



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)

WI-LAB-018

แก้ไขครั้งที่ 0

ผู้จัดทำ

สิปปนนท์

(นายสิปปนนท์ ศรีวรรณ)

ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้ทบทวน

ร.ต.หญิง

อรุณญา

(อรุณญา ทรงทอง)

ผู้จัดการคุณภาพ

11 พฤศจิกายน 2562

ผู้อนุมัติ

พ.อ.


ฉัตรมงคล

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ

11 พฤศจิกายน 2562

วันที่ประกาศใช้: 11 พฤศจิกายน 2562

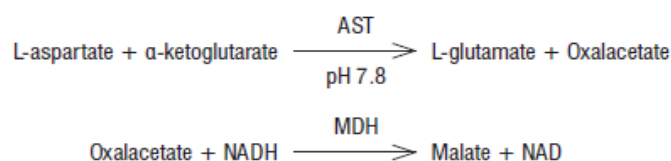
	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สรีระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 1 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562


1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

- 1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ activity ของเอนไซม์ Aspartate Aminotransferase (AST) ใน serum และ plasma ด้วย Dimension® clinical chemistry system
- 1.2 เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคของตับและท่อน้ำดี(Hepatobiliary disease) เช่น hepatitis, necrosis, jaundice และ cirrhosis โดยระดับ AST จะสูงขึ้นก่อนมีอาการตัวเหลือง
- 1.3 เพื่อบ่งชี้ร่วมกับผลการทดสอบอื่นๆ ในการช่วยวินิจฉัยโรคของอวัยวะอื่นๆ เช่น cardiac muscle, skeletal muscle, kidneys, pancreas, lungs และ erythrocytes
- 1.4 เพื่อตรวจติดตามและดูแลการตอบสนองต่อการรักษาโรคเกี่ยวกับตับและโรคที่เกี่ยวข้องอื่นๆ

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 System ร่วมกับน้ำยา AST Flex® reagent cartridge และสารสอบเทียบ Enzyme Verifier ซึ่งทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์จากผู้ผลิตเดียวกัน
- 2.2 อาศัยหลักการ Enzyme kinetic assay โดยเอนไซม์ Aspartate Aminotransferase(AST) ในตัวอย่างตรวจ จะเป็นตัว Catalyzed ปฏิกิริยา Transamination จาก L-Aspartate กับ α -Ketoglutarate ไปเป็น L-Glutamate กับ Oxalacetate แล้ว Oxalacetate ที่เกิดขึ้นจะถูก Reduce ไปเป็น Malate โดยเอนไซม์ Malate Dehydrogenase(MDH) พร้อมกับการเกิดปฏิกิริยา Oxidation ของ NADH ที่ถูก Reduce การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงกับเวลาอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของ NADH ไปเป็น NAD นั้น จะเป็นสัดส่วนโดยตรง กับ Activity ของ AST ซึ่งถูกวัดโดยใช้ Bichromatic (340 ,700 nm) rate Technique.



	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 2 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

ระบุไว้ในใบแทรกนํ้ายา AST Flex® reagent cartridge (PI-LAB-018) ดังนี้

Specific Performance Characteristics^a

Material	Mean mg/dL (mmol/L)	Precision ^b	
		Within-run	Standard Deviation (% CV) Total
HDL Plus® UC			
Level 1	170 [4.4]	1.60 [0.04] (0.94)	4.34 [0.11] (2.55)
Level 2	120 [3.1]	0.8r [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)

a. 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^a

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 92621.

k. Beta-Quantification Reference Method for LDL-C is a three-step procedure^F involving ultracentrifugation, precipitation with heparin-manganese reagent and quantification with the Abel-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.

