

ความคงตัวของค่าทางเคมีในพลาสมาที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งและสัณผัสเซลล์

ปนัดดา มีสุขประดับ¹, วิสุทธิ์ กังวานตระกูล², จินดารัตน์ ตระกูลทอง², สัมทอง พรหมดี^{2*}

Received: July 14, 2011

Revised & Accepted: October 20, 2011

บทคัดย่อ

เฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งที่นิยมใช้เพื่อเตรียมพลาสมาสำหรับตรวจวัดทางเคมีคลินิกเพื่อลดรอบเวลาการให้บริการ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงตัวของพลาสมาที่ใช้เฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งในตัวอย่างที่วางให้สัมผัสเซลล์เป็นเวลา 7 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยศึกษาในตัวอย่าง 100 ราย ที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปทุมธานี และตรวจวัดด้วยเครื่อง Olympus AU400 หลังเจาะเลือดทุกชั่วโมงจนครบ 7 ชั่วโมง ผลการตรวจวัดกลูโคส ยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินีน โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์และคาร์บอนไดออกไซด์รวมทั้ง 7 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับ 1 ชั่วโมง พบว่ากลูโคสลดลง 10 % ส่วนการตรวจวัดอื่นๆ พบว่าเปลี่ยนแปลง +2.0 %, +0.7 %, +1.0. mmol/L, 0.0 mmol/L, 0.0 %, และ -14.5 % ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความแตกต่างของผลการตรวจวัดโดยใช้ค่า total allowable error limit พบว่าค่าเฉลี่ยการตรวจวัดที่ 7 ชั่วโมง ทุกการทดสอบมีความผิดพลาดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ยกเว้นการตรวจวัดกลูโคส เมื่อทดสอบความแตกต่างของผลการตรวจวัดทางสถิติพบว่า การตรวจวัดกลูโคสที่ 2 ชั่วโมง ยูเรียไนโตรเจนที่ 4 ชั่วโมงและอิเล็กโทรไลต์ที่ 2 ชั่วโมง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก 1 ชั่วโมง ($P < 0.05$) แต่ไม่พบผลการตรวจวัดครีเอตินีนมีค่าต่างจากชั่วโมงที่ 1 จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการพลาสมาที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งที่สัมผัสเซลล์นาน 7 ชั่วโมงสามารถนำมาตรวจวัดยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินีน โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์และคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ยกเว้นการตรวจวัดกลูโคสที่ต้องทำทันที

คำสำคัญ: ความคงตัว, เฮปารินในพลาสมา, ค่าทางเคมีคลินิก

¹ห้องปฏิบัติการผู้ป่วยฉุกเฉินและผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปทุมธานี

²กลุ่มวิชาเคมีคลินิก สายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Stability of heparinized plasma contacting with cells for clinical chemistry assays

Panadda Meesukpradub¹, Wisut Kangwantrakul², Jindarat Trakulthong², Limthong Promdee^{2*}

Abstract

Heparinized plasma specimens are widely used in clinical chemistry laboratory to reduce turn around time (TAT). This study was aimed to investigate the stability of the heparinized plasma contacting with cells during 7 h. period at room temperature. One hundred heparinized plasma samples of out-patient department at Chao Phya Abhaibhubej Hospital, Prachinburi were used as the primary tubes. Blood chemistry was analysed by Olympus AU400 automatic analyzer within 1 h after collection and continued every hour for 7 h. The level of glucose, blood urea nitrogen, creatinine, sodium, potassium, chloride, and total carbon dioxide at 7 h. compared to 1 h. were changed to +10 %, +2.0 % +0.7 % +1.0 mmol/L, 0.0 mmol/L, 0.0 %, and -14.5 %, respectively. However, the differences of all tests were still in an acceptable range of total allowable error limit except for glucose. Significant differences were observed for concentration of glucose at 2 h., blood urea nitrogen at 4 h., and electrolyte at 2 h. ($P < 0.05$), but not for creatinine. The results show heparinized plasma exposed cells is stable for urea nitrogen, creatinine, sodium, potassium, chloride and total carbon dioxide assays 7 h. after blood collection. However, for accurate glucose value, the plasma should be analyzed as soon as possible.

