเปลี่ยนท่ายืนเป็นนั่ง ดังนั้นควรอยู่ในท่านั่งขณะตรวจเลือด หรือหากตรวจในท่านอนควรตรวจด้วยท่าเดิมในแต่ละครั้ง เพื่อป้องกันผลแปรปรวนจากการเปลี่ยนแปลงท่า

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา LDL-Cholesterol ได้แก่

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

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ LDL-Cholesterol แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.3 เท่านั้น **แต่ผลการตรวจ LDL-Cholesterol ใน EDTA plasma ต้องคูณผลที่ตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย 1.03 เพื่อให้เทียบเคียงกับที่ตรวจได้จาก serum**

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

6.2 **ความคงตัวของระดับ** LDL-Cholesterol **ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง**

ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์	ตัวอย่างตรวจ	ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจ	ความคงตัวของ LDL-Cholesterol		
			อุณหภูมิห้อง(RT)	2-8 °C	<-20 °C
ก. ตัวอย่างตรวจเริ่มต้น	Plasma เริ่มต้น	Li-Heparin Blood Collection tube	3 ชั่วโมง	ไม่แนะนำ	ไม่ควรทำ
		EDTA Blood Collection tube	3 ชั่วโมง	ไม่แนะนำ	ไม่ควรทำ
	Serum เริ่มต้น	Gel & clot activator tube	24 ชั่วโมง	ไม่เกิน 3 วัน	ไม่แนะนำ
		Clot activator tube	3 ชั่วโมง	ไม่แนะนำ	ไม่ควรทำ
ข. ตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากตัวอย่างตรวจเริ่มต้น(ซึ่งแยกออกจากส่วนที่เป็นตะกอนเม็ดเลือดภายใน 3 ชั่วโมง)	Heparinized Plasma	Sample cup(SC), Small sample cup(SSC), Plastic Plain tube 13x75 mm.(PPT)	24 ชั่วโมง	ไม่เกิน 3 วัน	คงตัวหลายสัปดาห์ แต่การแช่แข็งทำให้ได้ค่าต่ำกว่าค่าจริง
	EDTA Plasma	SC, SSC, PPT	24 ชั่วโมง	ไม่เกิน 3 วัน	
	Serum	SC, SSC, PPT	24 ชั่วโมง	ไม่เกิน 3 วัน	

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ : Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System

7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ALDL Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF131

7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ LDL-Cholesterol : ALDL Calibrator, Cat.No. DC131

7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น LDL-Cholesterol 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed and Unassayed Multiqual®

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 น้ำยามีส่วนผสมของสารถนอมรักษาส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

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

9.1 ใช้สารสอบเทียบ ALDL Calibrator, Cat. No. DC131 ซึ่งมีระดับค่า LDL-Cholesterol สอบกลับ (Traceability) ถึง NCEP bata-quantification method for LDL-C (ultracentrifugation, precipitation with heparin-manganese reagent and quantification with the Abell-kendall reference method for cholesterol)

9.2 บันทึกข้อมูลของสารสอบเทียบแต่ละรุ่นที่ผลิต(lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารสอบเทียบ ALDL Calibrator (PI-LAB-114)

9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารสอบเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารสอบเทียบ ALDL Calibrator (PI-LAB-114)

9.4 ทำการสอบเทียบ(calibration) ทุก 60 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 ALDL Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา

10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา ALDL 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 โดยน้ำยาทุกหลุมตั้งแต่หลุมที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลุมที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 5 วัน

10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา ALDL Flex® reagent cartridge (PI-LAB-008)

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)

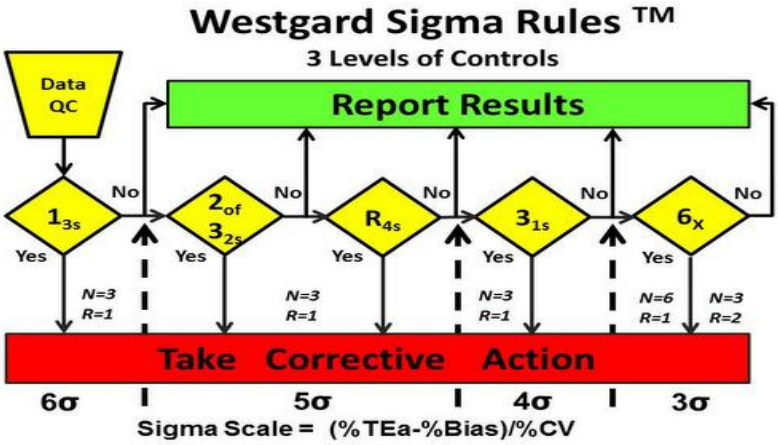
10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลงที่ sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ

