



แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจ ALT (Alanine aminotransferase)

WI-LAB-019

แก้ไขครั้งที่ 00

ผู้จัดทำ

ส.ป.น.พ.

(นายสิปปนนท์ ศรีวระมย์)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

อ.จ.จ.จ.

(อรทัยญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ

พ.อ.


✓

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

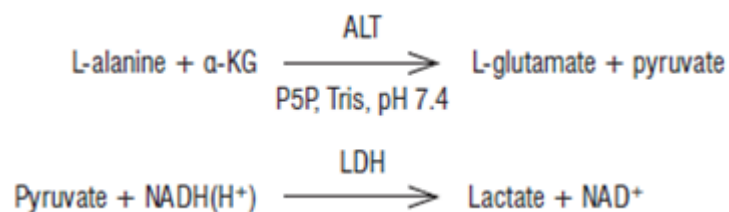
| | | |
|---|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สระรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 1 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณหาระดับ activityของเอนไซม์Alanine aminotransferase (ALT)ใน serum และplasma ด้วย Dimension® clinical chemistry system โดยมีวัตถุประสงค์ ดังนี้
- 1.2 เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคของตับและท่อน้ำดี(Hepatobiliary disease) เช่น hepatitis, necrosis, jaundice และ cirrhosisโดยระดับ ALTจะสูงขึ้นก่อนมีอาการตัวเหลือง
- 1.3 เพื่อตรวจติดตามและดูการตอบสนองต่อการรักษาโรคเกี่ยวกับตับและโรคที่เกี่ยวข้องอื่นๆ


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

- 2.1 ใช้ Adaptation of IFCC method(UV with P5P),ทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry Systemร่วมกับน้ำยา ALTI Flex® reagent cartridge และสารสอบเทียบ Enzyme II Calibrator ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์จากผู้ผลิตเดียวกัน
- 2.2 อาศัยหลักการ Adaptation of IFCC by Bergmeyer
เอนไซม์ Alanine Aminotransferase (ALT) จะเป็นตัว Catalyzed ปฏิกิริยา Transamination ของ L - Alanine กับ Ketoglutarate (α - KG) ไปเป็น L - Glutamate กับ Pyruvate Pyruvate ที่เกิดขึ้นจะ Reduce ไปเป็น Lactate โดย Enzyme Lactate Dehydrogenase (LDH) พร้อมกับการเกิดปฏิกิริยา Oxidation ของ Reduce NADH การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปนี้จะเป็นส่วนโดยตรงกับ Activity ของ ALT และจะถูกวัดโดยใช้ Bichromatic (340 , 700 nm) Rate technique ปฏิกิริยาเกิดขึ้นโดยมี Pyridoxal 5 - Phosphate (P5P) เป็น Activator และ ใช้ Tris Buffer (HYDROXYMETHYL) แทน Phosphate buffer ดังปฏิกิริยา



3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา ALTI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-019) ดังนี้

| | | |
|---|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณส์สระรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 2 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the Dimension® clinical chemistry system.

| Material | Precision ^{a,1} | | |
|--------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------|
| | Mean | Standard Deviation (% CV) | |
| | U/L [µkat/L] | Repeatability | Within-Lab |
| Standard Sample Volume (35 µL) | | | |
| Serum Pool | 43 [0.71] | 0.8 [0.01] (1.8) | 1.7 [0.03] (4.1) |
| Plasma Pool | 147 [2.45] | 1.8 [0.03] (1.2) | 3.5 [0.06] (2.4) |
| BioRad Multiquat® Control | | | |
| Level 1 | 22 [0.37] | 0.5 [0.01] (2.2) | 0.9 [0.02] (4.1) |
| Level 2 | 77 [1.26] | 0.6 [0.01] (0.8) | 2.0 [0.03] (2.6) |
| Level 3 | 169 [2.82] | 1.4 [0.02] (0.8) | 3.9 [0.7] (2.3) |
| MAS® chemTRAK® H Control | | | |
| Level 1 | 27 [0.45] | 0.7 [0.01] (2.4) | 0.7 [0.012] (2.6) |
| Level 2 | 106 [1.77] | 0.9 [0.01] (0.8) | 3.4 [0.06] (3.2) |
| Level 3 | 213 [3.56] | 1.4 [0.02] (0.7) | 2.9 [0.05] (1.4) |
| Reduced Sample Volume (20 µL) | | | |
| Plasma Pool | 43 [0.72] | 0.9 [0.02] (2.1) | 1.9 [0.03] (4.4) |
| Dade® TRU-Liquid® Moni-Trok® Control | | | |
| Level 1 | 34 [0.57] | 0.7 [0.01] (2.0) | 1.9 [0.03] (5.5) |
| Level 2 | 92 [1.54] | 1.0 [0.02] (1.1) | 4.7 [0.08] (5.1) |

g. CLS/NCCLS EP5-A2 was used. During each day of testing, two separate runs, with two test samples, for each test material, were analyzed for 20 days. Multiquat® is a registered trademark of BioRad Corp., Irvine, CA 92714, USA. MAS®, chemTRAK®, Dade®, TRU-Liquid®, and Moni-Trok® are registered trademarks of Medical Analysis Systems Inc., Camarillo, CA 93012-8058, USA.

| Comparative Method | Method Comparison ^a Regression Statistics ^a | | | n |
|--|--|---------------------------|----------------------------|------------------|
| | Slope | Intercept U/L [µkat/L] | Correlation Coefficient | |
| Siemens ADVIA® 1650 ALT | 1.02 | 2.58 [0.04] | 0.992 | 118 ⁱ |
| Dimension Vista® ALTI | 1.00 | 1.39 [0.02] | 0.9996 | 118 ⁱ |
| Reduced (20 µL) vs. standard (35 µL) sample size | 0.98 | 5.11 [0.09] | 0.9998 | 73 ^j |

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

i. The range of 118 values in the correlation study was 10 – 875 U/L [0.16 – 14.61 µkat/L].

j. The range of 73 values in the correlation study was 15 – 980 U/L [0.26 – 16.37 µkat/L].

