แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง
การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)

WI-LAB-018
แก้ไขครั้งที่ 2

ผู้จัดทำ
(นายสิปปนนท์ ศรีวะรมย์)
ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิก
1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการคุณภาพ
1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: **1 กุมภาพันธ์ 2566**

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

1.1 เพื่อตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์หาระดับ catalytic activity concentration ของเอนไซม์ Aspartate Aminotransferase (AST) ใน serum และ plasma ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation (ASTLP Cat. No. 04467493 190)

1.2 เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคของตับและท่อน้ำดี(Hepatobiliary disease) เช่น hepatitis, necrosis, jaundice และ cirrhosis โดยระดับ AST จะสูงขึ้นก่อนมีการอาการตัวเหลือง

1.3 เพื่อบ่งชี้ร่วมกับผลการทดสอบอื่นๆ ในการช่วยวินิจฉัยโรคของอวัยวะอื่นๆ เช่น cardiac muscle, skeletal muscle, kidneys, pancreas, lungs และ erythrocytes

1.4 เพื่อตรวจติดตามและดูการตอบสนองต่อการรักษาโรคเกี่ยวกับตับและโรคที่เกี่ยวข้องอื่นๆ

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

2.1 หลักการ (Principle) : น้ำยา ASTLP ใช้หลักการตามคำแนะนำของ The International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), แต่มีการปรับปรุงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความเสถียร

AST ในตัวอย่างเร่งปฏิกิริยาระหว่าง L-aspartate และ 2-oxoglutarate เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ Oxaloacetate และ L-glutamate หลังจากนั้น Oxaloacetate ที่ได้จะทำปฏิกิริยากับ NADH โดยมี Malate Dehydrogenase (MDH)) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ให้ไปอยู่ในรูปของ NAD+, Pyridoxal phosphate จะถูกใช้เป็น coenzyme ใน amino transfer reaction ทำให้เกิด enzyme activation อย่างเต็มรูปแบบ

$$\text{L-Aspartate + 2-oxoglutarate} \xrightarrow{\text{AST}} \text{oxaloacetate + L-glutamate}$$

$$\text{Oxaloacetate + NADH + H}^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{L-malate + NAD}^+$$

อัตราการเกิดออกซิเดชั่นของ NADH เป็นสัดส่วนโดยตรงกับ catalytic AST activity ในตัวอย่างตรวจ ซึ่งวัดได้จากมีการดูดกลืนแสงที่ลดลง จึงสามารถนำไปคำนวณหา catalytic activity concentration ในตัวอย่างตรวจของ AST ได้

2.2 วิธีการ(method) :ใช้วิธี UV with P5P–IFCC Ref. Proc., Calibrated

Traceability: This method has been standardized against the original IFCC formulation using calibrated pipettes together with a manual photometer providing absolute values and the substrate-specific absorptivity.

The addition of pyridoxal phosphate to the assay causes an increase in aminotransferase activity. Pyridoxal phosphate activation prevents falsely low aminotransferase activity in patient samples with insufficient endogenous pyridoxal phosphate (vitamin B6 deficiency).

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

ระบุไว้ในใบแทรกน้ำยา ASTLP Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation (PI-LAB-018) ดังนี้

3.1 คุณลักษณะด้านความแม่นยำ(Precision) : เป็นการตรวจสอบความแม่นยำโดยใช้ตัวอย่างตรวจจากมนุษย์และสารควบคุมคุณภาพ ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง cobas c 501 ร่วมกับน้ำยา ASTLP โดยใช้วิธีการตรวจซ้ำแบบ within-run precision หรือ repeatability (n=21) และแบบ between-run precision หรือ intermediate precision (3 aliquots per run, 1 run per day, 20 days). ได้ผลดังนี้

Repeatability (n=21)	Mean U/L (µkat/L)	SD U/L (µkat/L)	CV %	CV_A %	ผลการตรวจสอบ
Precinorm U	48.0 (0.802)	0.6 (0.010)	1.3	≤3.75	PASS
Precipath U	147 (2.46)	1 (0.02)	0.6	≤3.75	PASS
Human serum 1	151 (2.52)	1 (0.02)	0.7	≤3.75	PASS
Human serum 2	17.0 (0.284)	1.0 (0.017)	6.0	≤3.75	PASS
Intermediate precision (3 aliquots per run, 1 run per day, 20 days)	Mean U/L (µkat/L)	SD U/L (µkat/L)	CV %	CV_A %	ผลการตรวจสอบ
Precinorm U	49.0 (0.818)	0.8 (0.013)	1.6	≤5	PASS
Precipath U	149 (2.49)	1 (0.02)	0.8	≤5	PASS
Human serum 3	40.7 (0.680)	1.3 (0.022)	3.1	≤5	PASS
Human serum 4	190 (3.17)	3 (0.05)	1.3	≤5	PASS

3.2 คุณลักษณะเมื่อเปรียบเทียบวิธีการทดสอบ (Method comparison)

AST values for human serum and plasma samples obtained on a Roche/Hitachi cobas c 501 analyzer (y) were compared with those determined using the corresponding reagent on a Roche/Hitachi 917 analyzer (x).

Sample size (n) = 177

Passing/Bablok13 : y = 1.000x - 2.45 U/L, **T** = 0.960

Linear regression : y = 0.998x - 2.87 U/L, r = 0.998

The sample activities were between 45.0 and 675 U/L (0.752 and 11.3 µkat/L).