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 LDL-cholesterol 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 LDL-cholesterol = **±20%** (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

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

11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ LDL-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 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 LDL-Cholesterol ระดับต่างๆ			
	ชื่อสารรบกวน	ระดับที่ทดสอบ	122 mg/dL	123 mg/dL	124 mg/dL	110 mg/dL
Hemolysis	Hemoglobin(Hb)	1000 mg/dL	-	<10%	-	-
Icterus	Unconjugated bilirubin	60 mg/dL	-	<10%	-	-
Lipemia	Intralipid®	1000 mg/dL	<10%	-	-	-
อื่นๆ	Triglyceride (endogenous)	1000 mg/dL	-	-	-	<10%
	Ascorbic acid	5 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	0.0259	mmol/L

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

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

Linear method

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

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

delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)

14.4 **ผลการตรวจ LDL-Cholesterol ใน EDTA plasma ต้องคูณผลที่ตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย 1.03 เพื่อให้เทียบเคียงกับที่ตรวจได้จาก serum**

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

15.1 เป้าหมายการควบคุม LDL Cholesterol สำหรับผู้ที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงของเบาหวาน ความดัน และโรคหลอดเลือดหัวใจ <130 mg/dL

15.2 เป้าหมายการควบคุมเบาหวานและปัจจัยเสี่ยงสำหรับผู้ใหญ่

15.2.1 ระดับ LDL Cholesterol เป้าหมาย <100 mg/dL

15.2.2 ถ้ามีโรคหลอดเลือดหัวใจหรือปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจหลายอย่างร่วมด้วยควรควบคุมให้ LDL Cholesterol <70 mg/dL

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ LDL Cholesterol เท่ากับ 5 - 300 mg/dL

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

ถ้าผลการทดสอบ LDL-Cholesterol >300 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 µL เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการคำนวณค่าผลการทดสอบออกมาให้หลังจากการตรวจวิเคราะห์ LDL-Cholesterol สิ้นสุดแล้ว

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

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผลโดยพิจารณาเฉพาะระดับ LDL-Cholesterol

Expected Values: The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP- ATP III) 3 provides the following classifications of LDL-C concentrations:

	LDL -C	
Category	**mg/dL**	**[mmol/L]**
Optimal	<100	<2.6
Near optimal/above optimal	100-129	2.6-3.3
Borderline High	130-159	3.4-4.1
High	160-189	4.1-4.9
Very High	≥190	≥4.9

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

19.2 **การแปลผลโดยพิจาณาอัตราส่วนระหว่าง 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 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 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
- 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 LDL-cholesterol Flex® reagent cartridge (PI-LAB-008)

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

21.3 ใบแทรกสารสอบเทียบ ALDL Calibrator (PI-LAB-114)

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 LDL-cholesterol Flex® reagent cartridge (PI-LAB-008)

SIEMENS

REF DF131

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

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge — ALDL

See shaded sections: Updated information from 2006-08 version.

Issue Date 2008-02-13

Automated LDL Cholesterol

Intended Use: The ALDL method for the Dimension® clinical chemistry system is an *in vitro* diagnostic test intended for the quantitative determination of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in human serum and plasma. LDL-C measurements are used in the diagnosis and treatment of lipid disorders such as diabetes mellitus, atherosclerosis, and various liver and renal diseases.

Summary: Plasma lipoproteins are spherical particles containing varying amounts of cholesterol, triglycerides, phospholipids and proteins. The phospholipid, free cholesterol and protein constitute the outer surface of the lipoprotein particle, while the inner core contains mostly esterified cholesterol and triglycerides. These particles serve to solubilize and transport cholesterol and triglycerides in the bloodstream.

