

ค่าอ้างอิงของสารชีวเคมีที่ใช้ทดสอบการทำงานของไต blood urea nitrogen และ creatinine จาก ลิเทียมเฮปารินพลาสมาในคนปกติ

ยุทธนา สุดเจริญ¹

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

1 ถนนอุทงนอก แขวงวชิระ เขตดุสิต กรุงเทพฯ 10300 โทรศัพท์ 02-160-1143-5 E-mail: reefandyut@yahoo.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เพื่อกำหนดค่าอ้างอิงของสารชีวเคมีในเลือดที่ใช้ทดสอบการทำงานของไต คือ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine จากลิเทียมเฮปารินพลาสมาของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 120 ราย ซึ่งวิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 และเปรียบเทียบระหว่างค่าอ้างอิงที่กำหนดขึ้นกับค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต จากผลการศึกษาพบว่าค่าอ้างอิงของ creatinine (ผู้ชาย = 0.71-1.02 mg/dL, ผู้หญิง = 0.48-0.87 mg/dL) และ BUN (6.2-17.0 mg/dL) จากลิเทียมเฮปารินพลาสมาสอดคล้องกับ (corresponding) กับค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต (manufacturer reference values) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าอ้างอิงจากการศึกษานี้กับห้องปฏิบัติการอื่นที่วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Olympus AU640 โดยใช้หลักการวิเคราะห์แตกต่างจาก Cobas c111 พบว่ามีความสอดคล้องกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.0001$) อย่างไรก็ตาม ค่าอ้างอิงอาจมีความแปรปรวนได้จากปัจจัยหลายประการ เช่น จำนวนของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี การเก็บและเตรียมสิ่งส่งตรวจ เป็นต้น ดังนั้น ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งควรกำหนดค่าอ้างอิงขึ้นเอง เพื่อใช้ในการประกอบการวินิจฉัยโรคที่แม่นยำ แสดงถึงมาตรฐานของห้องปฏิบัติการนั้นๆ อีกด้วย

คำสำคัญ: ค่าอ้างอิง, การทดสอบการทำงานของไต, เคมีคลินิก
ครีเอตินีน, ยูเรียไนโตรเจน

Abstract

Aims of this study were established reference values of biochemical analytes, blood urea nitrogen (BUN) and creatinine for renal function test from Lithium-heparinized (LH) plasma samples, which were collected from 120 healthy volunteers and then analyzed with Cobas c111 automatic analyzer (Roche diagnostics), and compared new reference values with manufacturer reference values. Finding was revealed that reference values for creatinine (male = 0.71-1.02 mg/dL, female = 0.48-0.87 mg/dL) and BUN (6.2-17.0 mg/dL) were significantly corresponded to manufacturer reference values ($p < 0.0001$) and also significantly corresponded to reference values from different principle of tests, Olympus AU640 automatic analyzer in other laboratories ($p < 0.0001$). However, reference values may concern by effects of various factors, such as number of healthy

volunteers, sample collection, sample preparation, etc. Thus, each laboratory should have own reference values for accurate clinical diagnosis, support patient's care and laboratory standard.

Keywords: reference values, renal function test, Clinical chemistry, creatinine, blood urea nitrogen (BUN)