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

- 4.1 ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด(Blood) ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ตามข้อกำหนดของแต่ละภาชนะบรรจุ แต่ไม่ควรน้อยกว่า 2 mL
- 4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์(analytical sample) ได้แก่ plasma, serum ปริมาณขั้นต่ำที่ต้องการใช้ (dead volume) ประมาณ 150 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน small sample cup), 250 ไมโครลิตร(กรณีบรรจุใน sample cup) และ 2 mL(สำหรับการบรรจุใน sample tube ขนาด 13x75 mm.) แต่ปริมาตรที่ใช้ตรวจวิเคราะห์จริงครั้งละเท่ากับ 40 ไมโครลิตร

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

- 5.1 ควรอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง เพราะถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ AST แต่ความขุ่นของไขมัน(chylomicrons) ในอาหารมีผลกระทบต่อวิธีที่ใช้วิเคราะห์ AST
- 5.2 งดการฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อ(IM) และหยุดการใช้ยาที่กระทบต่อผลการวิเคราะห์(drug-induced liver injury) เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 3 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

5.3 งดเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อย่างน้อย 1 สัปดาห์ เนื่องจากพิษของแอลกอฮอล์ทำให้ตับบาดเจ็บ เซลล์ตับที่ได้รับบาดเจ็บทำให้ AST เริ่มสูงขึ้นในเลือดเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จะขึ้นสูงสุดภายใน 24 - 36 ชั่วโมง เมื่อเวลาผ่านไป 3 - 7 วัน ค่า AST จะกลับคืนลงมาสู่ระดับปกติ และ ในกระแสเลือด AST มี half-life 16 -18 ชั่วโมง

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

6.1 ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา AST ได้แก่


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

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

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

6.2 ความคงตัวของระดับ AST ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์	ตัวอย่างตรวจ	ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจ	ความคงตัวของ AST		
			อุณหภูมิห้อง(RT)	2-8 °C	<-20 °C
ก. ตัวอย่างตรวจเริ่มต้น	Plasma เริ่มต้น	Li-Heparin Blood Collection tube	3 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
		EDTA Blood Collection tube	3 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
	Serum เริ่มต้น	Gel & clot activator tube	3 วัน	7 วัน	ไม่แนะนำ
		clot activator tube	3 ชั่วโมง	ไม่ควรทำ	ไม่ควรทำ
ข. ตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากตัวอย่างตรวจเริ่มต้น(แยกออกจากส่วนที่เป็นตะกอนเม็ดเลือดโดยเร็วภายใน 3 ชั่วโมง	Heparinized Plasma	Sample cup(SC), Small sample cup(SSC), Plastic Plain tube 13x75 mm.(PPT)	3 วัน	7 วัน	1 เดือน
	EDTA Plasma	SC, SSC, PPT	3 วัน	7 วัน	1 เดือน

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสียะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 4 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

	Serum	SC, SSC, PPT	3 วัน	7 วัน	1 เดือน
--	-------	--------------	-------	-------	---------

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)


- 7.1 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ : Dimension® EXL™ 200 Integrated Chemistry System
- 7.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : AST Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF41A
- 7.3 สารมาตรฐานสำหรับสอบเทียบ Enzyme Verifier, Cat. No. DC19
- 7.4 สารควบคุมคุณภาพที่ทราบความเข้มข้น AST 3 ระดับ จากแหล่งที่ไม่ใช่ผู้ผลิตเครื่องมือ/น้ำยา ได้แก่ Liquid Assayed 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 น้ำยามีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures; metrological traceability)


- ขั้นตอนการสอบเทียบให้ดำเนินการตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงาน Standard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 9.1 ใช้สารสอบเทียบ Enzyme Verifier, Cat. No. DC19 ซึ่งค่า AST สอบกลับ (Traceability) ถึง requirements per ISO Standard 17511, section 1.3.
 - 9.2 บันทึกข้อมูลของสารสอบเทียบแต่ละรุ่นที่ผลิต (lot number) ลงในพารามิเตอร์ของการสอบเทียบในเครื่องโดยการอ่าน QR code ที่ให้มาพร้อมกับใบแทรกสารสอบเทียบ Enzyme Verifier (PI-LAB-117)
 - 9.3 การเตรียมและการเก็บรักษาสารสอบเทียบ ให้ปฏิบัติตามวิธีการที่ระบุไว้ในใบแทรกสารสอบเทียบ Enzyme Verifier (PI-LAB-117)
 - 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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 5 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 เตรียมน้ำยา (reagent preparation)