The relative proportions of protein and lipid determine the density of these lipoproteins and provide a basis on which to begin their classification.[1] These classes are: chylomicrons, very-low-density lipoprotein (VLDL), low-density lipoprotein (LDL), intermediate density lipoprotein (IDL), high-density lipoprotein (HDL) and lipoprotein (a) (Lp(a)). LDL is the main cholesterol-containing particle in plasma. When present in excessive amounts, LDL-C can be deposited in the arterial wall resulting in atherosclerosis.[2]

Clinical studies have shown that the different lipoprotein classes have very distinct and varied effects on coronary artery disease (CAD) risk. Additionally, numerous studies all point to LDL cholesterol as a key factor in the development of atherosclerosis and CAD. For this reason, the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III- ATP III) identified elevated LDL-C as the primary target of cholesterol-lowering therapy. As a result, the cutpoints for initiating treatment are stated in terms of LDL-C concentration.[3]

Methods for LDL-C measurement assume that total cholesterol is composed primarily of cholesterol in VLDL, IDL, LDL, HDL and $Lp_{(a)}$. LDL-C can be measured using both indirect and direct methods. The Friedewald equation developed in 1972 is the most frequently used indirect method for estimating LDL-C concentration. Using this equation, LDL-C concentration is calculated as follows:

[LDL -C] = [Total Chol] – [HDL Chol] – [Triglyceride]/5

All concentrations are in mg/dL. The factor [Triglyceride]/5 is an estimate of VLDL cholesterol concentration and is based on the average ratio of triglyceride to cholesterol in VLDL. In practice, the Freidewald calculation works reasonably well. However, it should not be used with samples that have triglyceride concentrations above 400 mg/dL, when chylomicrons are present (i.e., non-fasting specimens) or in patients with dysbetalipoproteinemia (Type III hyperlipoproteineimia).[4] At high triglyceride concentrations, LDL-C concentrations are underestimated.

Until recently the only means of consistently measuring LDL-C concentrations accurately was to perform beta-quantification; an expensive, time consuming and labor intensive approach that most clinical laboratories are unable to perform. The Automated Low Density Lipoprotein (ALDL) method is a direct assay not dependent on the Freidewald calculation and is referenced to the beta-quantification determination of LDL-C concentration.

Principles of Procedure:

The ALDL Cholesterol assay is a homogeneous method for directly measuring LDL-C levels in human serum or plasma, without the need for any off-line pretreatment or centrifugation steps.

The method is in a two reagent format and depends on the properties of detergent 1 which solubilizes only non- LDL particles. cholesterol released is consumed by cholesterol esterase and cholesterol oxidase in a non-color forming reaction. Detergent 2 solubilizes the remaining LDL particles. The soluble LDL-C is then oxidized by the action of cholesterol esterase and cholesterol oxidase forming cholestenone and hydrogen peroxide (H_2O_2). The enzymatic action of peroxidase on H_2O_2 produces color in the presence of N,N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidine, disodium salt (DSBmT) and 4-aminoantipyrine (4-AA) that is measured using a bichromatic (540, 700 nm) endpoint technique. The color produced is directly proportional to the amount of LDL-C present in the sample.

Nonsoluble LDL-C, VLDL-C, HDL-C, Chylomicrons —(Detergent 1; DSBmT + Peroxidase)→ Soluble Non-LDL-C (VLDL-C, HDL-C, Chylomicrons)

Soluble Non-LDL-C —(Cholesterol esterase; Cholesterol oxidase)→ Non-color forming

Non-Soluble LDL-C —(Detergent 2)→ Soluble LDL -C

Soluble LDL-C + O_2 —(Cholesterol esterase; Cholesterol oxidase)→ Cholestenone + H_2O_2

H_2O_2 + DSBmT + 4-AA —(Peroxidase)→ Color Development

Reagents

Wells[a]	Form	Ingredient	Concentration	Source
1, 2, 3 (Reagent 1)	Liquid	MES Buffer,	pH 6.3	
		Detergent 1		
		Cholesterol Esterase		Cellulomonas sp.
		Cholesterol Oxidase		Pseudomonas sp.
		Peroxidase		Horseradish
		4-aminoantipyrine (4-AA)		
		Ascorbic acid oxidase		Curcubita sp.
		Preservative		
4, 5, 6 (Reagent 2)	Liquid	MES Buffer	pH 6.3	
		Detergent 2		
		DSBmT[b]		
		Preservative		

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.
b. N,N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidine, disodium salt

Risk and Safety:

Xi — Irritant. Contains mixture of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol -3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1).
R43: May cause sensitisation by skin contact.
S24: Avoid contact with skin.
S37: Wear suitable gloves.

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

Precautions: Used cuvettes contain human body fluids; Handle with appropriate care to avoid skin contact and 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 cartridge wells on the instrument are stable for 30 days.

Open Well Stability: 5 days for wells 1 – 6

Specimen Collection and Handling: Blood should be collected after a 12-hour fast by normal procedures.