1. บทนำ

การตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีทางคลินิก หรือเคมีคลินิก (Clinical biochemical tests or clinical chemistry) สามารถใช้ในการวินิจฉัยโรค (clinical diagnosis) ทำนายความรุนแรงของโรค (clinical prognosis) และ ติดตามผลการรักษา (monitoring) สำหรับผู้ป่วยที่มาตรวจร่างกาย หรือเข้ารับการรักษา รวมถึงการตรวจสุขภาพประจำปี (annually health checkup) สำหรับผู้ที่มีสุขภาพดี การตรวจดังกล่าวนี้ เป็นการให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาของแพทย์เป็นอย่างมาก ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกนั้น ส่วนใหญ่มักแสดงค่าเป็นเชิงปริมาณ (quantitative data) ดังนั้นช่วงค่าอ้างอิง (reference range) หรือค่าปกติ (normal value) จึงมีบทบาทสำคัญมากที่แพทย์ใช้แปลผล (interpretation) ในการแยกผู้ป่วยออกจากผู้ที่มีสุขภาพปกติ อาจกล่าวได้ว่าผลการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างจากช่วงค่าอ้างอิง ถือว่าผู้ป่วยได้รับการตรวจนั้น ผิดปกติ หรือเป็นโรคนั่นเอง อย่างไรก็ตามการคิดค่าอ้างอิงนั้น ไม่ได้จากการคำนวณเพียงอย่างเดียว ด้วยเหตุผลนี้ องค์การเคมีคลินิกระหว่างประเทศ (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) จึงได้กำหนดค่าจำกัดความขึ้นมา คือ ค่าอ้างอิง (reference values) ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นสากล [1]

ซีรัม (serum) เป็นชนิดของตัวอย่างเลือดที่นิยมนำมาตรวจ หรือวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในงานประจำวัน การเตรียมซีรัมนั้น ต้องตั้งเลือดทิ้งไว้ 30-45 นาที เพื่อให้เลือดแข็งตัว (blood clotting) อย่างสมบูรณ์เสียก่อน แล้วจึงนำมาปั่นแยกซีรัม [2] ซึ่งหากการแข็งตัวของเลือดไม่สมบูรณ์ อาจทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) ที่ทำให้ผลการตรวจผิดพลาด หรือ เกิดลิ่มเลือดขนาดเล็ก (partial clotting) ที่ทำให้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติเสียหายจากการอุดตันของลิ่มเลือด

การตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ต้องการผลเร่งด่วน หรือการตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดในกรณีเก็บตัวอย่างเลือดได้จำกัด (microanalysis sample) เช่น ในเด็กเล็ก การวิเคราะห์โดยใช้ซีรัมอาจทำให้มีการเพิ่มระยะเวลาการรักษา (Therapeutic turnaround time, TAT) และอาจส่งผลกระทบต่ออาการกลับไปทำงานของผู้ป่วยได้ นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาล ต้องมีการประกันคุณภาพให้ได้มาตรฐาน (Quality Assurance, QA) เช่น

Hospital Accreditation (HA), ISO 15189 และ Laboratory Accreditation (LA) เป็นต้น ซึ่งการเตรียมตัวอย่างพลาสมาโดยใช้สารกันเลือดแข็ง แทนซีรัม เพื่อให้ได้ผลการตรวจที่รวดเร็วขึ้น เป็นการเพิ่มมาตรฐานการให้บริการด้านสุขภาพได้ แนวโน้มการใช้พลาสมาในงานเคมีคลินิกจึงมีอัตราเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ ยังสามารถใช้พลาสมาแทนซีรัม ในกรณีต้องการผลเร่งด่วนมากๆ เช่น ผู้ป่วยประสบอุบัติเหตุ, การผ่าตัด, ผู้ป่วยวิกฤติในหอผู้ป่วยหนัก (ICU), คลินิกผู้ป่วยเบาหวาน และหน่วยให้บริการเคลื่อนที่ (mobile health checking)

2. วัตถุประสงค์

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการกำหนดค่าอ้างอิงของสารชีวเคมีที่ทดสอบการทำงานของไต คือ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ของลิเทียมเฮปารินพลาสมา และเปรียบเทียบค่าอ้างอิงดังกล่าวกับค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อเสนอแนะในการใช้ค่าปกติของตัวอย่างลิเทียมเฮปารินพลาสมา ในการแปลผลทางห้องปฏิบัติการและการวินิจฉัยโรคของบุคลากรทางการแพทย์ได้

3. แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิดการวิจัย และ ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันตัวอย่างลิเทียมพลาสมาเฮปารินนิยมใช้ในการเร่งด่วน เช่นเดียวกับการตรวจกลูโคสในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน ตลอดจนการตรวจสารชีวเคมีอื่นๆ Shi และคณะ [3] พบว่าการใช้ลิเทียมเฮปารินร่วมกับโซเดียมฟลูออไรด์ และแยกพลาสมาออกจากเซลล์เม็ดเลือดทันที ให้ผลการวิเคราะห์กลูโคสดีกว่าการใช้โซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) ในการเตรียมพลาสมาเพียงอย่างเดียว

ถึงแม้ว่าการใช้สารกันเลือดแข็งมีประโยชน์หลายประการ แต่ผลการวิเคราะห์สารชีวเคมีทางห้องปฏิบัติการ ระหว่างซีรัม และพลาสมานั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จึงมีข้อถกเถียงกันระหว่างนักเทคนิคการแพทย์ในประเด็นนี้ [4] และมีรายงานว่าค่าโปรตีนอัลบูมิน (albumin) ที่วิเคราะห์จากลิเทียมเฮปารินพลาสมานั้น ต่ำกว่าค่าโปรตีนอัลบูมินที่เตรียมจากซีรัม [5] ความแตกต่างระหว่างอัลบูมินในซีรัม และพลาสมาจึงพบได้จากการใช้สารกันเลือดแข็งชนิดอื่นเช่นเดียวกัน [6]

Donnelly และคณะ [7] ได้การรายงานการใช้หลอดทดลองเคลือบด้วยเฮปาริน (Lithium heparin coated tubes) ในงานประจำวันโดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Ektachem 500 R และในเมื่อไม่นานมานี้ก็มีการนำลิเทียมเฮปารินมาใช้ในการตรวจสารชีวเคมีในเลือด เนื่องจากสามารถปั่นแยกพลาสมาได้ทันที [8] โดยมีการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างซีรัม และพลาสมา ในการวิเคราะห์สารชีวเคมี 22 ชนิด โดยเก็บตัวอย่างจากอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีในกลุ่มตัวอย่างเดียวกัน (paired specimens) พบว่า ค่าสารชีวเคมี 3 ชนิดที่วิเคราะห์จากซีรัม และพลาสมา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เอนไซม์ amylase, เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) และ โฟสฟาเตส ซึ่งชี้ให้เห็นว่าค่าอ้างอิงของซีรัม และพลาสมาไม่สามารถใช้แปลผลทางห้องปฏิบัติการแทนกันได้ [9]

เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c 111 ทำงานแบบ continuous random access ซึ่งเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สาร

ชีวเคมีในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้หลายๆชนิด ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารชีวเคมีโดยใช้ตัวอย่างที่แตกต่างกันได้ เช่น ซีรัม พลาสมา ปัสสาวะ (urine) และ เลือดครบส่วน (whole blood สำหรับวิเคราะห์ HbA1c) เหมาะสำหรับจำนวนตัวอย่างน้อย (small throughput) สามารถวิเคราะห์ได้ครั้งละ 30 อย่างต่อวัน ซึ่งเหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการเคลื่อนที่ โรงพยาบาลชุมชน ห้องปฏิบัติการที่ให้ผลเร็ว (stat labs) และ ในกรณีฉุกเฉิน (emergency cases) [10]

ด้วยประเด็นที่กล่าวมาข้างต้น สรุปได้ว่า ลิเทียมเฮปารินพลาสมา และเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c 111 เป็นชนิดของตัวอย่าง และเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่มีความเหมาะสม สำหรับหน่วยตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเคลื่อนที่ (mobile labs) หรือห้องปฏิบัติการที่ต้องการรายงานผลการวิเคราะห์อย่างเร่งด่วน ซึ่งยังขาดข้อมูลที่เพียงพอสำหรับ ลิเทียมเฮปารินพลาสมาที่วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111

4. วิธีการดำเนินงาน

4.1 กลุ่มตัวอย่าง (Subjects)