- 10.1.1 นำน้ำยา AST Flex® reagent cartridge ออกจากตู้เย็น ซึ่งเป็นน้ำยาพร้อมใช้งาน (Ready to use) เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ได้จนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง Flex น้ำยา
- 10.1.2 ฉีกบรรจุภัณฑ์น้ำยา AST Flex® reagent cartridge ออกจากห่อ ซึ่งมีขนาดบรรจุ 90 tests/Flex
- 10.1.3 เขียนวันเปิดใช้บน Flex น้ำยาก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB-187)
- 10.1.4 นำ Flex น้ำยาใส่เครื่อง โดยเครื่องจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ในโปรแกรมของระบบเครื่องมือ โดยน้ำยาทุกหลอดตั้งแต่หลอดที่ 1-6 ใน Flex ที่ปิดสนิทจะมีอายุการใช้งานบนเครื่อง(expired on board) 30 วัน ส่วนน้ำยาในหลอดที่ถูกเจาะใช้งานแล้วจะมีอายุการใช้งาน 3 วัน
- 10.1.5 พารามิเตอร์ของน้ำยามีพร้อมใช้งานในเครื่องตามที่ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา AST Flex® reagent cartridge (PI-LAB-018)
- 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(ควรบรรจุ 0.25-1.5 mL) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของการดูดตัวอย่างตรวจจากการกระแทกกัน cup และกรณีใช้ Primary tube(ขนาดบรรจุ 5, 7 และ 10 mL ควรบรรจุตัวอย่างตรวจให้มีปริมาตรรวมทั้งหลอดสูงจากกันหลอดเกิน 3 cm.)
- 10.5 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างไม่มี barcode และมีปริมาตรสิ่งส่งตรวจรวมทั้งหมดแล้วน้อยกว่า 2 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น sample cup หรือ Small sample cup(SSC) แล้วเปลี่ยน Mode เลือกชนิดภาชนะให้ตรงกับชนิดของภาชนะบรรจุตัวอย่างที่ใช้
- 10.6 กรณีที่ใช้ primary tube ขนาด 13x75 mm. บรรจุตัวอย่างมี barcode และมีปริมาณสิ่งส่งตรวจน้อยกว่า 2 mL ควรเปลี่ยนภาชนะที่ใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจเป็น Small sample cup(SSC) และเลือกใช้ Sample segment ที่ถูกกำหนดให้ใช้กับ SSC ไว้แล้วใน System Configuration Menu ของเครื่องวิเคราะห์
- 10.7 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ตามวิธีการในข้อ 11.

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 6 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

10.8 ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วย ตามวิธีการที่ระบุไว้ในข้อ 10.7 ของคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Standard Operating Procedure for Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)

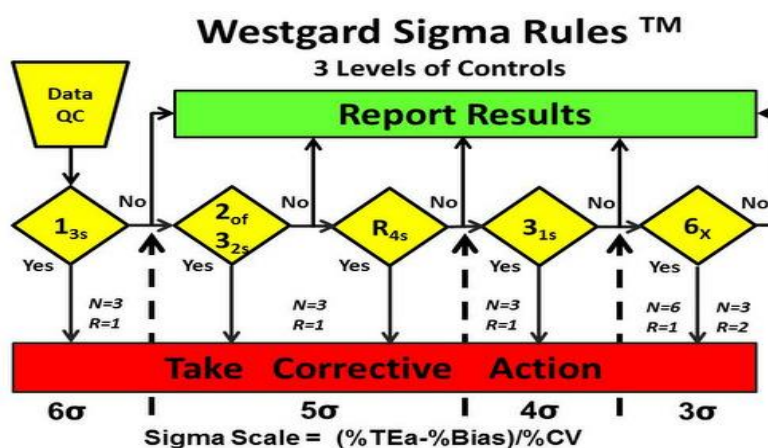
10.9 ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยนั้น ถ้าโปรแกรม LIS เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างสมบูรณ์ เมื่อใส่ตัวอย่างซึ่งติดฉลากด้วย barcode sticker ลงไปใน sample segment นำไปวางลงใน sample tray แล้วกดปุ่ม run เครื่องตรวจวิเคราะห์จะทำการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลวิเคราะห์ไปบันทึกในโปรแกรม LIS อย่างอัตโนมัติ