Specificity


Hemolysis, Icterus, Lipemia (HIL) Interference

The ALT method (using the standard sample size of 35 µL or an alternate sample size of 20 µL) was evaluated for interference according to CLS/NCCLS EP7-A2.¹⁸ 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 | ALT Activity U/L [µkat/L] | Bias* % |
|--------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------|
| Hemoglobin (hemolysate) | 1000 mg/dL [0.62 mmol/L] | 49 [0.82] | <10 |
| | 1000 mg/dL [0.62 mmol/L] | 143 [2.39] | <10 |
| Bilirubin (unconjugated) | 40 mg/dL [684 µmol/L] | 68 [1.14] | <10 |
| | 80 mg/dL [1368 µmol/L] | 140 [2.40] | <10 |
| Bilirubin (conjugated) | 30 mg/dL [513 µmol/L] | 71 [1.19] | <10 |
| | 40 mg/dL [684 µmol/L] | 144 [2.40] | <10 |
| Lipemia (Intralipid®) | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 50 [0.84] | <10 |
| | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 144 [2.40] | <10 |
| | 600 mg/dL [6.78 mmol/L] | 50 [0.84] | — ^k |
| | 600 mg/dL [6.78 mmol/L] | 144 [2.40] | — ^k |

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

k. The interference testing at this level and above tripped a test report message; therefore the magnitude of the interference could not be determined.

| | | |
|--|--|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALTI) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 3 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

- 4.1 ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่เลือด(Blood)ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ตามข้อกำหนดของแต่ละภาชนะบรรจุแต่ไม่ควรน้อยกว่า 2 mL
- 4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์(analytical sample) ได้แก่ plasma, serumปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ (dead volume) ประมาณ 150 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน small sample cup), 250 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน sample cup) และ 2 mL(สำหรับการบรรจุใน sample tube ขนาด 13x75 mm.) แต่ปริมาตรที่ใช้ตรวจวิเคราะห์จริงครั้งละเท่ากับ 35 ไมโครลิตร

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

ไม่มี


6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

- 6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหาALTได้แก่
 - 6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (หลอดจุกเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้จากแผนกตรวจโรคผู้ป่วยนอกที่ส่งตรวจหาระดับ ALTร่วมกับรายการทดสอบทางเคมีคลินิกอื่นๆ โดยให้เก็บตัวอย่างที่ห้องเจาะเลือดของห้องปฏิบัติการ
 - 6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube (หลอดจุกสีม่วง)มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ ALT แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตาม ข้อ 6.1.1 และ 6.1.3
 - 6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Gel & clot activator tube(หลอดจุกสีเหลืองทอง)ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเริ่มต้นของคนไข้ที่ส่งมาจากห้องฉุกเฉิน หอผู้ป่วยใน ห้องไตเทียมและห้องตรวจสุขภาพ
- 6.2 ความคงตัวของระดับALTในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

ส่งตรวจทั้งซีรัมและพลาสมาควรปั่นแยกภายใน 2 ชั่วโมง โดยส่งตรวจสามารถคงสภาพได้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 2-8°C นอกจากนี้ยังสามารถคงสภาพได้นาน 1เดือนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C หรือต่ำกว่า -20°C

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

- 7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ: Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System
- 7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ALTI Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF143
- 7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ Enzyme II Calibrator, Cat. No. DC143

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 4 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้นALT 3 ระดับจากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่

Liquid Assayed Multiquel®

7.5 Auto pipette, Volumetric pipette และ Pipette tip

7.6 Distilled water

7.7 ภาชนะบรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมา ได้แก่ Sample cup, Small sample cup, Plastic plain tube

7.8 Sample segment

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures; metrological traceability)

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

9.1 ใช้สารสอบเทียบ Enzyme II Calibrator, Cat. No. DC143 ซึ่งค่าALTสอบกลับ (Traceability) ถึง IFCC ALT at 37°C primary reference method

9.2 บันทึกข้อมูลของสารสอบเทียบแต่ละรุ่นที่ผลิต (lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารสอบเทียบ Enzyme II Calibrator, Cat. No. DC143 (PI-LAB-114)

9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารสอบเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารสอบเทียบ Enzyme II Calibrator, Cat. No. DC143 (PI-LAB-114)


9.4 ทำการสอบเทียบ (calibration) ทุก 90 วัน และเมื่อเปลี่ยนน้ำยา Lot. ใหม่ โดยใช้สารสอบเทียบจำนวน 3 ระดับ ทำซ้ำระดับละ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