เกณฑ์การยอมรับ inaccuracy จากการทำ method comparison ของ AST

- Correlation coefficient (r) : r > 0.975
- มีหลักฐานแสดง bias ของการตรวจวิเคราะห์ AST โดยใช้เกณฑ์การยอมรับ Bias ≤6.75%

ผลการตรวจสอบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับ method comparison

- ค่า Bias เทียบกับเกณฑ์ ณ ค่า Medical decision level ของ AST: ผ่าน(PASS)
- ค่า r เทียบกับเกณฑ์ แล้วมากกว่า 0.975 : ผ่าน(PASS)

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

4.1 ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด(Blood) ปริมาณที่ต้องการสำหรับหลอดเก็บเลือดขนาด 13x75 mm. ประมาณ 2- 4 mL ตามข้อกำหนดของแต่ละชนิดของหลอดบรรจุเลือด(ดูข้อ 6) ก่อนนำเข้าตรวจวิเคราะห์ต้องปั่นแยกที่ความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที

4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่

4.2.1 Serum

4.2.2 Plasma กำหนดให้ใช้ Li-heparin and K2-EDTA plasma

4.3 การตรวจ AST แต่ละครั้ง เครื่อง cobas c 501 จะใช้ Normal sample volume 9 ไมโครลิตร

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

5.1 ควรอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง เพราะถึงแม้ว่าเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดหรืออาหารที่รับประทานจะไม่มีผลกระทบต่อระดับของ AST แต่ความขุ่นของไขมัน(chylomicrons) ในอาหารมีผลกระทบต่อวิธีที่ใช้วิเคราะห์ AST

5.2 งดการฉีดยาเข้ากล้าม(IM) และหยุดการใช้ยาที่กระทบต่อผลการวิเคราะห์(drug-induced liver injury) เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนเจาะเก็บตัวอย่างเลือด

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 ประเภทของภาชะและสารเติมแต่งซึ่งใช้บรรจุตัวอย่างเริ่มต้นที่ส่งตรวจหา AST ได้แก่

6.1.1 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด Li-Heparin Blood Collection tube (ฝาปิดหลอดสีเขียว) มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ขนาดบรรจุ 3 mL

6.1.2 หลอดบรรจุเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งซึ่งมีหรือไม่มีสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น Clot activator Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีแดง)ขนาดบรรจุ 3-4 mL

6.1.3 หลอดบรรจุเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA Blood Collection tube(ฝาปิดหลอดสีม่วง) ขนาดบรรจุ 2-3 mL มี K2-EDTA หรือ K3-EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ปกติจะไม่ใช้ในงานประจำวัน แต่จะใช้เฉพาะในกรณีที่ส่งตรวจ AST แต่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเลือดในภาชนะบรรจุตามข้อ 6.1.1 และ 6.1.2 เท่านั้น

6.2 ประเภทของภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์

6.2.1 หลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้นขนาด 13x75 mm. ในข้อ 6.1 ที่ปั่นแยก serum หรือ Plasma แล้ว

6.2.2 Hitachi cup เป็น sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume 100 ไมโครลิตร

6.2.3 Hitachi micro cup เป็น Sample cup ที่ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume 50 ไมโครลิตร

6.2.4 หลอดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง(Plain tube) ใช้บรรจุตัวอย่างที่แบ่งมาจากหลอดบรรจุตัวอย่างเริ่มต้น ต้องการต้องการปริมาณตัวอย่างไม่น้อยกว่า sample dead volume 500 ไมโครลิตร

6.3 ความคงตัวของระดับ AST ในภาชนะบรรจุที่มีและไม่มีสารเติมแต่ง

ตัวอย่าง	อุณหภูมิที่เก็บ	ระยะเวลา
Serum/ plasma	15 – 25 °C 2 – 8°C	20 วัน 7 วัน

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

7.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ : ใช้เครื่อง cobas c 501 ซึ่งเชื่อมต่อกับเครื่อง cobas e 601, Control unit และ Core unit เป็นระบบวิเคราะห์ที่เรียกชื่อว่า cobas 6000 analyzer series ทุกส่วนเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Roche Diagnostic ประเทศเยอรมัน

7.2 เครื่องปั่น(Centrifuge) : ใช้สำหรับปั่นแยก Serum/Plasma ที่ความเร็วรอบในการปั่น 3,500 rpm เป็นเวลา 10-15 นาที หลังจากตั้งตัวอย่างเลือดเริ่มต้นทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีก่อนปั่น

7.3 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ : ใช้น้ำยา ASTLP Cat. No. 04467493 190 เป็น cassette ชุดน้ำยาสำเร็จรูปพร้อมใช้งาน(ready-to-use) ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche โดย 1 cassette ตรวจได้ 425 Tests เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C วางให้ตั้งตรง จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานบนเครื่อง cobas c 501 แล้วจะมีอายุการใช้งาน 12 สัปดาห์ องค์ประกอบของสารเคมีในน้ำยา ASTLP มีดังนี้

R1 TRIS buffer: 264 mmol/L, pH 7.8 (37 °C); L-aspartate: 792 mmol/L;
MDH (microorganism): ≥ 24 µkat/L;
LDH (microorganisms): ≥ 48 µkat/L;
albumin (bovine): 0.25 %; preservative

R2 Pyridoxal phosphate: 730 µmol/L; preservative

R3 NADH (yeast): ≥ 1.7 mmol/L; 2-oxoglutarate: 94 mmol/L; preservative

R1 is in position A, R3 is in position B, and R2 is in position C.

7.4 สารปรับแต่งมาตรฐาน

7.4.1 Standard 1: H_2O (sterile distilled water for injection)

7.4.2 Standard 2: Calibrator for automated system (C.f.a.s), Cat. No. 10759350 190 ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 3 mL

7.5 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ทันทีหลังจากทำ daily maintenance เครื่อง cobas c 501 แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน

7.6 Auto pipette, Volumetric pipette 3 mL, 5 mL และ Pipette tip สำหรับใช้เตรียมสารละลาย calibrator และ control ที่อยู่ในรูปแบบเป็นผงแห้ง (Lyophilize)

7.7 Distilled water สำหรับใช้ละลาย control/calibrator

7.8 Diluent NaCl 9 % (50 mL) สำหรับใช้เจือจางตัวอย่างอัตโนมัติกรณีตัวอย่างตรวจมีค่า AST สูงเกิน 700 U/L น้ำยา Diluent NaCl 9% เมื่อยังไม่เปิดใช้งานควรเก็บที่อุณหภูมิ 2-8^{o}C จะมีอายุการใช้งานจนถึงวันหมดอายุที่ระบุข้าง cassette เมื่อเปิดใช้งานแล้วจะมีอายุ 12 สัปดาห์

7.9 ภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างตรวจที่แบ่งมา ได้แก่ Sample cup(Hitachi cup) Cat No. 10394246001, Plastic plain tube, Hitachi micro cup