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 AST 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 AST = **±15%** (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ					
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)					
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018			หน้า 7 จาก 15 หน้า		
	แก้ไขครั้งที่ : 0			วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562		

11.6 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ AST ด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟในเมนู 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) และผลการทดสอบมีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย 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 เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (Interferences)

ลักษณะ	สารรบกวน		Bias ที่ค่า AST ระดับต่างๆ			
ตัวอย่าง	ชื่อสารรบกวน	ระดับที่ทดสอบ	42 U/L	53 U/L	54 U/L	58 U/L
Hemolysis	Hemoglobin(Hb)	50 mg/dL	16%	<10%	-	-

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 8 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

Icterus	Unconjugated bilirubin	20 mg/dL	-	-	<10%	-
Lipemia	Intralipid®	200 mg/dL	-	-	-	<10%
อื่นๆ	Ethanol	800 mg/dL	<10%	<10%	<10%	<10%
	Ascorbic acid	5 mg/dL	<10%	<10%	<10%	<10%

13.1 เนื่องจากในเม็ดเลือดแดงมี AST สูงกว่าใน plasma/serum 10 เท่า ดังนั้นถ้านำ Hemolyzed plasma/serum มาทดสอบ จะทำให้ได้ค่า AST สูงปลอมจาก AST ที่ปล่อยออกมาจากเม็ดเลือดแดง จึงไม่ควรนำมาทดสอบ

13.2 ตัวอย่างตรวจที่มีระดับ Hb สูงกว่า 5 g/dL รบกวนการตรวจวิเคราะห์ AST

13.3 Lipemic plasma/serum รบกวนการตรวจวิเคราะห์ อาจทำให้ตรวจวัดค่าไม่ได้หรือได้ค่าไม่ถูกต้อง เช่น ตัวอย่างตรวจที่มีความขุ่นของ Serum (Lipemia) ซึ่งมีความเข้มข้นของ Intralipid® เกินกว่า 300 mg/dL จะรบกวนการตรวจวิเคราะห์ AST แต่ถ้า Intralipid® ในระดับเกินกว่า 600 mg/dL จะตรวจวัดค่า AST ไม่ได้

13.4 ระดับ Bilirubin ที่สูงกว่า 40 mg/dL รบกวนการตรวจวิเคราะห์ AST

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	1	U/L

14.2 การคำนวณให้ได้ผลวิเคราะห์

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


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

$$Y = mx + b$$

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

delta Abs = ค่าการดูดกลืนแสงจากการตรวจวัดค่าของตัวอย่างตรวจ

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สัระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 9 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

- 1) ระบุองค์ประกอบของความไม่แน่นอนของการวัด ได้แก่ IQC, Calibrator
- 2) คำนวณค่า Standard Uncertainty(SU) ของแต่ละองค์ประกอบ
 - SU ของ IQC = ค่า Standard deviation (SD) โดยใช้ข้อมูลย้อนหลัง ≥ 6 เดือน แต่กรณีเป็นรายการทดสอบใหม่(new test)ให้ข้อมูลอย่างน้อย 30 ค่า
 - SU ของ Calibrator = Uncertainty \div Divisor ซึ่งระบุไว้ในใบรับรองของผู้ผลิต
- 3) คำนวณ Relative Standard Uncertainty (RSU) ของแต่ละองค์ประกอบ โดยใช้สูตร

$$RSU = SU \div \text{Concentration}$$
 จะได้ RSU 2 ค่า ได้แก่
 - RSU จากผลการทำ IQC (RSUIQC)
 - RSU จาก Certificate of Calibrator (RSUcal) ที่ได้จากบริษัทผู้ผลิต calibrator
- 4) คำนวณ Combined relative standard uncertainty (Uc) จากสูตร

$$Uc = \sqrt{(RSUIQC)^2 + (RSUcal)^2}$$
- 5) คำนวณ Expanded relative standard uncertainty (Ux) ของการวัดค่า AST จากสูตร

$$Ux = k \times Uc$$

$$K = \text{coverage factor}, \quad Uc = \text{Combined Uncertainty}$$
- 6) คำนวณค่า Expanded uncertainty of results (UR)

$$UR = \text{ผลการทดสอบ AST} \times Ux$$
- 7) การรายงานผลให้รายงานผลการวิเคราะห์ AST \pm UR mg/dL (95% Coverage probability)
 เช่น
 ระดับ AST ในเลือด : 82.64 ± 9.25 mg/dL*
 *ค่า uncertainty ที่รายงานเป็น expanded uncertainty คำนวณด้วยการใช้ coverage factor เท่ากับ 2 ซึ่งให้ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95%