อาสาสมัครได้มาจากผู้ที่มีสุขภาพดีจำนวน 120 คน (ประกอบด้วยชายและหญิงจำนวนละ 60 คน) โดยทราบจากข้อมูลส่วนตัวด้านสุขภาพ ประวัติการเจ็บป่วย และการตรวจร่างกาย อาสาสมัครได้เซ็นเพื่อยินยอมเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ โดยใช้เกณฑ์ต่อไปนี้

- เกณฑ์ที่อาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ (inclusion criteria)

เป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 20-50 ปี สัญญาณชีพปกติ (normal vital signs) ความดันโลหิตปกติ ผลการตรวจร่างกายปกติ (normal physical examination) [11]

- เกณฑ์ที่ต้องคัดออกจากโครงการวิจัย (exclusion criteria)

การใช้ยา (drug use), พักฟื้นหลังการผ่าตัด (recent surgery), ตั้งครรภ์ (pregnancy)

สูบบุหรี่ หรือดื่มสุรา, การออกกำลังกายก่อนมาเจาะเลือด, โรคอ้วน (obesity), ติดเชื้อชนิดต่างๆ ทางเลือด (blood borne infection) เช่น ไวรัสตับอักเสบบี หรือซี เอชวี ซิฟิลิส เป็นต้น ทั้งนี้ขั้นตอนการยินยอมของอาสาสมัครในการทำวิจัยครั้งนี้ ผ่านการรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (Research Ethnic Committees) แล้ว

4.2 การเตรียมตัวอย่าง

หลังจากให้อาสาสมัครแต่ละคนอดอาหารเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำจำนวน 8 ml นำเลือด 4 ml ใส่หลอดเก็บเลือดสำหรับซีรัม ส่วนอีก 4 ml ใส่หลอดเก็บเลือดสำหรับลิเทียมเฮปารินพลาสมา (lithium heparin 12-30 IU/ml of blood) จากบริษัท Greiner Bio-One [12]

4.3 เครื่องมือและน้ำยาสำหรับวิเคราะห์

วิเคราะห์สารชีวเคมีโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 (Roche Diagnostic GmbH, Germany) และชุดน้ำยาวิเคราะห์ (*in vitro* test kits) จาก Roche Diagnostics (Thailand) Ltd. สำหรับตรวจวิเคราะห์ creatinine (CRE) และ

blood urea nitrogen (BUN) โดยใช้สารปรับความพร้อมของเครื่องวิเคราะห์ (calibrator) คือ calibrator for automated system หรือ calibrator f.a.s. และควบคุมคุณภาพโดยใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ คือ precinorm universal plus control (PNU) และ precipath universal plus control (PPU) [10]

4.4 วิธีการทดลอง

ปั่นแยกพลาสมาทันที (3,000 rpm/5 min) พลาสมาส่วนซีรัมตั้งทิ้งไว้จนเลือดแข็งตัวสมบูรณ์ แล้วจึงแยกซีรัมออกมาพลาสมาและซีรัมที่แยกได้นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดอัตโนมัติ Cobas c111 (Roche Diagnostic, Switzerland) โดยวิเคราะห์ควบคู่ไปกับตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (control materials) ในระดับต่ำ และสูง ขั้นตอนวิเคราะห์ทำตามวิธีการของบริษัทผู้ผลิต

4.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS computer program version 11.0 (SPSS, Chicago, IL) ค่าอ้างอิงแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย (Means) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviations, SD) และ เปอร์เซ็นความแตกต่าง (%CV) แสดงค่าสถิติเป็นเชิงพรรณนา ส่วนการเปรียบเทียบของค่าปกติของ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ระหว่างลิเทียมเฮปารินพลาสมา และบริษัทผู้ผลิตมาวิเคราะห์โดยใช้สถิติ Chi-square และการแสดงความแตกต่างกันได้ $p < 0.05$

5. ผลการวิจัย (Results)