9.5 ให้ทำการสอบเทียบซ้ำ (re-calibration) เมื่อมีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQAS บ่งชี้ว่ามี systematic error


10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)

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

| | | |
|--|--|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALTI) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 5 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

- 10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยาALTI Flex® reagent cartridge ออกจากห่อซึ่งมีขนาดบรรจุ 60 tests/Flex
- 10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่องและลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB-187)
- 10.1.4 นำFlexน้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ โดยน้ำยาทุกหลอดตั้งแต่หลอดที่ 1-8 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30วัน ส่วนน้ำยาในหลอด1-6ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 3 วัน และหลอดที่7-8ที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 30 วัน
- 10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา ALTI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-019)
- 10.2 สอบเทียบ(Calibration)ตามข้อ 9.
- 10.3 ตรวจสอบความถูกต้องของการใส่ภาชนะบรรจุตัวอย่างลงใน Sample segment โดยเลือกชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างให้ตรงกับชนิดของ Sample segment โดยเฉพาะ Primary tube ต้องวางให้ตรงกับสีของ adaptor ใน sample segment
- 10.4 ตรวจสอบความเพียงพอของการบรรจุตัวอย่างตามชนิดภาชนะบรรจุ ได้แก่ Small sample cup(ควรบรรจุ 0.20-1 mL), sample cup(ควรบรรจุ0.25-1.5 mL)เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกกัน cup และกรณีใช้ Primary tube(ขนาดบรรจุ 5, 7 และ 10 mL ควรบรรจุตัวอย่างตรวจให้มีปริมาตรรวมทั้งหลอดสูงจากกันหลอดเกิน 3 cm.)
- 10.5 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างไม่มี barcodeและมีปริมาตรสิ่งส่งตรวจรวมทั้งหมดแล้วน้อยกว่า 2 mLควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น sample cupหรือ Small sample cup(SSC) แล้วเปลี่ยน Modeเลือกชนิดภาชนะให้ตรงกับชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างที่ใช้
- 10.6 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างมี barcodeและมีปริมาณสิ่งส่งตรวจน้อยกว่า 2 mLควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น 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 Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลง

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 6 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

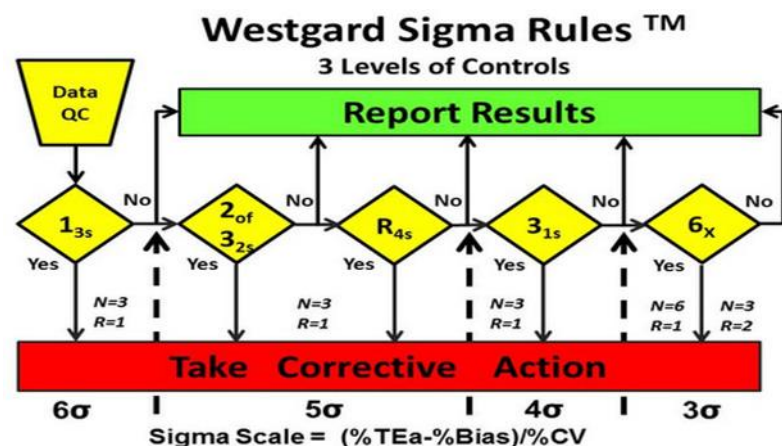
ที่ sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ

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 ระดับ พร้อมกันอย่างน้อยวันละ 1 ครั้งในช่วงเวลาตอนเช้าของแต่ละวันทุกวันก่อนตรวจตัวอย่างผู้ป่วย(N=3, R=1 ในที่นี้หมายถึง ความถี่ 1 ครั้งใน 24 ชั่วโมง) แต่ถ้า Performance ของการตรวจ ALT 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 ALT = ±15% (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

11.5 ติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, % CVbd) และ total CV โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 5%

11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ ALT ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟในเมนู Process Control /Method Review ของเครื่อง Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System (EXL200-LAB-003) หรือ ติดตามตรวจสอบผล IQC ได้ในโปรแกรม Bio-Rad's Unity Real Time(URT-LAB-001)

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 7 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

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 ควรสมัครสมาชิกในหัวไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี 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 รายงานผลมาเก็บไว้ใช้ทวนประสิทธิภาพในการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

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

13. สิ่งรบกวน (Interferences)

| ลักษณะตัวอย่าง | สารรบกวน | | Bias ที่ค่า ALT ระดับต่างๆ (U/L) | | | | | | |
|----------------|------------------------|---------------|----------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | ชื่อสารรบกวน | ระดับที่ทดสอบ | 49 | 50 | 68 | 71 | 140 | 143 | 144 |
| Hemolysis | Hemoglobin(Hb) | 1000 mg/dL | <10% | - | - | - | - | <10% | - |
| Icterus | Unconjugated bilirubin | 40 mg/dL | - | - | <10% | - | - | - | - |
| | | 80 mg/dL | - | - | - | - | <10% | - | - |
| | Conjugated bilirubin | 30 mg/dL | - | - | - | <10% | - | - | - |
| | | 40 mg/dL | - | - | - | - | - | - | <10% |
| Lipemia | Intralipid® | 200 mg/dL | - | <10% | - | <10% | - | - | - |

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 8 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

14. หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอนของการวัด (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 |
|-------------------|-------------------|---------|
| U/L | 0.0167 | μkat/L |