7.10 Rack มี 8 ชนิด

7.10.1 Rack สีดำ สำหรับวาง calibrator

7.10.2 Rack สีขาว สำหรับวาง control

7.10.3 Rack สีเทา สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Routine

7.10.4 Rack สีแดง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น STAT

7.10.5 Rack สีเหลือง สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น Urine

7.10.6 Rack สีน้ำเงิน สำหรับวางตัวอย่างที่เป็น CSF

7.10.7 Rack สีน้ำตาล สำหรับวางตัวอย่างอื่นๆ

7.10.8 Rack สีเขียว ใช้เพื่อบำรุงรักษาเครื่อง

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

8.1 ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

8.2 น้ำยามีส่วนผสมของสารถนอมรักษาส่วนประกอบของน้ำยาไม่ควรกลืนกินหรือสัมผัสกับผิวหนังโดยตรง

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures; metrological traceability)

ขั้นตอนการสอบเทียบให้ดำเนินการตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

9.1 **ข้อกำหนดในการสอบเทียบ**

9.1.1 ทำการสอบเทียบแบบ 2-point calibration กับน้ำยา ASTLP ที่ใช้งานร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas c 501 เมื่อ

- เปิดใช้งานน้ำยา ASTLP ครั้งแรก
- น้ำยา ASTLP เปลี่ยนรุ่นการผลิต(Lot) ใหม่
- มีการทำ preventive maintenance รอบใหญ่หรือมีการเปลี่ยนชิ้นส่วนอะไหล่ที่มีผลกระทบต่อค่าการวัด และเมื่อผล IQC และหรือ EQA/PT บ่งชี้ว่ามี systematic error ที่ต้องแก้ไขปัญหาด้วยการสอบเทียบใหม่(re-calibration)

9.1.2 การตรวจวัดค่าสารสอบเทียบเพื่อสร้าง Standard curve โดยใช้สารปรับแต่งมาตรฐานจำนวน 2 ระดับ ทำซ้ำอัตโนมัติระดับละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย สารปรับแต่งมาตรฐานที่ใช้สอบเทียบประกอบด้วย

- Standard 1: H_2O (sterile distilled water for injection)
- Standard 2: Calibrator for automated system (C.f.a.s)

9.2 **วิธีการสอบเทียบ**

9.2.1 ตรวจสอบรุ่นการผลิต (Lot) ของ C.f.a.s ที่เตรียมจะใช้งาน Lot ที่จะใช้งานต้องตรงกับLot ที่เคย download ข้อมูลการกำหนดค่า AST เก็บไว้ในเครื่อง cobas c 501 ถ้าหาก Lot ที่จะใช้งานไม่ตรงกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ให้ download ข้อมูล C.f.a.s Lot ใหม่ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby โดยปฏิบัติตามหัวข้อ “การตรวจสอบ lot และการ download calibrator” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

9.2.2 นำขวดที่บรรจุผง C.f.a.s มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10-20 นาที แล้วละลายด้วยน้ำกลั่น 3 mL โดยใช้ Volumetric pipette ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันโดยการแกว่งสารละลายร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้าม ผสมด้วยเครื่อง Mixer เพื่อป้องกันโปรตีนถูกทำลายโดยเฉพาะเอนไซม์จะสูญเสีย Activity ไปได้ จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหงายขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้อง หรือแบ่งเก็บที่อุณหภูมิ (-25 °C) – (-20 °C) ใน Hitachi cup 300-500 ไมโครลิตร /cup กรณีมีการนำ C.f.a.s. ที่เก็บแช่แข็งไว้มาใช้งาน ให้นำออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10-20 นาที หรือจนกว่าจะหายเย็น แล้วจึงผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์

9.2.3 บรรจุน้ำกลั่นประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample cup(Hitachi cup) แล้วใส่ลงไปในช่องที่ติดฉลากว่า “H_2O” ของ Rack สีดำ

9.2.4 บรรจุ C.f.a.s ที่ละลายจนพร้อมใช้งานแล้วประมาณ 300-500 ไมโครลิตรลงใน Sample cup(Hitachi cup) ใส่ลงไปใน Rack สีดำอันเดียวกันกับในข้อ 9.2.3 แล้วทำการ calibrate น้ำยาโดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ calibration” ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

10.1 **วิธีการเตรียมเครื่องมือ น้ำยา และตัวอย่างตรวจ ก่อนการตรวจวิเคราะห์**

10.1.1 **วิธีการเตรียมเครื่องมือ**

- ผู้ตรวจวิเคราะห์จะทำ Daily begin เวลา 06.00 น.
- ลงชื่อเข้า(Operator ID) และรหัสผ่าน(Password) เพื่อเข้าใช้งานระบบ (logon)เครื่องตรวจวิเคราะห์ cobas 6000
- ตรวจสอบปริมาณน้ำยา Auxiliary ที่บรรจุในรูปแบบ cassette ได้แก่ NaOH-D cassette, SMS cassette, 9%NaCl cassette ที่เหลือในเครื่อง ถ้าปริมาณน้ำยาต่ำกว่า

ระดับที่กำหนดไว้ หน้าจอจะแสดงพื้นหลังรายการน้ำยานั้นเป็นสีม่วง ให้ใส่น้ำยา cassette ใหม่เข้าไปแทน

- ตรวจสอบปริมาณและเติมน้ำยา Auxiliary อื่นๆ ได้แก่ NaOH-D, Cell Detergent 1, Acid Wash Solution, Cell Detergent 2 ถ้าปริมาณน้ำยาต่ำกว่าระดับที่กำหนดไว้ หน้าจอจะแสดงพื้นหลังรายการน้ำยานั้นเป็นสีม่วง ให้ใส่น้ำยาขวดใหม่เข้าไปแทน

10.1.2 วิธีการเตรียมน้ำยา (reagent preparation)

- นำ Cassette น้ำยา ASTLP ออกจากตู้เย็น แกะพลาสติกออก ระวังไม่ให้มือหรือน้ำสัมผัสแถบ barcode
- เขียนวันเปิดใช้บน Cassette น้ำยา ASTLP ก่อนนำเข้าเครื่อง และลงบันทึกการเปิดใช้น้ำยาแต่ละ Cassette ในแบบบันทึกการนำออกมาใช้งานน้ำยา สารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิง สารควบคุม และสิ่งอุปกรณ์อื่นๆ (FM-LAB- 187)
- นำ Cassette น้ำยา ASTLP ใส่เครื่อง โดยหัน barcode ไปทางด้านขวา สอดเข้าตรง cassette loading port ดันเข้าไปเบาๆ ให้สุด ห้ามใส่น้ำยาเข้าไปในเครื่องขณะเครื่องอยู่ในสถานะ preparation เครื่องจะเจาะรูที่ฝาน้ำยาและนำไปเก็บใน reagent disk พร้อมกับ register น้ำยาโดยอัตโนมัติ โปรแกรมของระบบเครื่องมือจะเริ่มนับอายุของน้ำยาถอยหลังจนถึงวันหมดอายุที่กำหนดไว้ 12 สัปดาห์