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.[5]

Complete clot formation should take place before centrifugation.[6,7]

Serum, EDTA-treated or heparinized (lithium or sodium heparin) plasma are the recommended specimens. Serum or plasma samples should be removed from cells within 3 hours of venipuncture. Serum or plasma may be refrigerated at 2 – 8 °C for up to 3 days if not tested within 24 hours. For longer storage samples may be frozen at -20 °C for several weeks or at -70 °C or lower for longer periods.[6]

EDTA plasma results should be multiplied by 1.03 to provide serum-equivalent results.[8]

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

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

ALDL Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF131

Materials Required But Not Provided

ALDL Calibrator, Cat. No. DC131
Quality Control Materials

Test Steps

Sampling[c], 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.

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

Test Conditions

Sample Size	3 µL
Reagent 1 Volume	300 µL
Reagent 2 Volume	100 µL
Temperature	37 °C
Wavelength	540 and 700 nm
Type of Measurement	Bichromatic Endpoint

Calibration

Assay range	5 – 300 mg/dL [0.13 – 7.8 mmol/L][d]
Calibration Material	ALDL Calibrator, Cat. No. DC131
Calibration Scheme	3 Levels, n = 3
Units	mg/dL [mmol/L] (mg/dL x 0.0259) = [mmol/L]
Typical Calibration Levels	0, 130, 315 mg/dL [0, 3.4, 8.1 mmol/L]
Calibration Frequency	Every 60 days for any one lot
A new calibration is required	• For each 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 1.44 C_1 0.98

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

Quality Control

At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known low-density lipoprotein concentrations. The National Cholesterol Education Program recommends controls that span the medical decision points and are traceable to the National Reference System (NRS/CHOL) reference materials and methods.[8]

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

Results: The instrument automatically calculates and prints the concentration of LDL-C 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): 5 – 300 mg/dL [0.13 – 7.8 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 300 mg/dL [7.8 mmol/L] should be repeated on dilution.

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

Autodilution (AD): Enter the dilution factor. Reassay. Resulting readout is corrected for dilution. If using the auto-dilution feature, results above 300 mg/dL [7.8 mmol/L] will automatically be repeated. The autodilution volume is 2 µL.

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 ALDL 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 5 test precision is observed:

Concentration	SD
130 mg/dL [3.4 mmol/L]	>2.0 mg/dL [0.05 mmol/L]
315 mg/dL [8.1 mmol/L]	>5.0 mg/dL [0.13 mmol/L]

Interfering Substances

Bilirubin (unconjugated) of 80 mg/dL [1368 µmol/L][e] will decrease an ALDL result of 124 mg/dL [3.2 mmol/L] by 10%.

Lipemia (Intralipid®) of 3000 mg/dL [33.9 mmol/L] will decrease an ALDL result of 122 mg/dL [3.2 mmol/L] by 19%.

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

Expected Values: The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP- ATP III) 3 provides the following classifications of LDL-C concentrations:

	LDL -C	
Category	mg/dL	[mmol/L]
Optimal	<100	<2.6
Near optimal/above optimal	100-129	2.6-3.3
Borderline High	130-159	3.4-4.1
High	160-189	4.1-4.9
Very High	≥190	≥4.9

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

Specific Performance Characteristics[e]

Precision[f,g]

Material	Mean mg/dL [mmol/L]	Standard Deviation (% CV) Within-run	Total
HDL Plus® QC			
Level 1	170 [4.4]	1.60 [0.04] (0.94)	4.34 [0.11] (2.55)
Level 2	120 [3.1]	0.87 [0.02] (0.72)	3.38 [0.09] (2.83)
Level 3	53 [1.4]	0.55 [0.01] (1.03)	1.04 [0.03] (1.95)
Serum Pool 1	106 [2.7]	1.42 [0.04] (1.34)	2.72 [0.07] (2.57)
Serum Pool 2	163 [4.2]	2.66 [0.07] (1.63)	3.62 [0.09] (2.22)

e. All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed on Dimension® (Refer to your Dimension® Operator's Guide).
f. Reproducibility testing was done in accordance with the CLSI/NCCLS Approved Guideline for Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices (EP5-A, Feb. 1999).
g. 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.

HDL Plus® is a registered trademark of Quantimetrix Corporation, Redondo Beach, CA.