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

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

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

$$Y = mx + b$$

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

delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ให้ดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WI-LAB-17) มีหลักการคำนวณ ดังนี้

- 1) คำนวณ Relative Standard Uncertainty จากผลการทำ IQC (RSU_{IQC})
- 2) คำนวณ Relative Standard Uncertainty จาก Certificate of Calibrator (RSU_{cal}) ที่ได้จากบริษัทผู้ผลิต calibrator
- 3) คำนวณ Relative Standard Uncertainty จากผลการทำ EQAS (RSU_{EQAS})
- 4) คำนวณ Combined uncertainty จากสูตร


$$\text{Combined uncertainty} = \sqrt{(RSU_{IQC})^2 + (RSU_{cal})^2 + (RSU_{EQAS})^2}$$

- 5) คำนวณ Expanded Uncertainty ของการวัดค่า AST จากสูตร

$$\text{Expanded Uncertainty} = k \times U_c$$

K = coverage factor, U_c = Combined Uncertainty

- 6) การรายงานผล ให้รายงาน ผลการวิเคราะห์ ALT \pm Expanded Uncertainty พร้อมหน่วยวัด (95% Coverage probability)

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 9 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

15 ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก(biological reference intervals or clinical decision values)

Expected Values: เพศหญิง 14-59 U/L
เพศชาย 16-63 U/L

16 ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ ALT เท่ากับ 6 - 1000 U/L

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

ถ้าผลการทดสอบ ALT > 1000 U/L สามารถเลือกวิธีการเจือจางตัวอย่างได้ 2 วิธี ดังนี้

- 17.1 การเจือจางเองโดยผู้ตรวจวิเคราะห์(manual dilution) ให้เจือจางตัวอย่างด้วย Enzyme Diluent (Cat. No. 790035901) เช่น ถ้าเจือจางตัวอย่างเป็น 1:10 (ใช้ตัวอย่าง 1 ส่วน ผสมกับ Enzyme Diluent 9 ส่วน) แล้วกำหนดค่า dilution factor = 10 ในเครื่องตรวจวิเคราะห์เพื่อให้โปรแกรมในระบบเครื่องมือคำนวณค่าให้ หรือผู้ตรวจวิเคราะห์คำนวณค่าเองโดยใช้ค่าที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างที่เจือจางเป็น 1:10 แล้วคูณด้วย dilution factor = 10 เป็นต้น
- 17.2 การเจือจางอัตโนมัติโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์(autodilution) จะใช้ตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา 10 µL (dilution factor = 3.5) แล้วให้ทำตามคำแนะนำที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงาน Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-012)

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


19 การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผลโดยพิจารณาเฉพาะระดับ ALT

19.1.1 ค่า ALT (SGPT) ที่ต่ำกว่าปกติ โดยธรรมชาติมักจะไม่มีปรากฏและมักมีค่าให้ตรวจพบได้เสมอ ตราบเท่าที่บุคคลนั้นยังมีชีวิตอยู่และตับก็ยังต้องทำหน้าที่เป็นปกติอยู่ แต่ถ้า ALT ต่ำกว่าปกติ ร่วมกับค่าคอเลสเตอรอลที่สูงเกินปกติ ก็อาจเกิดจากท่อน้ำดีในตับอุดตัน (Congested liver) ได้

19.1.2 ค่า ALT (SGPT) ที่สูงกว่าปกติ

- 19.1.2.1 ค่า ALT (SGPT) ที่สูงกระเพื่อมขึ้นเล็กน้อยเป็นครั้งคราว อาจแสดงผลได้ว่า
- ตับอ่อนอักเสบ (Pancreatitis)
 - กล้ามเนื้ออักเสบ (Myositis)

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 10 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

-อาจเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (Myocardial infraction)

-หากมีโรคหรือภาวะใดที่กระทบต่อดับ หัวใจ หรือกล้ามเนื้อโครงร่าง ก็ย่อมเป็นเหตุทำให้ค่า ALT กระเพื่อมสูงขึ้นได้เสมอ

19.1.2.2 ค่า ALT (SGPT) ที่สูงเล็กน้อย อาจแสดงผลได้ว่า

-เริ่มเกิดสภาวะตับอักเสบจากสาเหตุใดก็ตาม เช่น การกินยา การดื่มแอลกอฮอล์ หรือการกินอาหารที่เป็นพิษ

-อาจเกิดจากการกินยาบางชนิดเป็นประจำหรือต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน เช่น ยาลดคอเลสเตอรอลสเตติน (Statins), ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics), ยาเคมีบำบัด (Chemotherapy), ยาแก้ปวด (Aspirin), ยาแก้อาการซึมเศร้าอนาไมล์ (Barbiturates), ยาเสพติด (Narcotics)

-อาจมีไขมันสะสมแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับสูงเกินปกติ

-อาจเกิดโรคตับอักเสบเรื้อรังที่ยังแสดงอาการไม่มาก แต่ในระยะยาวอาจก่อให้เกิดโรคตับแข็งขึ้นได้

-อาจเริ่มมีอาการของโรคตับแข็ง

19.1.2.3 ค่า ALT (SGPT) ที่สูงปานกลาง อาจแสดงผลได้ว่า

-อาจเกิดโรคตับอักเสบ (Hepatitis)

-อาจเกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์อย่างหนักจนอยู่ในฐานะเป็นยาเสพติด (Alcohol abuse)

-ตับอาจอักเสบในระยะเริ่มต้นจากเชื้อไวรัส หรือระยะที่ได้รับการรักษาจนอาการเริ่มดีขึ้น

-อาจเกิดจากการกินยาเกินขนาด เช่น ยาพาราเซตามอล ยาสมุนไพรบางชนิด

-ตับอาจเป็นโรคมะเร็ง (Hepatic tumor)

-ท่อน้ำดีอาจถูกปิดกั้น ซึ่งอาจเกิดจากท่อน้ำดีอักเสบหรือมีนิ่วในถุงน้ำดี


19.1.2.4 ค่า ALT (SGPT) ที่สูงมาก อาจแสดงผลได้ว่า

-เซลล์ตับอาจกำลังเสียหายอย่างรุนแรงจากเชื้อไวรัสตับอักเสบบีตัวใดตัวหนึ่งมานานนัก เช่น ไวรัสตับอักเสบบีชนิดเอ บี หรือซี

-เซลล์ตับอาจกำลังเสียหายเพราะพิษจากยารักษาโรคบางตัว หรือสมุนไพร หรือวิตามินบางชนิดที่รับประทานในขนาดและปริมาณที่เป็นพิษต่อดับ

-ร่างกายอาจได้รับสารตะกั่วทางใดทางหนึ่งจนตับเกิดความเสียหายจากพิษของตะกั่ว

-ร่างกายอาจถูกพิษโดยตรงจากสารคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (Carbon tetrachloride) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้อุปกรณ์เครื่องดับเพลิง

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 11 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

-ตับอาจเสียหายร้ายแรงจากโรคเมเร็งตับ ซึ่งย่อมมีผลทำให้ค่า ALT อยู่ในระดับที่สูงมาก

-ตับอาจอยู่ภาวะขาดเลือด (Hepatic ischemia) เช่น จากกรณีหัวใจล้มเหลว ร่างกายอาจเกิดอาการช็อก (Shock) จึงทำให้ตับได้รับเลือดไปหล่อเลี้ยงต่ำกว่าปริมาณที่ควรได้รับจนเซลล์บางส่วนเริ่มตายหรือเสียหายอย่างกว้างขวาง

19.2 การแปลผลโดยพิจารณาอัตราส่วนระหว่าง AST กับ ALT

| De Ritis Ratio Decision Limit | | | | |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|----------------------------|-------------------|
| Condition | AST : ALT ratio | | | |
| | <1.0 | 1.0 to <1.5 | 1.5 to <2.0 | ≥2.0 |
| แข็งแรง (Healthy) | Woman (up to 1.7) Men (up to 1.3) | | เด็ก (Children) | ทารก (Neonate) |
| Acute Viral Hepatitis | เรื้อรัง (Resolving) | | แย่ลง (Worsening) | ตับวาย(Fulminant) |
| Alcoholic Hepatitis | เรื้อรัง (Resolving) | | ติดสุรา (Alcohol abuse) | Acute hepatitis |
| Chronic Liver Disease | คงที่ (Stable) | เสี่ยงต่อการเกิดพังผืด (Fibrosis risk) | | Other causes |
| Muscle Disease | เรื้อรัง (Chronic) | เรื้อรัง (Resolving) | | เฉียบพลัน(Acute) |


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

| | | |
|--|--|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALTI) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 12 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง(source lamp)เสื่อมตามอายุการใช้งาน(ควรเปลี่ยนทุกๆ 6 เดือน)
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตันตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Windowsสกปรก
- 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)

- 21.1ไบแทรกน้ำยา ALTI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-019)
- 21.2คู่มือปฏิบัติงาน Standard Operating ProcedureDimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-001)
- 21.3ไบแทรกสารสอบเทียบ Enzyme II Calibrator (PI-LAB-114)
- 21.4 คู่มือปฏิบัติงาน Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-012)
- 21.5ไบแทรกสารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed and Unassayed Multiquel ® (PI-LAB-130)

22. ภาคผนวก

- 22.1 ภาคผนวก 1 ไบแทรกน้ำยา ALTI Flex® reagent cartridge (PI-LAB-019)

| | | |
|---|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 13 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

SIEMENS

REF DF143

Dimension® clinical chemistry system

PI-LAB-019/00(01/10/2560)

Flex® reagent cartridge

ALT

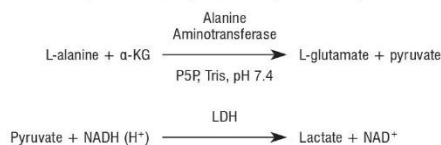
Issue Date 2011-06-02

Alanine Aminotransferase

Intended Use: The alanine aminotransferase (ALT) method is an *in vitro* diagnostic test for the quantitative measurement of alanine aminotransferase activity in human serum or plasma on the Dimension® clinical chemistry system. Measurements of alanine aminotransferase are used in the diagnosis and treatment of certain liver diseases and heart diseases.