10.1.3 การเตรียมตัวอย่างตรวจ

- สิ่งส่งตรวจต้องไม่อยู่ในลักษณะเข้าเกณฑ์ปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
- สิ่งส่งตรวจมีสารรบกวนปฏิกิริยาได้ไม่เกินตามรายละเอียดในหัวข้อที่ 13 สารรบกวนการทดสอบ
- เมื่อปั่นแยกสิ่งส่งตรวจได้ Serum/Plasmaแล้ว ที่ด้านบนผิวของสิ่งส่งตรวจต้องไม่มีฟองหรือก้อนไฟบรินลอยอยู่ และควรมีส่วนของ Serum/Plasma อย่างน้อย 500 µL

10.2 ถ้ายังไม่มีการสอบเทียบน้ำยา ASTLP Lot ที่ใช้งานอยู่ ให้ดำเนินการตามข้อ 9.

10.3 ถ้ายังไม่มีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรอบวันนั้น ให้ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 11.

10.4 นำตัวอย่างผู้ป่วยเข้าเครื่อง cobas c 501 ผ่าน core unit ของเครื่อง cobas 6000 analyzer series โดยสามารถใช้ Primary tube ขนาด 13x75 mm. ที่มีตัวอย่างในส่วนที่เป็น Serum/Plasma ไม่น้อยกว่า 500 ไมโครลิตร(sample dead volume 500 µL) วางบน Rack สีเทา(กรณีไม่เร่งด่วน) หรือ Rack สีแดง(กรณีต้องการผลด่วน) หรือใช้ Automatic pipette ดูดตัวอย่างไม่น้อยกว่า 100 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 µL) ใส่ใน Sample cup (Hitachi cup) วางบน Rack

10.5 สั่งทำการตรวจวิเคราะห์และเรียกดูผลตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065) โดยเครื่อง cobas c 501 จะทำการตรวจวิเคราะห์ AST ด้วยระบบอัตโนมัติ ตาม Test parameter/definition ที่กำหนดไว้ ดังนี้

<u>AST test definition</u>

Assay type	Rate A
Reaction time / Assay points	10 / 54-70
Wavelength (sub/main)	700/340 nm

Reaction direction	Decrease		
Units U/L	(µkat/L)		
Reagent pipetting		Diluent (H_2O)	
R1	40µL	51 µL	
R2	20 µL	–	
R3	20 µL	20 µL	
Sample volumes	Sample	Sample dilution	
		Sample	Diluent (NaCl)
Normal	9 µL	–	–
Decreased	9 µL	15 µL	135 µL
Increased	9 µL	–	–

Calibration

Calibrators	S1: H_2O
	S2: C.f.a.s.
Calibration mode	Linear
Calibration frequency	2-point calibration
	- after reagent lot change
	- as required following quality control Procedures

10.6 รายงานผลการวิเคราะห์ที่ได้หน่วยเป็น U/L ในกรณีที่ค่าสูงเกิน 700 U/L ให้นำตัวอย่างออกมาจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องอีกครั้งเพื่อสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะ dilute อัตโนมัติ 1:10 เมื่อตรวจเสร็จจะแสดงค่า AST ที่คูณด้วย 10 ให้เรียบร้อย

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

11.1 ข้อกำหนดในการควบคุมคุณภาพ

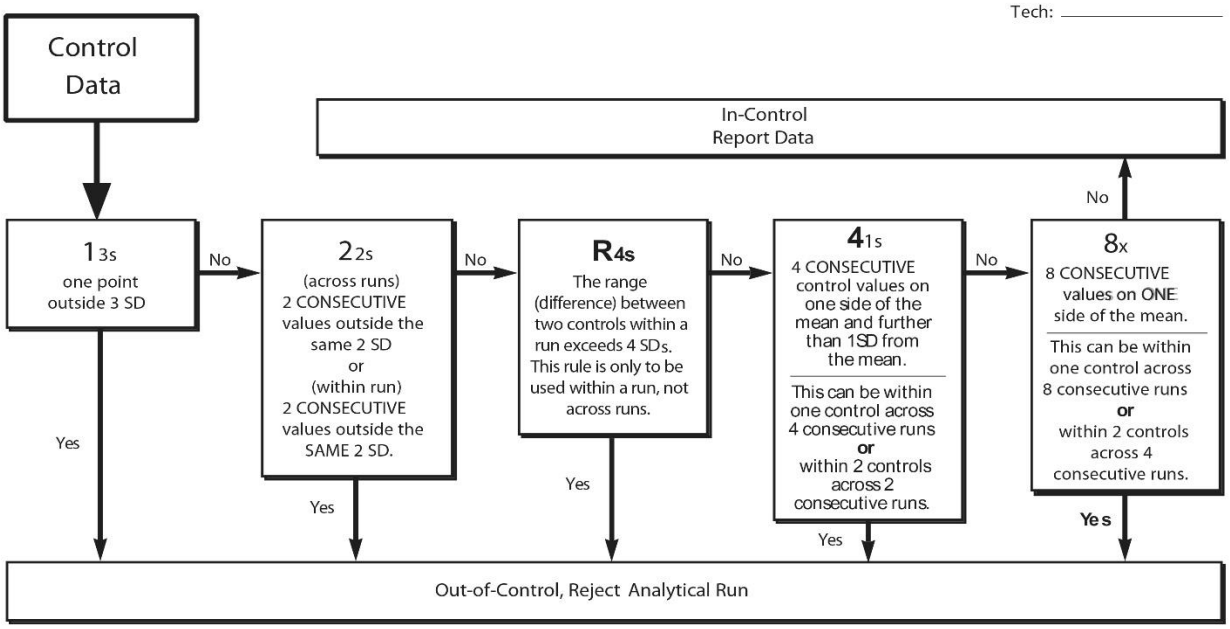
ให้อ้างอิงจากระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