5.1 การประเมินคุณภาพของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111

เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติได้ประเมินความแม่นยำ (precision) และความถูกต้อง (accuracy) ตามข้อกำหนดของบริษัทผู้ผลิต ข้อมูลการการควบคุมคุณภาพของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 ได้แสดงไว้ดังตารางที่ 1 นอกจากนี้ยังแสดงถึง หลักการวิเคราะห์ (principle of methods) ช่วงที่สามารถวิเคราะห์ได้ (assay range) ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ (mean $\pm$ S.D.) controls และ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient variances, %CV) ของการวิเคราะห์ creatinine และ BUN ของ controls ซึ่งส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานนั้นยังมีค่าต่ำกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำของการทดลอง นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยของ creatinine และ BUN ของ controls ที่วัดได้นั้นยังอยู่ในช่วงที่กำหนดไว้โดยบริษัทผู้ผลิต ซึ่งแสดงถึงความถูกต้องของการวิเคราะห์เช่นกัน

5.2 ข้อมูลของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี

ข้อมูลของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีแสดงไว้ดังตารางที่ 2 ข้อมูลดังกล่าวประกอบด้วยค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ อายุ ดัชนีมวลกาย (body mass index, BMI) ความยาวของรอบเอว (waist circumference, WC) ค่าความดันโลหิตออกจากหัวใจ (systolic blood pressure, SBP) และ ค่าความดันโลหิตเข้าหัวใจ (diastolic blood pressure, DBP) ซึ่งแสดงไว้โดยแยกตามเพศ

ตารางที่ 1 ความแม่นยำของ (precision) เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 ของ blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine (CRE) จากการวิเคราะห์ สารควบคุมคุณภาพ (control material level I & II)

Analytes (Units)	Method	Level	Assay Range	Mean	SD	CV (%)
BUN (mg/dL)	Kinetic assay	I	8.6-19.6	21.0	0.45	2.13
		II	4.4-74.4	73.5	1.33	1.81
CRE (mg/dL)	Colorimetry	I	1.01-1.31	0.97	0.03	3.32
		II	3.63-4.41	3.89	0.05	1.39

*Note: BUN: blood urea nitrogen; CRE: creatinine.

Source: Method procedure of Roche Diagnostics-the Cobas c111 (Roche diagnostics, 2006)

ตารางที่ 2 Demographic data ของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี (n = 120)

Parameters (Units)	Male (n=60)		Female (n=60)	
	Mean ($\pm$ SD)	Ranges	Mean ($\pm$ SD)	Ranges
Age (years)	37 ($\pm$ 8.95)	20-50	36 ($\pm$ 8.19)	20-50
BMI (kg/m ²)	23 ($\pm$ 3.18)	18-25	21 ($\pm$ 2.81)	18-25
WC (cm)	78 ($\pm$ 8.06)	83-88	72 ($\pm$ 6.78)	71-77
SBP (mmHg)	120 ($\pm$ 11.78)	90-130	106 ($\pm$ 12.56)	90-130
DBP (mmHg)	78 ($\pm$ 10.20)	55-120	75 ($\pm$ 9.35)	55-120

5.3 ค่าอ้างอิง (reference values) ของ creatinine และ BUN จากลิเทียมเฮปารินพลาสมา

ค่าอ้างอิงจากลิเทียมเฮปารินพลาสมาของ creatinine และ BUN แสดงไว้ดังตารางที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับ (corresponding) กับค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต (manufacturer reference values) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)

ตารางที่ 3 ค่าอ้างอิงของ creatinine และ BUN จากการวิเคราะห์ ตัวอย่างลิเทียมเฮปารินพลาสมา เปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต

Analyte (Units)	Reference ranges		P-value
	Our study (n = 120)	Manufacturer (Cobas c111) Serum or Plasma	
CRE (mg/dL)	M=0.71-1.02	M=0.67-1.17	<0.0001*
	F=0.48-0.87	F=0.51-0.95	<0.0001*
BUN (mg/dL)	6.2-17.0	6.0-20.0	<0.0001*