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


Expected Values: 15 - 37 U/L

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ AST เท่ากับ 0 - 1000 U/L

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

ถ้าผลการทดสอบ AST >1000 U/L สามารถเลือกวิธีการเจือจางตัวอย่างได้ 2 วิธี ดังนี้

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกฤษณสีเวรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 10 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

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

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

17.3 ผลการทดสอบตัวอย่างตรวจที่ได้น้อยกว่า 5 U/L ให้รายงาน AST <5 U/L

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

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

19.1 การแปลผลโดยพิจารณาเฉพาะระดับ AST

19.1.1 **ค่า AST ต่ำ :** พบในผู้ป่วยที่มีการล้างไตหรือผู้ที่ขาดวิตามิน B6 ค่า AST อาจลดลง ซึ่งการลดลงนี้มีความสัมพันธ์กับการลดของ pyridoxal phosphate และหมู่แทน AST และทำให้สัดส่วนของ apoenzyme ต่อ holoenzyme สูงขึ้น


19.1.2 **ค่า AST สูง :** เนื่องจาก AST พบได้ในเนื้อเยื่อตับ, หัวใจ, กล้ามเนื้อ และไต ดังนั้นค่าเอนไซม์ที่สูง จึงพบได้ในโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อเหล่านี้ ค่า AST จะแสดงค่าสูงมากหรือน้อยตามจำนวนเซลล์ที่มีเอนไซม์นี้ที่บาดเจ็บ

19.1.2.1 ค่า AST สูงไม่มาก

- การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากเป็นประจำ
- ตับติดเชื้อ แล้วมีการอักเสบเรื้อรัง
- Infectious mononucleosis
- นิ่วในถุงน้ำดี ท่อน้ำดีอุดตัน มะเร็งท่อน้ำดี
- มะเร็งระยะแพร่กระจายที่เริ่มมาถึงตับ
- การใช้ยารักษาโรค ยาสมุนไพร สารอาหารเสริมบางชนิด เช่น ยาลด cholesterol ยารักษาเชื้อรา ยาเสพติด แอสไพริน

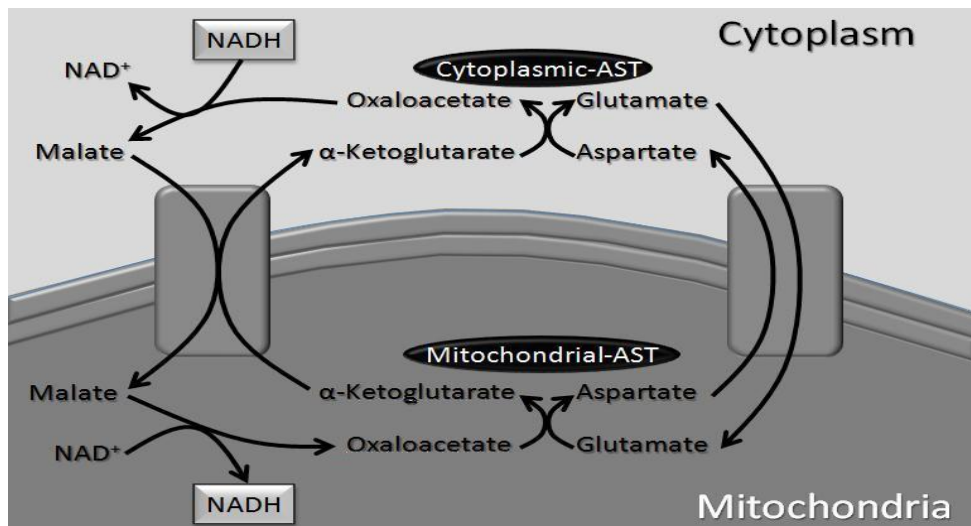
19.1.2.2 ค่า AST สูงเกิน 2 เท่าของค่าปกติ บ่งชี้สภาวะหรือโรคต่างๆ ดังนี้