11.1.1 เกณฑ์การตัดสินผลการควบคุมคุณภาพภายใน ให้พิจารณาเลือกใช้กฎบางกฎที่แนะนำไว้ใน Modern “Westgard Rules” ได้แก่ 1-3S, 2-2S หรือ 2of3-2S, R-4S ร่วมกับเกณฑ์ between run CV≤0.33TEa และ Peer group SDI ≤ 1 โดยการติดตามตรวจสอบและประเมินผลการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจวิเคราะห์ AST ใน Quality control chart(Levey-Jennings chart) ที่สร้างขึ้นมาจากการหาค่า Mean, SD ของห้องปฏิบัติการ

Modern "Westgard Rules": N's of 2 and 4

Date: _____

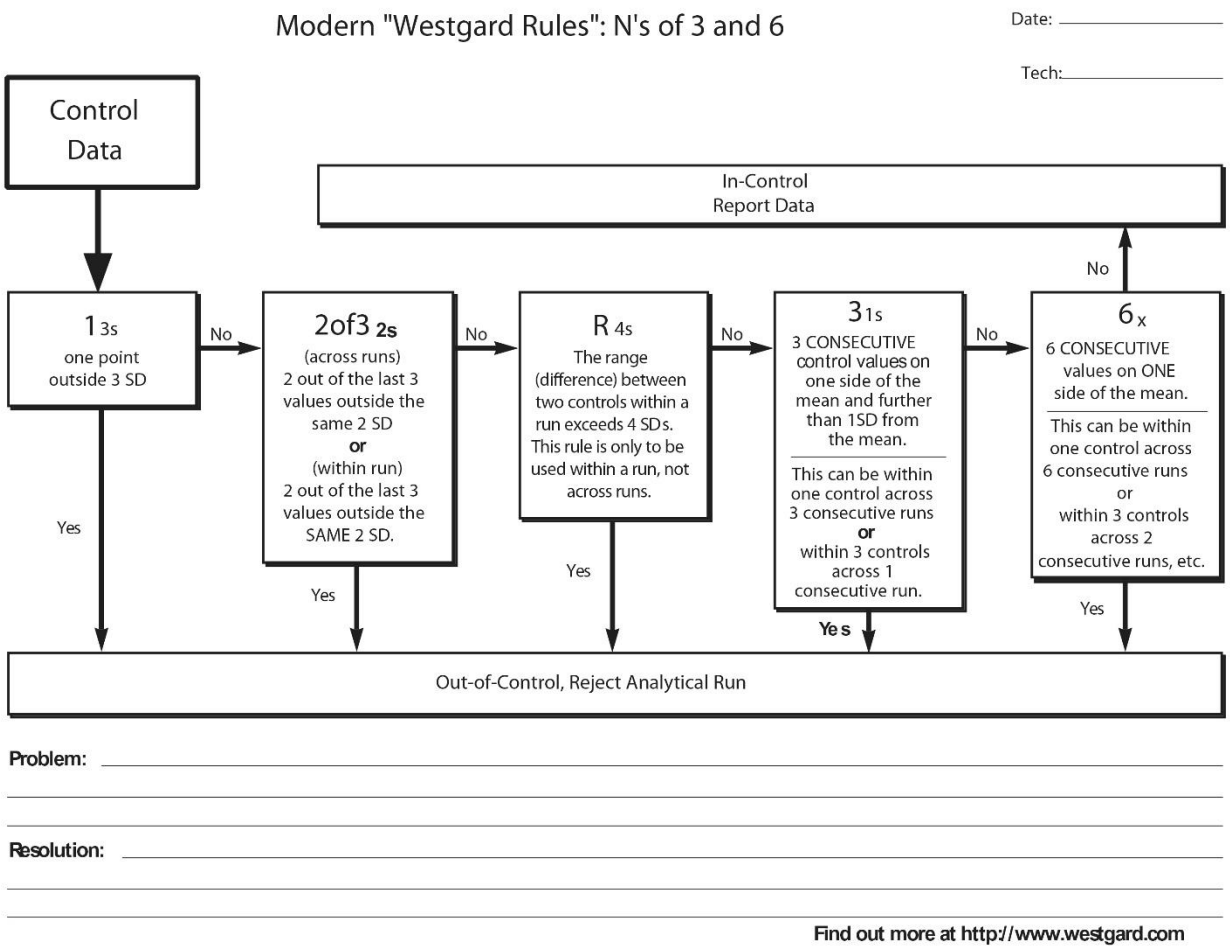
Tech: _____



Problem: _____

Resolution: _____

Find out more at http://www.westgard.com



11.1.2 PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 เป็นสารวัสดุควบคุมคุณภาพชนิดซีรัมแห้ง ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Roche ขนาดบรรจุขวดละ 5 mL ใช้ตรวจวิเคราะห์ ASTทั้ง 2 ระดับทันทีหลังจากทำ Daily End maintenance เครื่อง cobas c 501(ได้แก่ การทำ Clean probe and nozzles+Process green wash rack) แล้วเสร็จในช่วงเวลาประมาณ 15.00-18.00 น. ของแต่ละวัน ความถี่วันละ 1 ครั้ง

11.1.3 ใช้ค่า Allowable total error(TEa) ของการทดสอบ AST = ±15% (อ้างอิงจาก CLIA 2019)

11.1.4 ติดตามค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision)โดยใช้เกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ between-run CV ต้องไม่เกิน 5%

11.1.5 คุณภาพ PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ที่เป็นผงซีรัมแห้ง(Lyophilized serum) ก่อนละลายให้นำขวดบรรจุซีรัมแห้งนี้มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน 10-20 นาที จนมั่นใจว่าได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง และในเวลาเปิดฝาขวดให้เปิดด้วยความระมัดระวัง เพราะการบรรจุขวดใช้ระบบสุญญากาศ ถ้าเปิดทันทีจะทำให้ผงซีรัมแห้งที่อยู่ภายในขวดปลิวออกมาได้ ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นไม่ถูกต้อง ใช้ Volumetric pipette ดูดจ่ายตัวทำละลาย(น้ำกลั่น) 5 mL ลงไปละลายผงซีรัมแห้ง ปิดฝาขวดให้สนิท ตั้งขวดทิ้งไว้ 10-20 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันโดยการแกว่งสารละลาย