Note: * = significance at $\alpha = 0.05$

Abbreviations: CRE: creatinine, BUN: blood urea nitrogen

6. อภิปรายผล

เมื่อเปรียบเทียบค่าอ้างอิงจากการศึกษานี้กับห้องปฏิบัติการอื่น (ตารางที่ 4) หน่วยซีรัมเคมีห้องปฏิบัติการคลินิกโรงพยาบาลตำรวจ กรุงเทพฯ ซึ่งวิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Olympus AU640 โดยใช้หลักการวิเคราะห์แตกต่างจาก Cobas c111 พบว่ามีความสอดคล้องกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.0001$) ซึ่งแสดงว่าสามารถใช้ค่าอ้างอิงแทนกันได้

ตารางที่ 4 ค่าอ้างอิงของ creatinine และ BUN จากการวิเคราะห์ตัวอย่างลิเทียมเฮปารินพลาสมา เปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงของห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลตำรวจ [13]

Analyte (Units)	Reference ranges		
	Our study (n = 120)	Olympus AU640	P-value
CRE (mg/dL)	M=0.71-1.02	0.48-1.11	<0.0001*
	F=0.48-0.87		<0.0001*
BUN (mg/dL)	6.2-17.0	8.0-20.0	<0.0001*

Note: * = significance at $\alpha = 0.05$.

Abbreviations: CRE: creatinine, BUN: blood urea nitrogen

อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ ค่าอ้างอิงอาจมีความแปรปรวนได้จากปัจจัยหลายประการ เช่น จำนวนของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี การเก็บและเตรียมสิ่งส่งตรวจ เป็นต้น ดังนั้นห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งควรกำหนดค่าอ้างอิงขึ้นเอง เพื่อใช้ในการประกอบการวินิจฉัยโรคที่แม่นยำ รวมถึงเป็นการสร้างมาตรฐานของห้องปฏิบัติการเอง

นอกจากนี้ ยังมีอีกหลายปัจจัยที่มีผลกระทบต่อค่าอ้างอิง [11] ได้แก่ เชื้อชาติ อายุ เพศ การบริโภคอาหาร การใช้ยา ความเครียด การเก็บตัวอย่าง เช่น ช่วงเวลาการเก็บตัวอย่าง เวลาในการใช้สายรัดแขน (tourniquet time) ชนิดของหลอดเก็บตัวอย่าง และสารกันเลือดแข็ง การเตรียมตัวอย่าง (sample handling) เช่น การแข็งตัวของเลือด (clotting) การปั่นแยกซีรัมหรือพลาสมา และการเก็บรักษาตัวอย่าง เป็นต้น Solberg [14] ได้กล่าวว่า การประเมินวิธีการทดลอง (method validation) ก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อค่าอ้างอิงเช่นกัน

ในการกำหนดค่าอ้างอิงในของสารชีวเคมีทางคลินิกนั้น นอกจากใช้ข้อมูลที่ใช้ในการวินิจฉัยแยกผู้ที่เป็นโรคออกจากคนปกติ (Differential diagnosis) แล้ว ยังแสดงถึงมาตรฐานของห้องปฏิบัติการนั้นๆ รวมไปถึงการดูแลสุขภาพผู้ป่วยที่ดีด้วย

Shapiro และคณะ [15] ได้ทำการศึกษาถึงความแตกต่างของ electrolytes ในเลือดที่วิเคราะห์ในตัวอย่างซีรัม และพลาสมาพบว่า ระยะเวลาก่อนการวิเคราะห์ อุณหภูมิต่ำ (cooling condition) และสารกันเลือดแข็งเฮปาริน จากการเปรียบเทียบค่าโซเดียมที่วิเคราะห์จากซีรัม และพลาสมาโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Nova Stat analyzer พบว่าค่าโซเดียมที่วิเคราะห์จากซีรัมนั้นสูงกว่าพลาสมาเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติบริษัทอื่น ยังพบอีกว่าค่า bicarbonate ที่วิเคราะห์โดย

เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Nova analyzer มีระดับสูงกว่าวิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman analyzer [16]

ปัจจุบันได้มีการนำ gel separator ประยุกต์ใช้ในหลอดเก็บตัวอย่าง ซึ่งสามารถแยกซีรัม หรือพลาสมาออกจากเซลล์เม็ดเลือดก่อนการปั่นแยก ซึ่งดีกว่าหลอดเก็บตัวอย่างที่ไม่มี gel separator หรือ plain tubes เนื่องจากสารชีวเคมี (รวมทั้ง creatinine และ BUN) เปลี่ยนแปลงได้น้อยกว่า เพราะ เซลล์เม็ดเลือดถูกแยกจากซีรัม หรือพลาสมาโดย gel separator แล้ว สารชีวเคมีที่ออกมาจากและ/หรือ เปลี่ยนแปลงโดยเซลล์เม็ดเลือด ไม่สามารถออกมาบรบกวนการวิเคราะห์ได้ [17]

การกำหนดค่าอ้างอิงของ creatinine และ BUN ลิเทียมเฮปารินพลาสมาในการศึกษานี้มีการใช้หลอดเก็บตัวอย่างสำเร็จรูปที่มี gel separator เพื่อลดความผิดพลาดของค่าอ้างอิงที่เกิดจากการรบกวนแยกเซลล์เม็ดเลือด แต่อย่างไรก็ตามยังข้อจำกัดบางประการ เช่น ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง (n = 120) มีขนาดเล็กกว่ากลุ่มตัวอย่างของบริษัทผู้ผลิต ซึ่งยืนยันไม่ได้ว่าค่าอ้างอิงที่ได้นี้ สามารถนำไปใช้ในทางคลินิก (clinical practice) ได้ในทางปฏิบัติ คณะผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะว่า ควรจะนำค่าอ้างอิงดังกล่าวไปใช้วินิจฉัยโรค เปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงที่ใช้อยู่เดิม หรือค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต ซึ่งเมื่อประเมินความถูกต้องของการใช้ค่าอ้างอิงดังกล่าวแล้ว สามารถปรับขนาดของกลุ่มอาสาสมัคร วิธีทางสถิติ หรือ วิธีการวิเคราะห์ ให้มีความเหมาะสมมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้การกำหนดค่าอ้างอิงจากเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติหลายชนิดก็เป็นประเด็นที่ควรนำมาศึกษาสำหรับการกำหนดค่าอ้างอิงเพื่อใช้ในการวินิจฉัยทางคลินิกเช่นกัน เนื่องจากหลักการวิเคราะห์ (principle of tests) ที่แตกต่างกันก็มีผลกระทบต่อค่าอ้างอิงได้ อย่างไรก็ตามการกำหนดค่าอ้างอิงจากกลุ่มตัวอย่างขนาดใหญ่ และจากหลายหลักการวิเคราะห์นั้น ในทางปฏิบัตินั้นกระทำได้ยาก เนื่องจากใช้งบประมาณ และเวลามาก รวมถึงจำเป็นต้องมีการสร้างความร่วมมือกันระหว่างห้องปฏิบัติการหลายๆแห่งอีกด้วย

7. สรุปและข้อเสนอแนะ

กล่าวโดยสรุป จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าอ้างอิงของ creatinine และ BUN ที่กำหนดได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างลิเทียมเฮปารินนั้น มีความสอดคล้องกับค่าอ้างอิงของบริษัทผู้ผลิต และห้องปฏิบัติการที่ใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Olympus AU640 แต่อย่างไรก็ตามความสอดคล้องดังกล่าว อาจจะไม่ไปด้วยกันได้ด้วยปัจจัยหลายประการ ดังนั้น ห้องปฏิบัติการควรมีการกำหนดค่าอ้างอิงไว้ใช้แปลผลเอง โดยเฉพาะการเปลี่ยนการวิเคราะห์ตัวอย่างซีรัมเป็นพลาสมา และการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่มีหลักการเปลี่ยนไปจากหลักการเดิมที่นำมากำหนดค่าอ้างอิง

8. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่ให้ความสนับสนุนด้านงบประมาณวิจัย และขอขอบคุณอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในงานวิจัยครั้งนี้

9. เอกสารอ้างอิง

[1] International Federation of Clinical Chemistry, "Reference interval", IFCC/CLSI-C28, 2009.