- AST สูง 2 – 5 เท่าของค่าปกติ พบได้ใน โรคตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน มะเร็งตับ ระยะแพร่กระจาย โรคหลอดเลือดปอดอุดตัน สภาวะการถอนพิษจากการหยุดดื่มแอลกอฮอล์ โรคไขมันพอกตับ(fatty liver disease)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 11 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

- AST สูง 5 – 10 เท่าของค่าปกติ พบได้ในผู้ที่กำลังเป็นโรคไวรัสตับอักเสบริ้ร้ง, กล้ามเนื้อลีบ(muscular dystrophy)
- AST สูง 10 – 20 เท่าของค่าปกติ พบได้ใน Severe myocardial infarction, Infectious mononucleosis ที่เป็รรุนแรง, โรคตับแข็งจากพิษสุราเรื้อร้ง
- AST สูงกว่า 20 เท่าของค่าปกติ พบได้ใน การอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสอย่างเฉียบพลัน, skeletal muscle ได้รับความเจ็บพกอย่างรุนแรงหรือภายหลังการรับผ่าตัดใหญ่, เกิดพิษต่อตับจากยารักษาโรค, เกิดการอุดตันภายในตับ


19.1.3 มีการตรวจพบ isoenzymes 2 ชนิด ใน cytoplasmic และ mitochondria แต่จะพบเฉพาะ isoenzyme จาก cytoplasmic ในเลือดของคนปกติเท่านั้น ส่วน isoenzyme จาก mitochondria และจาก cytoplasmic จะพบได้ในเลือดของผู้ป่วยโรคตับและโรคหัวใจ



19.1.4 ครึ่งชีวิต(half-life) ของ AST = 16 - 18 ชั่วโมง

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	เรื้อร้ง (Resolving)		แย่ลง (Worsening)	ตับวาย(Fulminant)
Alcoholic Hepatitis	เรื้อร้ง (Resolving)		ติดสุรา (Alcohol abuse)	Acute hepatitis
Chronic Liver Disease	คงที่ (Stable)	เสี่ยงต่อการเกิดพังผืด (Fibrosis risk)		Other causes
Muscle Disease	เรื้อร้ง (Chronic)	เรื้อร้ง (Resolving)		เฉียบพลัน(Acute)

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 12 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

20.1 น้ำยา (Reagent)

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


20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิวด้าน, เทคนิคในการเตรียมผิวด้าน(การไปเปิด, 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)


	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สัระรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 13 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

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

21. เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 ใบแทรกน้ำยา AST Flex® reagent cartridge (PI-LAB-018)
- 21.2 SOP For Dimension EXL 200 Clinical Chemistry System (MN-LAB-002)
- 21.3 ใบแทรกสารสอบเทียบ Enzyme Verifier (PI-LAB-117)
- 21.4 Dimension® EXL™ 200 integrated chemistry system Operator's Guide (MN-LAB-007)
- 21.5 ใบแทรกสารควบคุมคุณภาพ Liquid Assayed Multiquel® (PI-LAB-130)
- 21.6 การหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด (WP-LAB-17)
- 21.7 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สวระ	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 14 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

22.1 ภาคผนวก 1 ใบแทรกนํ้ายา AST Flex® reagent cartridge (PI-LAB-018)

SIEMENS

REF DF41A

PI-LAB-018/00 (01/10/2560)

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

AST

See shaded sections; Updated information from 2003-07 version.

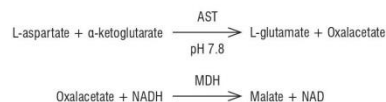
Issue Date 2008-02-12

Aspartate Aminotransferase

Intended Use: The AST method used on the Dimension® clinical chemistry system is an *in vitro* diagnostic test intended for the quantitative determination of aspartate aminotransferase activity in human serum or plasma.