ร่วมกับหมุนขวดเบาๆ ให้เป็นวงกลมโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ห้ามผสมด้วยเครื่อง Mixer เพื่อป้องกันโปรตีนถูกทำลายโดยเฉพาะเอนไซม์จะสูญเสีย Activity ไปได้ จากนั้นวางขวดคว่ำไว้อีก 5-10 นาที เมื่อครบเวลาให้ผสมให้เข้ากันจนส่วนที่เป็นผงละลายหมดแล้วจึงหงายขวดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกประมาณ 15-30 นาที เพื่อให้สารที่ละลายช้าละลายให้สมบูรณ์ เสร็จแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งก่อนนำไปใช้งานที่อุณหภูมิห้องหรือแบ่งเก็บที่อุณหภูมิน้อยกว่าเท่ากับ -20 °C ถ้ามีการแบ่งเก็บในช่องแช่แข็ง (-20 °C) – (-25 °C) หรือ 2-8 °C ก่อนนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ต้องนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10-20 นาที เพื่อให้ได้อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้องก่อน และให้ใช้แนวทางเดียวกันนี้ในการละลาย Calibrator

11.2 วิธีการควบคุมคุณภาพ

11.2.1 ตรวจสอบ Lot ของสารวัสดุควบคุมคุณภาพระหว่าง Lot ที่จะใช้งานกับ Lot ที่มีอยู่ในเครื่อง ถ้า Lot ไม่ตรงกันให้ download ข้อมูลของสารวัสดุควบคุมคุณภาพให้ตรงกันกับ Lot ใหม่ ในขณะที่เครื่องอยู่ในสถานะ Standby เท่านั้น

11.2.2 เตรียมสารวัสดุควบคุมคุณภาพ(control material) ให้พร้อมใช้ตามวิธีการที่ผู้ผลิตกำหนดไว้ในเอกสารแนบของสารวัสดุควบคุมคุณภาพที่ใช้งาน

11.2.3 บรรจุสารวัสดุควบคุมคุณภาพปริมาตร 300-500 ไมโครลิตร(sample dead volume 100 uL) ลงใน Sample cup (Hitachi cup) แล้วนำไปวางใน Rack สีขาว ในตำแหน่งที่กำหนดไว้

11.2.4 สั่งให้เครื่องทำ control โดยการปฏิบัติตามหัวข้อ “การทำ Control” ในคู่มือปฏิบัติงาน Operator s manual cobas 6000 analyzer series(MN-LAB-065)

11.2.5 ติดตามตรวจสอบผล IQC ของการทดสอบ ASTด้วยกฎการควบคุมคุณภาพ(control rule) ตาม QC procedure ที่กำหนดไว้อย่างสม่ำเสมอต่อเนื่องด้วยข้อมูลที่เป็นกราฟ ให้ติดตามแนวโน้ม ความเสี่ยงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เพื่อเตรียมการแก้ไขและป้องกันก่อนทำการทดสอบตัวอย่างผู้ป่วย ดังนี้

- การติดตามผล IQC จากผลการตรวจวิเคราะห์PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2 ให้ติดตามตรวจสอบผล IQC เบื้องต้นของการตรวจ AST ในรูปแบบกราฟผ่าน control unit ของเครื่อง cobas 6000 ได้ 3 รูปแบบที่เมนู QC > run status (แสดงผล QC ของทุก test ในกราฟเดียวกัน แสดงค่าของแต่ละ test ว่าตกอยู่ในขอบเขต mean± 2SD หรือไม่), QC > individual(ใช้ตรวจสอบผล IQC โดยละเอียดเป็นราย test มีกราฟแบบ Levey-Jennings chart) และ QC > cumulative (คล้ายหน้า individual เป็นข้อมูลในหน้า individual ซึ่งถูกเลือกเป็นตัวแทนมาเก็บไว้ที่หน้า cumulative)

- ติดตามตรวจสอบผล IQC ให้ละเอียดมากขึ้นใน Levey-Jennings chart สำหรับการตรวจวิเคราะห์ AST โดยใช้โปรแกรม TIQCon (Total Integrated Quality Control

for clinical laboratory)ผลิตภัณฑ์ Roche ช่วยประมวลผล รวมถึงการเปรียบเทียบผลกับ Peer group และ ตรวจสอบผล IQC แบบอัตโนมัติตาม control rule ที่กำหนดไว้

11.2.6 เมื่อผลการทำ IQC มีการละเมิดกฎการควบคุมคุณภาพ (out of control) และผลการทดสอบ ASTมีแนวโน้มที่จะผิดพลาดทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญให้ผู้จัดการคุณภาพพิจารณาสั่งดออกผลการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและผู้เกี่ยวข้องร่วมกันดำเนินการแก้ไขและทวนสอบลักษณะประสิทธิภาพ ลงบันทึกรายละเอียดการปรับปรุงแก้ไขที่ทำไปเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล IQC ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-025)

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory comparisons)

12.1 ห้องปฏิบัติการเข้าร่วม EQAS Clinical Chemistry(Monthly) Program เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ AST ระหว่างห้องปฏิบัติการ ซึ่งให้บริการโดย BIO-RAD Laboratories มีกำหนดการสมัครสมาชิกปีละ 1 ครั้ง ควรสมัครสมาชิกในห้วงไม่เกินเดือนมิถุนายนของทุกปี ความถี่ในการประเมินเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-มิถุนายน รวม 12 ครั้ง/ปี

12.2 ผู้ตรวจวิเคราะห์ที่รับผิดชอบงานตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในขณะนั้นดำเนินการตรวจวิเคราะห์หาค่า ASTร่วมกันกับรายการทดสอบอื่นๆในตัวอย่างจากโปรแกรม EQAS โดยการตรวจพร้อมกันไปกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยในงานประจำวันไม่เกินวันกำหนดส่งรายงานที่ระบุไว้บนฉลากข้างขวดบรรจุตัวอย่าง 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 ตรวจสอบผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจ AST โดยใช้เกณฑ์และเป้าหมายดังนี้

- Absolute Z-score เกณฑ์ผ่าน < 3.0, เป้าหมายที่ต้องการ < 1.5
  Z-score เป็นการวัดข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ ALT ของห้องปฏิบัติการว่าห่างจากค่าเฉลี่ยของ peer group เป็นกี่เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peer group
- TE < TEa, เมื่อ TEa = ±15% (CLIA 2019), %TE=%Bias+1.65%CV
- Bias < Bias goal, เมื่อ Bias goal = 6.75%