Summary: The Dimension® ALT method is an adaptation of the recommended alanine aminotransferase procedure of the IFCC as described by Bergmeyer.¹ The procedure is based on the principles outlined by Wroblewski and LaDue² but is modified to contain pyridoxal-5-phosphate (P5P) as an activator and to replace phosphate buffer with tris (hydroxymethyl) aminomethane. Significant elevations of alanine aminotransferase are found in diseases of the liver, such as hepatitis, necrosis, jaundice and cirrhosis. Alanine aminotransferase levels can be elevated even before clinical jaundice appears.³

Principles of Procedure: Alanine aminotransferase catalyzes the transamination of L-alanine to α-ketoglutarate (α-KG), forming L-glutamate and pyruvate. The pyruvate formed is reduced to lactate by lactate dehydrogenase (LDH) with simultaneous oxidation of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide (NADH). The change in absorbance is directly proportional to the alanine aminotransferase activity and is measured using a bichromatic (340, 700 nm) rate technique.



Reagents

| Wells* | Form | Ingredient | Concentration* | Source |
|------------------------|---------------------|-------------|----------------|----------------|
| 1, 2, 3 (Reagent 1) | Tablet ^b | LDH | 3000 U/L | Porcine muscle |
| | | NADH | 0.22 mmol/L | |
| | | P5P | 0.15 mmol/L | |
| 4, 5, 6 (Reagent 2) | Tablet ^b | α-KG | 20 mmol/L | |
| 7 | Liquid | Alanine | 260 mmol/L | |
| 8 | Liquid | Tris buffer | 100 mmol/L | |

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

b. Nominal value in the reaction cuvette.

c. Tablet contains excipients.

Risk and Safety:



Irritant. Contains 2-chloroacetamide.
R43: May cause sensitization 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: Hydrating, diluting and mixing are automatically performed by the instrument.

Store at: 2 – 8 °C

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

Open Well Stability: 3 days for wells 1 – 6, 30 days for wells 7 – 8

Specimen Collection and Handling:

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

Normal procedures for collecting and storing serum and plasma may be used for samples to be analyzed by this method. In the preparation of serum or plasma samples, avoid prolonged contact with separated red cells.⁴

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

For Serum: Complete clot formation should take place before centrifugation. Serum or plasma should be physically separated from cells as soon as possible with a maximum limit of two hours from the time of collection.⁶

Separated samples are stable for 7 days refrigerated at 2 – 8 °C. For longer storage, specimens may be frozen for 1 month at -20 °C or colder.⁷ Avoid repeated freezing and thawing. Thawed frozen specimens which are turbid must be clarified by centrifugation prior to testing.

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

Procedure

Materials Provided

ALT Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF143

Materials Required But Not Provided

Enzyme II Calibrator, Cat. No. DC143

Enzyme Diluent, Cat. No. 790035901

Quality Control Materials

Test Steps

Sampling,^{4,8} reagent delivery, mixing, processing, and printing of results are automatically performed by the Dimension® clinical chemistry system. For details of this processing, refer to your Dimension® clinical chemistry system 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.

e. An alternate sample size of 20 µL can be programmed; refer to the Dimension® clinical chemistry system Operator's Guide for the use of alternate sample size.

Test Conditions

Reaction Cuvette

| | |
|--|------------------|
| Sample Volume (delivered to the cuvette) | Standard 35 µL |
| Reagent 1 Volume | Reduced 20 µL |
| Reagent 2 Volume | 30 µL |
| Diluent Volume | 80 µL |
| Temperature | 215 µL |
| Wavelength | 37 °C |
| Reaction Time | 340 and 700 nm |
| Type of Measurement | 6.5 minutes |
| | Bichromatic Rate |

Calibration

| | |
|----------------------|---|
| Assay Range | 6 – 1000 U/L [0.10 – 16.70 µkat/L] ^f |
| Calibration Material | Enzyme II Calibrator, Cat. No. DC143 |
| Calibration Scheme | 3 levels, n = 3 |
| Units | U/L [µkat/L] (U/L x 0.0167 = µkat/L) |

Typical Calibration Levels

| |
|----------------------------------|
| Level 1: 0 U/L [0 µkat/L] |
| Level 2: 500 U/L [8.35 µkat/L] |
| Level 3: 1050 U/L [17.54 µkat/L] |

Calibration Frequency

Every 90 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 | 3.000 |
| C ₁ | -3.375 |

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

Quality Control

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

Results: The instrument calculates the activity of alanine aminotransferase in U/L [µkat/L] using the calculation scheme illustrated in your Dimension® clinical chemistry system 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): 6 – 1000 U/L [0.10 – 16.70 µkat/L]

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

- Samples with results in excess of 1000 U/L [16.70 µkat/L] are reported as "Above Assay Range" and should be repeated on dilution. **Autodilution (AD):** The recommended autodilute sample volume is 10 µL (dilution factor = 3.5) for serum and plasma. Refer to your Dimension® clinical chemistry system Operator's Guide. **Manual Dilution:** Results in excess of 1000 U/L [16.70 µkat/L] should be repeated after diluting the sample with Enzyme Diluent (Cat. No. 790035901) or equivalent to produce a sample within the assay range. Enter dilution factor. Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.
- Samples with results less than 6 U/L [0.10 µkat/L] should be reported as "less than 6 U/L [0.10 µkat/L]".

1st fold

2nd fold

| | | |
|--|---|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 14 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

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 alanine aminotransferase results. Refer to your Dimension® clinical chemistry system Operator's Guide for the meaning of report flags and comments. Any result containing flags and/or comments should be addressed according to your laboratory's procedure manual.