Summary: The aspartate aminotransferase method is an adaptation of the methodology recommended by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).¹ The method uses the coenzyme pyridoxal-5-phosphate (P5P) to activate the apoenzyme and lactic acid dehydrogenase (LDH) to eliminate pyruvate interference. Significant elevations of AST are found in diseases of the liver such as hepatitis, necrosis, jaundice, and cirrhosis. AST levels can be elevated even before clinical jaundice appears.²

Principles of Procedure: Aspartate aminotransferase (AST) catalyzes the transamination from L-aspartate to α-ketoglutarate, forming L-glutamate and oxalacetate. The oxalacetate formed is reduced to malate by malate dehydrogenase (MDH) with simultaneous oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH). The change in absorbance with time due to the conversion of NADH to NAD is directly proportional to the AST activity and is measured using a bichromatic (340, 700 nm) rate technique.



Reagents

Wells ^a	Form ^b	Ingredient	Concentration ^c	Source
1 – 3	Tablet	MDH LDH NADH	3000 U/L 900 U/L 0.21 mmol/L	porcine muscle
1 – 3	Tablet	P5P Buffer	0.18 mmol/L	
4 – 6	Tablet (2/well)	Aspartic acid α-ketoglutaric acid	180 mmol/L 11.5 mmol/L	

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

b. Tablet contains excipients.

c. Nominal value per well when hydrated.

Risk and Safety:

Harmful. Contains 3, 5, 7-triaza-1-azoniacyclo[3.3.1.1^{3,7}] decane, 1-(3-chloro-2-propenyl)-Chloride, (z).
R22: Harmful if swallowed.
Xn S46: If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

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

Specimen Collection and Handling: 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 the separated red cells.²

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.³

Complete clot formation should take place before centrifugation.

Specimens are stable for 8 hours at room temperature, 2 days at 2 – 8 °C. For longer storage, specimens may be frozen at -20 °C or colder.^{3,4,5}

Corvac® and SST® collection tubes do not affect the AST results.

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

AST Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF41A

Materials Required But Not Provided

Enzyme Verifier, Cat. No. DC19

Quality Control Materials

Test Steps

Sampling,^{4a} reagent delivery, mixing, processing, and printing of results are automatically performed by the Dimension® system. For details of this processing, refer to your Dimension® Operator's Guide.

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

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

Test Conditions

Sample Size	40 µL (20 µL) ^a
Reagent 1 Volume	100 µL
Reagent 2 Volume	65 µL
Diluent Volume	235 µL
Temperature	37 °C
Wavelength	340 and 700 nm
Type of Measurement	Bichromatic rate

Verification

Assay Range (@ 37 °C)	0 – 1000 U/L
Verification Material	Enzyme Verifier (Cat. No. DC19)
Verification Scheme	3 levels, n = 3
Units	U/L
Typical Verification Levels	50, 400, 800 U/L
Verification Frequency	Every 90 days for any one lot
A new verification is required:	<ul style="list-style-type: none"> 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	Standard sample size = 40 µL C ₁ 2.000 C ₂ -3.537 Alternate sample size = 20 µL C ₁ -2.000 C ₂ -7.040

Quality Control

At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known aspartate aminotransferase activity.

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

Results: The instrument automatically calculates and prints the activity of aspartate aminotransferase in U/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): 0 – 1000 U/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 should be repeated on dilution.

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

Autodilution (AD): Refer to your Dimension® Operator's Guide.

Samples with results less than 6 U/L should be reported as "less than 6 U/L".

Limitations of Procedure

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

A system malfunction may exist if the following 5-test precision is observed at the standard sample size (40 µL):

AST Activity	SD
40 U/L	>2.5 U/L
440 U/L	>8 U/L
830 U/L	>15 U/L

Interfering Substances

Hemolysis falsely elevates AST results. Hemolyzed specimens should not be used.

Lipemia (Intralipid®) of 600 mg/dL [6.78 mmol/L]^f 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.