12.6 ผู้จัดการวิชาการเคมีคลินิกและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องหารือกันเมื่อผลการประเมิน EQAS การทดสอบ AST ไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด วิเคราะห์สาเหตุที่แท้จริง ดำเนินการปฏิบัติการแก้ไขเพื่อป้องกันการเกิดซ้ำ และบันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (Interferences)

Criterion: Recovery within ± 10 % of initial value at an AST activity of 35 U/L

13.1 ซีรั่ม/พลาสมา ที่มีส่วนประกอบต่อไปนี้ไม่รบกวนการทดสอบ

ลักษณะ ซีรั่ม/พลาสมา		ปริมาณของส่วนประกอบ	การเกรดปริมาณ
Icterus	I index ≤ 60	unconjugated bilirubin และ conjugated bilirubin ≤ 60 mg/dL	4+
Hemolysis	H index ≤ 20	hemoglobin ≤ (20 mg/dL)	1+
Lipemic (Intralipid)	L index ≤ 150	L index หรือความขุ่น ไม่สัมพันธ์กับปริมาณ Triglyceride	1+

13.2 การปนเปื้อนของเม็ดเลือดแดงจะทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีค่าสูงเกินกว่าความเป็นจริงเพราะ analyte level ในเม็ดเลือดแดงมีค่าสูงกว่าใน normal serum ส่วนระดับของการปนเปื้อนจะขึ้นอยู่กับปริมาณ analyte ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง

13.3 Lipemic sample อาจส่งผลให้เกิด >ABS alarm ดังนั้นควรตั้ง dilute sample ใน automatic rerun mode

13.4 ไม่พบการรบกวนของ Drug เมื่อทำทดสอบด้วย Common drug panels ยกเว้น Calcium dobesilate จะส่งผลให้เกิดผลต่ำปลอมของ ALT

13.5 ใน rare case ของ gammopathy โดยเฉพาะ IgM type (Waldenström's macroglobulinemia) อาจส่งผลให้ผลการ ตรวจวิเคราะห์ไม่น่าเชื่อถือ

14. หลักการของของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องอาทิความไม่แน่นอนของการวัด (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)

14.1 เครื่อง cobas c 501 จะคำนวณค่า analyte activity ของ AST ในแต่ละตัวอย่างตรวจให้โดยอัตโนมัติ

14.2 Conversion factor: U/L x 0.0167 = µkat/L

14.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด AST ให้ปฏิบัติตาม "หัวข้อ 4.4 การตรวจสอบความไม่แน่นอนของการวัดจากค่าเชิงปริมาณ ในระเบียบปฏิบัติงานเรื่อง การจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)" ลงบันทึกไว้ใน "ตารางการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดในการทดสอบเชิงปริมาณวิเคราะห์(FM-LAB-281)"

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

Expected Values: ชาย < 50 U/L
หญิง < 35 U/L

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

ค่า Analytical Measurement Range ของ AST เท่ากับ 5 - 700 U/L

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

ถ้าผลการทดสอบ AST >700 mg/dL เครื่อง cobas c 501 ที่มีการตั้ง automatic rerun function ไว้ เมื่อนำตัวอย่างออกจากเครื่องแล้วนำเข้าเครื่องและสั่งตรวจใหม่ เครื่อง cobas c 501 จะเจือจางสิ่งส่งตรวจในอัตราส่วน 1:10 ผลที่ได้เครื่องจะคำนวณโดยคูณ dilution factor = 10 ให้โดยอัตโนมัติ

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 : การพบค่า AST ต่ำกว่าช่วงค่าปกติ อาจเกิดจาก

- อาจเป็น 5% ของกลุ่มคนสุขภาพดีที่ไม่อยู่ในช่วงค่าอ้างอิงของคนสุขภาพดีส่วนใหญ่
- Activity ของ AST อาจต่ำในตัวอย่างตรวจจากผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังซึ่งอาจไม่เกี่ยวข้องกับระดับวิตามินบี 6

19.1.2 ค่า AST สูง : เนื่องจาก AST เป็นเอนไซม์ที่พบมากในเนื้อเยื่อตับ หัวใจ และกล้ามเนื้อ พบในปริมาณต่ำๆ ในไต ตับอ่อน ไต และเม็ดเลือดแดง ดังนั้นค่าเอนไซม์ที่สูง จึงพบได้ในโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อเหล่านี้ ค่า AST จะแสดงค่าสูงมากหรือน้อยตามจำนวนเซลล์ที่มีเอนไซม์นี้ที่บาดเจ็บหรือเสียหาย ค่า AST จะเริ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 8 ชั่วโมงจากเซลล์ตับที่ได้รับอันตรายจนบาดเจ็บ เช่น กรณีเซลล์ตับรับพิษจากเห็ดมีพิษ ยาบางตัว หรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์) เป็นต้น AST จะขึ้นสูงสุดภายใน 24-36 ชั่วโมง และภายใน 3-7 วัน จะลงสู่ระดับปกติ แต่ถ้าการบาดเจ็บของเซลล์ตับยืดเยื้อเรื้อรัง เช่น พิษสุราเรื้อรัง หรือติดเชื้อไวรัสตับอักเสบเรื้อรัง จะพบค่าของ AST ยังคงสูงอยู่ต่อไป ส่วนกรณี AST สูงในโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด(myocardial infarction, MI) ซึ่งเกิดจากเซลล์หัวใจได้รับบาดเจ็บเสียหายจากการที่กล้ามเนื้อหัวใจได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอ ต้องพิจาณาค่าจากผลการตรวจ CK และ LDH ร่วมด้วย

19.1.2.1 ค่า AST สูงไม่มาก

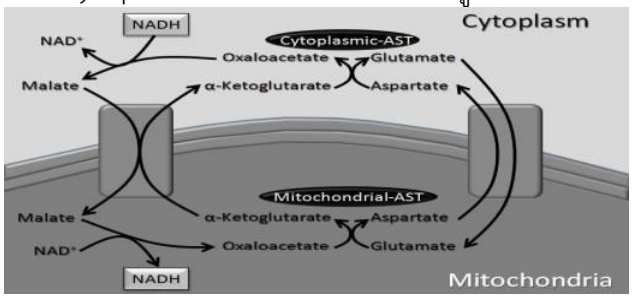
- การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากเป็นประจำ
- ตับติดเชื้อ แล้วมีการอักเสบเรื้อรัง
- Infectious mononucleosis
- นิ่วในถุงน้ำดี ท่อน้ำดีอุดตัน มะเร็งท่อน้ำดี
- มะเร็งระยะแพร่กระจายที่เริ่มมาถึงตับ
- การใช้ยารักษาโรค ยาสมุนไพร สารอาหารเสริมบางชนิด เช่น ยาลด cholesterol ยารักษาเชื้อรา ยาเสพติด แอสไพริน