A system malfunction may exist if the following 5 test precision is observed at the standard sample size (35 µL).

| ALT Activity | S.D. |
|------------------------|------------------------|
| 50 U/L [0.84 µkat/L] | > 3 U/L [0.05 µkat/L] |
| 470 U/L [7.85 µkat/L] | > 7 U/L [0.12 µkat/L] |
| 870 U/L [14.53 µkat/L] | > 11 U/L [0.18 µkat/L] |

Interfering substances

Bilirubin (unconjugated) at 60 mg/dL [1026 µmol/L] decreases ALTI results at an activity of 68 U/L [1.14 µkat/L] by -11%.

Bilirubin (conjugated) at 40 mg/dL [684 µmol/L] decreases ALTI results at an activity of 71 U/L [1.19 µkat/L] by -13%.

Bilirubin (conjugated) at 60 mg/dL [1026 µmol/L] decreases ALTI results at an activity of 144 U/L [2.40 µkat/L] by -12%.

Triglycerides above 400 mg/dL [4.52 mmol/L] tripped a test report message; therefore the magnitude of the interference could not be determined.

Lipemia (Intralipid®) above 600 mg/dL [6.78 mmol/L] tripped a test report message; therefore the magnitude of the interference could not be determined.

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

Expected Values: 12 – 78 U/L [0.20 – 1.30 µkat/L]

The reference interval was transferred from what was previously determined for the Dimension Vista® ALTI method on the Dimension Vista® System. This reference interval was calculated non-parametrically and represents the central 95% of results determined from a population of healthy adults (N = 122).

Each laboratory should establish its own reference interval for alanine aminotransferase as performed on the Dimension® clinical chemistry system.

Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the Dimension® clinical chemistry system.

| Material | Precision ^g | | | |
|---|------------------------|--|-------------------|--|
| | Mean U/L [µkat/L] | Standard Deviation (% CV) Repeatability | Within-Lab | |
| Standard Sample Volume (35 µL) | | | | |
| Serum Pool | 43 [0.71] | 0.8 [0.01] (1.8) | 1.7 [0.03] (4.1) | |
| Plasma Pool | 147 [2.45] | 1.8 [0.03] (1.2) | 3.5 [0.06] (2.4) | |
| BioRad Multiquel® Control | | | | |
| Level 1 | 22 [0.37] | 0.5 [0.01] (2.2) | 0.9 [0.02] (4.1) | |
| Level 2 | 77 [1.28] | 0.6 [0.01] (0.8) | 2.0 [0.03] (2.6) | |
| Level 3 | 169 [2.82] | 1.4 [0.02] (0.8) | 3.9 [0.7] (2.3) | |
| MAS® chemTRAK® H Control | | | | |
| Level 1 | 27 [0.45] | 0.7 [0.01] (2.4) | 0.7 [0.012] (2.6) | |
| Level 2 | 106 [1.77] | 0.9 [0.01] (0.8) | 3.4 [0.06] (3.2) | |
| Level 3 | 213 [3.56] | 1.4 [0.02] (0.7) | 2.9 [0.05] (1.4) | |
| Reduced Sample Volume (20 µL) | | | | |
| Plasma Pool | 43 [0.72] | 0.9 [0.02] (2.1) | 1.9 [0.03] (4.4) | |
| Dade® TRU-Liquid® Moni-Trol® Control | | | | |
| Level 1 | 34 [0.57] | 0.7 [0.01] (2.0) | 1.9 [0.03] (5.5) | |
| Level 2 | 92 [1.54] | 1.0 [0.02] (1.1) | 4.7 [0.08] (5.1) | |

g. CLSI/NCCLS EP5-A2 was used. During each day of testing, two separate runs, with two test samples, for each test material, were analyzed for 20 days. Multiquel® is a registered trademark of BioRad Corp., Irvine, CA 92714, USA. MAS®, chemTRAK®, Dade®, TRU-Liquid®, and Moni-Trol® are registered trademarks of Medical Analysis Systems Inc., Camarillo, CA 93012-8058, USA.

| Method Comparison ^h Regression Statistics ^h | | | | |
|--|-------|---------------------------|----------------------------|------------------|
| Comparative Method | Slope | Intercept U/L [µkat/L] | Correlation Coefficient | n |
| Siemens ADVIA® 1650 ALT | 1.02 | 2.58 [0.04] | 0.992 | 118 ⁱ |
| Dimension Vista® ALTI | 1.00 | 1.39 [0.02] | 0.9996 | 118 ^j |
| Reduced (20 µL) vs. standard (35 µL) sample size | 0.98 | 5.11 [0.09] | 0.9998 | 73 ^j |

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

i. The range of 118 values in the correlation study was 10 – 875 U/L [0.16 – 14.61 µkat/L].

j. The range of 73 values in the correlation study was 15 – 980 U/L [0.26 – 16.37 µkat/L].