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

Expected Values: 15 – 37 U/L

The reference interval was calculated non-parametrically and represents the central 95% of the population. (n = 245, adults)

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

	แผนกพยาธิวิทยา โรงพยาบาลค่ายกษณิ์สีวะรา	
	วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)	
	รหัสเอกสาร : WI-LAB-018	หน้า 15 จาก 15 หน้า
	แก้ไขครั้งที่ : 0	วันที่ประกาศใช้ : 11 พฤศจิกายน 2562

Specific Performance Characteristics^a

Material	Mean U/L	Precision ^b	
		Standard Deviation Within-run	Total
Multiquel [®]			
Level 1	46	1.2 (2.7)	2.4 (5.2)
Level 2	190	1.6 (0.8)	3.9 (2.1)
Moni-Trol [®] ^j			
Level 1	25	2.8 (11.5)	3.0 (12.3)
Level 2	120	2.9 (2.4)	3.7 (3.1)

g. All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed (refer to your Dimension[®] Operator's Guide).

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

i. Using reduced sample size (20 µL).

Multiquel[®] is a registered trademark of BioRad Corp., Irvine, CA 92714, USA.

Moni-Trol[®] is a registered trademark of Medical Analysis Systems Inc., Camarillo, CA 93012-8058, USA.

Method Comparison

Comparative Method	Slope	Regression Statistics ⁱ		n
		Intercept U/L	Correlation Coefficient	
GOT/AST method on the aca [®] discrete clinical analyzer	0.96	-9.3	0.995	144 ^k
Reduced vs. standard sample size ^l	1.02	-4.5	0.999	63 ^m

j. Model equation for regression statistics is: Results of Dimension[®] AST system = [slope x comparative method results] + intercept.

k. Range of samples: 8 – 408 U/L.

l. Model equation for regression statistics is: Results of Dimension[®] system using reduced sample size (20 µL) = [slope x results of Dimension[®] system using standard sample size (40 µL)] + intercept.

m. Range of samples: 4 – 993 U/L.

Specificity

HIL Interference			
The AST method (using the standard sample size of 40 µL) 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		AST Activity
	[SI Units]	U/L	
Hemoglobin (hemolysate) ^m	50 mg/dL	53	<10
Bilirubin (unconjugated)	[0.031 mmol/L] (monomer)		
	20 mg/dL	54	<10
	[342 µmol/L]		
Lipemia (Intralipid [®])	200 mg/dL	58	<10
	[2.26 mmol/L]		

The AST method (using an alternate sample size of 20 µL) 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		AST Activity
	[SI Units]	U/L	
Hemoglobin (hemolysate) ^p	50 mg/dL	42	16
Bilirubin (unconjugated)	[0.031 mmol/L] (monomer)		
	20 mg/dL	36	<10
	[342 µmol/L]	36	10
	40 mg/dL		
Lipemia (Intralipid [®])	[1026 µmol/L]		
	200 mg/dL	34	<10
	[2.26 mmol/L]		

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

o. Because AST activity is 10 times higher in red blood cells than in serum, hemolyzed samples are likely to give spuriously elevated AST results. Bias from hemolysis may vary due to individual sample variations in intracellular AST.

Non-Interfering Substances

The following substances have been shown to have no measurable effect on the AST result at the concentrations indicated:

Substance	Test Concentration	SI Units
Acetaminophen	0.025 mg/dL	1.660 µmol/L
Amikacin	15 mg/dL	256 µmol/L
Ampicillin	5.3 mg/dL	152 µmol/L
Ascorbic Acid	5 mg/dL	227 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	500 mg/dL	12.9 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	20 µg/dL	70 µmol/L
Digoxin	20 ng/mL	25.6 nmol/L
Erythromycin	6 mg/dL	81.6 µmol/L
Ethanol	800 mg/dL	174 mmol/L
Ethosuximide	25 mg/dL	1770 µmol/L
Furosemide	6 mg/dL	181 µmol/L
Gentamicin	16 µg/dL	29.4 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	2.3 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	0.2 mg/dL	4.91 µmol/L
Protein: Albumin	6 g/dL	60 g/L
Protein: Total	12 g/dL	120 g/L
Salicylic Acid	60 mg/dL	4.34 mmol/L
Theophylline	100 µg/dL	555 µmol/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

Analytical Sensitivity: 5 U/L

The analytical sensitivity represents the lowest activity of AST that can be distinguished from zero. This sensitivity is defined as the mean value (n = 20) plus two standard deviations of Reagent grade water.

Symbols Key: See adjacent panel.

Dimension[®], aca[®] and Flex[®] are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

©2008 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

All rights reserved.

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