19.1.2.2 ค่า AST สูงเกิน 2 เท่าของค่าปกติ บ่งชี้สภาวะหรือโรคต่างๆ ดังนี้

- AST สูง 2 – 5 เท่าของค่าปกติ พบได้ใน โรคตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน มะเร็งตับระยะแพร่กระจาย โรคหลอดเลือดปอดอุดตัน สภาวะการถอนพิษจากการหยุดดื่มแอลกอฮอล์ โรคไขมันพอกตับ(fatty liver disease)
- AST สูง 5 – 10 เท่าของค่าปกติ พบได้ในผู้ที่กำลังเป็นโรคไวรัสตับอักเสบเรื้อรัง, กล้ามเนื้อลีบ(muscular dystrophy)
- AST สูง 10 – 20 เท่าของค่าปกติ พบได้ใน Severe myocardial infarction, Infectious mononucleosis ที่เป็นรุนแรง, โรคตับแข็งจากพิษสุราเรื้อรัง
- AST สูงกว่า 20 เท่าของค่าปกติ พบได้ใน การอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสอย่างเฉียบพลัน, skeletal muscle ได้รับบาดเจ็บฟกช้ำอย่างรุนแรงหรือภายหลังการรับผ่าตัดใหญ่, เกิดพิษต่อตับจากยารักษาโรค, เกิดการอุดตันภายในตับ

19.1.3 การแตกของเม็ดเลือดแดง จะปล่อย AST ออกจากเซลล์เม็ดเลือด มีเงื่อนไขต่างๆ มากมายที่อาจทำให้เกิดการทำลายเม็ดเลือดแดงอย่างผิดปกติ ได้แก่ โรคแพ้ภูมิตัวเอง(autoimmune disease) มาลาเรีย และม้ามโต เป็นต้น

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



19.1.5 ครึ่งชีวิต(half-life) ของ AST = 17±5 ชั่วโมง

19.2 การแปลผลโดยพิจาณาอัตราส่วนระหว่าง AST กับ ALT

DeRitis 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 ASTLP cassette อันใหม่
- มีฟองอากาศ ปริมาตรไม่เพียงพอ
- เก็บรักษา ASTLP cassette โดยไม่ตั้งให้ตรงอาจทำให้เกิดฟองอากาศ

20.2 สารสอบเทียบ (Calibrator)

- เทคนิคการละลาย เช่น ละลายผิดสัดส่วน, เทคนิคในการเตรียมผิดพลาด (การไปเปตต์, ระยะเวลาในการละลายสั้นหรือยาวเกินไป(ควรใช้ระยะเวลาในการละลายประมาณ 40 นาทีโดยใช้เทคนิคตามคำแนะนำของผู้ผลิต), การละลายสารสอบเทียบที่แช่แข็งให้ได้อุณหภูมิห้อง(freeze-thaw)ใช้เวลานานเกินไปหรือเร็วเกินไป, ตัวทำละลายสกปรก(ควรใช้ Purified Water Diluents หรือ reagent grade water), ความไม่เป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากผสมให้เข้ากันไม่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมไปจนถึงการผสมให้เข้ากันไม่ดีก่อนการตรวจวัดค่าของ calibrator
- มีการระเหยเนื่องจากการบรรจุ calibrator ปริมาณน้อยใน sample cup ร่วมกับการตั้งทิ้งไว้นานหรือนำ Calibrator ที่เหลือซึ่งผ่านการใช้แล้วมาใช้สอบเทียบซ้ำอีก
- เปลี่ยน lot ใหม่
- เสื่อมสภาพหรือหมดอายุ
- มีฟองอากาศ
- ใช้ Blank ไม่เหมาะสม

20.3 เครื่องมือ (Analyzer)

- แหล่งกำเนิดแสง (source lamp) เสื่อมตามอายุการใช้งาน (ควรเปลี่ยนทุกๆ 1 เดือน)
- ท่อนำส่งน้ำยาที่ต่อเชื่อมกับ reagent probe อุดตัน ตีบ ขาดความยืดหยุ่น
- Cuvette สกปรก
- probe สกปรก
- กระแสไฟฟ้าไม่คงที่
- เลยเวลา Calibration (วงรอบการทำ re-calibration ไม่เกิน 90 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 Hitachi cup/Hitachi micro cup

21. เอกสารอ้างอิง (references)

21.1 ใบแทรกน้ำยา ASTLP (PI-LAB-018)

21.2 คู่มือปฏิบัติงานเรื่อง Operator's manual cobas 6000 analyzer series (MN-LAB-065)

21.3 ใบแทรกสารเทียบ Calibrator f.a.s. (PI-LAB-110)

21.4 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)

21.5 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)

22. ภาคผนวก

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-018 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง **การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)**

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายสิปปนนท์ฯ
1 พ.ย. 63	1	แก้ไขทั้งฉบับ	นายสิปปนนท์ฯ
1 ก.ย. 64	1	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์
1 ก.ย. 65	2	แก้ไขข้อ 7.5 สารวัสดุควบคุมคุณภาพ ยกเลิกหัวข้อ 7.5.1 แก้ไขข้อ 11 ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ ยกเลิกข้อ 11.1.2, 11.1.7 และ 11.2.5.2 แก้ไขข้อ 21 เอกสารอ้างอิง ยกเลิกข้อ 21.4	นายสิปปนนท์
1 ก.พ. 66	2	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	นายสิปปนนท์

แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง
การตรวจ ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST)

WI-LAB-018

แก้ไขครั้งที่ .....

ผู้จัดทำ

(นายสิปปนนท์ ศรีวะรมย์)
ผู้จัดการวิชาการสาขาเคมีคลินิก
...../...../.....

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการคุณภาพ
...../...../.....

ผู้อนุมัติ พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
...../...../.....

วันที่ประกาศใช้: **(วัน) (เดือน) (ปี)**