Specificity

Hemolysis, Icterus, Lipemia (HIL) Interference

The ALTI method (using the standard sample size of 35 µL or an alternate sample size of 20 µL) was evaluated for interference according to CLSI/NCCLS EP7-A2.¹⁰ 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 | ALTI Activity U/L [µkat/L] | Bias* % |
|--------------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------|
| Hemoglobin (hemolysate) | 1000 mg/dL [0.62 mmol/L] | 49 [0.82] | <10 |
| Bilirubin (unconjugated) | 1000 mg/dL [0.62 mmol/L] | 143 [2.39] | <10 |
| Bilirubin (conjugated) | 40 mg/dL [684 µmol/L] | 68 [1.14] | <10 |
| Lipemia (Intralipid®) | 80 mg/dL [1368 µmol/L] | 140 [2.40] | <10 |
| | 30 mg/dL [513 µmol/L] | 71 [1.19] | <10 |
| | 40 mg/dL [684 µmol/L] | 144 [2.40] | <10 |
| | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 50 [0.84] | <10 |
| | 200 mg/dL [2.26 mmol/L] | 144 [2.40] | <10 |
| | 600 mg/dL [6.78 mmol/L] | 50 [0.84] | --- ^k |
| | 600 mg/dL [6.78 mmol/L] | 144 [2.40] | --- ^k |

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

k. The interference testing at this level and above tripped a test report message; therefore the magnitude of the interference could not be determined.


Non-Interfering Substances

The following substances do not interfere with the ALTI method when present in serum and plasma at the activity indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances are less than 10% at ALTI activity of 55 U/L [0.92 µkat/L] and 165 U/L [2.8 µkat/L].

| Substance | Test Concentration | SI Units |
|------------------|--------------------|-------------|
| Acetaminophen | 20 mg/dL | 1324 µmol/L |
| Amikacin | 8.0 mg/dL | 137 µmol/L |
| Ampicillin | 5.3 mg/dL | 152 µmol/L |
| Ascorbic Acid | 6 mg/dL | 342 µmol/L |
| Caffeine | 6 mg/dL | 308 µmol/L |
| Carbamazepine | 3 mg/dL | 127 µmol/L |
| Chloramphenicol | 5 mg/dL | 155 µmol/L |
| Chlordiazepoxide | 1 mg/dL | 33.3 µmol/L |
| Chlorpromazine | 0.2 ng/dL | 6.27 µmol/L |
| Cholesterol | 503 mg/dL | 13 mmol/L |
| Cimetidine | 2 mg/dL | 79.2 µmol/L |
| Creatinine | 30 mg/dL | 2652 µmol/L |
| Dextran 40 | 6000 mg/dL | 1500 µmol/L |
| Diazepam | 0.51 mg/dL | 18 µmol/L |
| Digoxin | 6.1 ng/mL | 7.8 nmol/L |
| Erythromycin | 6 mg/dL | 81.6 µmol/L |
| Ethanol | 400 mg/dL | 86.8 mmol/L |
| Ethosuximide | 25 mg/dL | 1770 µmol/L |
| Furosemide | 6 mg/dL | 181 µmol/L |
| Gentamicin | 1.0 mg/dL | 21 µmol/L |
| Heparin | 3 U/mL | 3000 U/L |
| Ibuprofen | 50 mg/dL | 2425 µmol/L |
| Immunoglobulin G | 5 g/dL | 50 g/L |
| Lidocaine | 1.2 mg/dL | 51.2 µmol/L |
| Lithium | 2.2 mg/dL | 3.2 mmol/L |
| Nicotine | 0.1 mg/dL | 6.2 µmol/L |
| Nortriptyline | 1000 ng/mL | 3797 nmol/L |
| Penicillin G | 25 U/mL | 25000 U/L |
| Pentobarbital | 8 mg/dL | 354 µmol/L |
| Phenobarbital | 10 mg/dL | 421 µmol/L |
| Phenytoin | 5 mg/dL | 198 µmol/L |
| Primidone | 4 mg/dL | 183 µmol/L |
| Propoxyphene | 0.16 mg/dL | 4.91 µmol/L |
| Protein: Albumin | 6 g/dL | 60 g/L |
| Protein: Total | 12 g/dL | 120 g/L |
| Salicylic Acid | 50 mg/dL | 3.62 mmol/L |
| Theophylline | 4 mg/dL | 222 µmol/L |
| Triglycerides | 400 mg/dL | 4.52 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 |
| Vancomycin | 10 mg/dL | 69 µmol/L |

1st fold

2nd fold

| | | |
|--|--|------------------------------------|
|  | แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา | |
| | วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ Alanine aminotransferase (ALTI) | |
| | รหัสเอกสาร : WI-LAB-019 | หน้า 15 จาก 15 หน้า |
| | แก้ไขครั้งที่ : 0 | วันที่ประกาศใช้ : 1 พฤศจิกายน 2560 |

Limit of Detection and Limit of Blank^{1,1}

The Limit of Detection (LoD) for ALTI is 6 U/L [0.10 μ kat/L], determined consistent with CLSI guideline EP17-A³ and with proportions of false positives (α) less than 5% and false negatives (β) less than 5%; based on 240 determinations, with 5 blank and 5 low level samples. The Limit of Blank (LoB) is 2 U/L [0.03 μ kat/L].

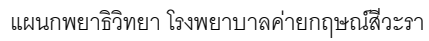
1. LoD is the lowest concentration of analyte that can be detected reliably. LoB is the highest concentration that is likely to be observed for a blank sample.

Symbols Key: See adjacent panel.

Bibliography: See adjacent panel.

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

©2011 Siemens Healthcare Diagnostics
All rights reserved.



ชื่อเอกสาร.....WI-LAB-019 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Alanine aminotransferase (ALT)

[illegible]