Method Comparison

Regression Statistics[h]

Comparative Method	Slope	Intercept mg/dL [mmol/L]	Correlation Coefficient	n[i]
N-geneous™ LDL Cholesterol Reagent[j]	0.95	4.7 [0.12]	0.997	122
Beta-Quantification[k]	1.01	3.3 [0.08]	0.982	49

h. Model equation for regression statistics is: Result of Dimension® analyzer = [Slope x Comparative method result] + Intercept.
i. The range of LDL-C values in the correlation study was 35 to 273 mg/dL [0.90 to 7.06 mmol/L] for the N-geneous™ Cholesterol Reagent[j] and 70 to 246 mg/dL [1.81 to 6.36 mmol/L] for Beta-Quantification. Correlation study was performed using serum samples.
j. N-geneous™ LDL Cholesterol Reagent[j] is manufactured by Genzyme Corporation, Cambridge, MA 02139-1562. Testing was performed on the Beckman CX9 chemistry analyzer manufactured by Beckman Coulter Inc., Brea, CA 92821.
k. Beta-Quantification Reference Method for LDL-C is a three-step procedure[5] involving ultracentrifugation, precipitation with heparin-manganese reagent and quantification with the Abell-Kendall reference method for cholesterol. This study was performed by the Core Laboratory for Clinical Studies at Washington University, St. Louis, Missouri, 63110.

This method has been certified using the Low Density Lipoprotein (LDL) Cholesterol Method Evaluation Protocol by the Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) at Northwest Lipid Research Laboratories, University of Washington, Seattle, Washington, 98103.

Specificity

HIL Interference

The ALDL method was evaluated for interference from hemolysis, icterus and lipemia 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]	LDL Cholesterol Conc. [SI Units]	Bias (%)[l]
Hemoglobin (hemolysate)	1000 mg/dL [0.62 mmol/L] (monomer)	123 mg/dL [3.19 mmol/L]	<10
Bilirubin (unconjugated)	60 mg/dL [1026 µmol/L]	124 mg/dL [3.21 mmol/L]	<10
Lipemia (Intralipid®)	1000 mg/dL [11.3 mmol/L]	122 mg/dL [3.16 mmol/L]	<10

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

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

Non-Interfering Substances

Interference from the following substances at the concentrations indicated when added to a 110 mg/dL [2.8 mmol/L] LDL-C serum pool respectively, is less than 10%.

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	5 mg/dL	227 µmol/L
Atorvastatin	3.6 µg/dL	29.9 nmol/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
Clofibrate	40 mg/dL	1648.1 µmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2652 µmol/L
Dextran 40	6000 mg/dL	1500 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
Fenofibrate	4.6 mg/dL	127.4 µmol/L
Furosemide	2 mg/dL	61 µmol/L
Gemfibrozil	12.4 mg/dL	495.3 µmol/L
Gentamicin	12 mg/dL	251 µmol/L
Heparin (sodium)	8 U/mL	8000 U/L
Ibuprofen	50 mg/dL	2425 µmol/L
IgG	5 g/dL	50 g/L
Lidocaine	6 mg/dL	256 µmol/L
Lithium	3.5 mg/dL	5.04 mmol/L
Lovastatin	2 µg/dL	48.9 nmol/L
Niacin	3.1 mg/dL	251.8 µmol/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
Pravastatin	10.3 µg/dL	231.6 nmol/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
Simvastatin	6.9 µg/dL	164.9 nmol/L
Theophylline	25 mg/dL	1388 µmol/L
Triglyceride (endogenous)	1000 mg/dL	11.3 mmol/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

Cross-Reactivity

Cross-reactivity of HDL-C was evaluated by adding known amounts of HDL-C to a human serum pool containing 103 mg/dL [2.7 mmol/L] of LDL-C. Percent cross-reactivity was calculated as follows:

$$\% \text{ cross reactivity} = \frac{[\text{measured LDL-C}] - [\text{control LDL-C}]}{\text{HDL-C}} \times 100$$

HDL-C Concentration	% Cross-reactivity
100 mg/dL [2.6 mmol/L]	2

Analytical Sensitivity

The sensitivity of the ALDL method is 5 mg/dL [0.13 mmol/L] and represents the lowest concentration of LDL-C that can be distinguished from zero. This sensitivity is defined as the concentration at two standard deviations above the mean (n=20) of Level 1 ALDL Calibrator (0 mg/dL) [0 mmol/L].

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

2008-02-13 B 717731.001 - US

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-008 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจหา **LDL-Cholesterol**

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