- [2] D.S. Young, E.W.Jr. Bermes, “Specimen collection and processing; sources of biological variation” In: Burtis C.A., Ashwood E.R., eds. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders, 60 – 61, 1994.
- [3] R.Z. Shi, E.S. Seeley, R. Bowen, J. Faix, “Rapid blood separation is superior to fluoride for preventing in vitro reductions in measured blood glucose concentration”, Journal of Clinical Pathology, 62(8), 752 – 753, 2009.
- [4] C. A. Burtis, E. R. Ashwood, D. E. Bruns, “Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics”, 4nd ed. St. Louis, MO: Saunders Elsevier, 2007.
- [5] Q. H. Meng, J. Krahn, “Lithium heparinised blood-collection tubes give falsely low albumin results with an automated bromocresol green method in haemodialysis patients”, Clinical Chemistry Laboratory Medicine, 46(3), 396-400, 2008.
- [6] A. Y. W. Chan, R. Swaminathan, C. S. Cockram, “Effective of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood”, Clinical Chemistry, 35(2), 315-317, 1989.
- [7] J.G. Donnelly, S.J. Soldin, D.A. Nealon, J.M. Hicks, “Is heparinized plasma suitable for use in routine biochemistry?”, Pediatric Pathology and Laboratory Medicine, 15(4), 555 – 559, 1995.
- [8] J.C. Jr. Smith, S. Lewis, J. Holbrook., K. Seidel, A. Rose, “Effect of heparin and citrate on measured concentrations of various analytes in plasma”, Clinical Chemistry, 33, 814 – 816, 1987.
- [9] T.B. Doumas, L.L. Hause, D.M. Simuncak, D. Breitenfeld, “Differences between values for plasma and serum in test performed in the Ektachem 700 XR analyzer, and evaluation of plasma separator tubes (PST)”, Clinical Chemistry, 35(1), 151 – 153, 1989.
- [10] Roche diagnostics. <http://www.roche-diagnostic.us>, 2006.
- [11] L. G. Horowitz, “Reference intervals: practical aspects”, Electronic Journal International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 19(2), 1-11, 2008.
- [12] Greiner Bio-One, “Product manual of vacuette”, 7th ed, Austria: Kremsmunster, 2002.
- [13] A. R . Deen, S. Srithongpim, L. Limsirorat, Y. Punto, P. Ngamlert, W. Onrung, “Reference interval of potassium in plasma and serum of healthy adults at Police General Hospital”, Journal of Medical Technology Association, 37(3), 2992-3000, 2009.
- [14] H. E. Solberg, “Establishment and Use of Reference Values” In C.A. Burtis, E.R. Ashwood and D.E. Bruns (Eds.), Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 4nd ed., St. Louis, MO: Saunders Elsevier, 2007.
- [15] B.A. Shapiro, R.D. Cane, J. Kavanaugh, “The reliability of electrolyte measurements in plasma”, Intensive Care Medicine, 9, 83-85, 1983.
- [16] P.H. Lolekha, S. Vanavan, N. Teerakarnjana, U. Chaichanajaremkul, “Reference ranges of electrolyte and anion gap on the Beckman E4A, Beckman Synchron CX5, Nova CRT, and Nova Stat Profile Ultra”, Clin Chim Acta, 307(1-2):87-93, 2001.
- [17] M.P. O’Keane, K. Sean, K.S. Cunningham, “Evaluation of three different specimen types (serum, plasma lithium heparin and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use”, Clinical Chemistry Laboratory Medicine, 44(5):662-668, 2006.