Keywords: Stability, Heparinized plasma, Clinical chemistry assays

Outpatients and Emergency Laboratory, Chao Phya Abhaibhubej Hospital, Prachinburi
Department of Clinical Chemistry, Division of Medical Technology,
Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

*Corresponding author: (e- mail: lpromdee@yahoo.com)

บทนำ

การตรวจวัดทางเคมีคลินิกที่ให้บริการตรวจแบบด่วนในโรงพยาบาล ได้แก่ การตรวจวัดกลูโคส (glucose) ยูเรียไนโตรเจน (blood urea nitrogen;) ครีเอตินีน (creatinine; Cr) และการตรวจวัดอิเล็กโทรไลต์ที่ประกอบด้วย การตรวจวัดโซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) คลอไรด์ (Cl) และคาร์บอนไดออกไซด์รวม (คาร์บอนไดออกไซด์รวม; TCO_2)

เนื่องจากการตรวจวัดต้องการผลด่วน การลดรอบเวลาการให้บริการ (turn around time) เป็นประเด็นสำคัญที่มักนำมาพิจารณาโดยเฉพาะในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ วิธีการหนึ่งที่ยอมรับใช้ คือ การตรวจวัดค่าทางเคมีคลินิกในตัวอย่างที่เป็นพลาสมาซึ่งไม่ต้องรอให้เลือดแข็งตัวสามารถลดรอบเวลาการตรวจวัดได้ประมาณ 30 นาทีเมื่อเทียบกับการตรวจวัดในซีรัม ถึงแม้ National Committee for Clinical Laboratory Standard ได้แนะนำให้แยกซีรัมและพลาสมาออกจากเซลล์ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือดเพื่อให้ผลการตรวจวัดที่ถูกต้อง⁽¹⁾ แต่เพื่อให้ได้ผลการตรวจวัดดีที่สุดให้แยกซีรัมออกจากเม็ดเลือดภายใน 30 นาที⁽²⁾ เพื่อป้องกันปัจจัยรบกวนที่เกิดขึ้นในขั้นตอนก่อนการตรวจวิเคราะห์ (pre-analytical process) ในทางปฏิบัติอาจไม่สามารถทำได้เนื่องจากมีตัวอย่างจำนวนมาก

สารกันเลือดแข็งที่ยอมรับใช้เตรียมพลาสมามีหลายชนิดแต่ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดทางเคมีคลินิก คือ เฮปารินที่มีลิเทียมเป็นส่วนประกอบ (lithium heparin) เฮปารินยับยั้งการแข็งตัวของเลือดได้เพราะยับยั้งการสร้างไฟบรินที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการแข็งตัวของเลือด มีคุณสมบัติในการจับกับสารอื่นต่ำ รักษาสมดุลของน้ำในและนอกเซลล์ได้ดี มีไอออนประจุบวกต่ำ จึงเหมาะสำหรับเป็นสารกันเลือดแข็งเพื่อตรวจวัดไอออน เช่น โซเดียมไอออน เป็นต้น ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับเฮปารินที่ใช้สำหรับการเตรียมตัวอย่างเลือดอยู่ระหว่าง 10-30 U/mL แต่ในหลอดเก็บตัวอย่างนิยมให้มีความเข้มข้น 14.3 U/mL⁽³⁾ เนื่องจากพลาสมามีปัจจัยที่ใช้สำหรับการแข็งตัวของเลือดอยู่ครบ จึงพบว่าโปรตีนในพลาสมาสูงกว่าในซีรัม 4 กรัม/ลิตร⁽⁴⁾ การที่ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาและซีรัมต่างกันอาจมีผลต่อความคงตัวของสารทางเคมีคลินิกต่างกัน

การใช้หลอดเก็บเลือดที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งนอกจากสามารถลดเวลาการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดแล้วยังสามารถใช้หลอดตัวอย่างที่วางให้พลาสมาสัมผัสเซลล์เป็นหลอดปฐมภูมิ (primary tube) สำหรับการ

ตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติสำหรับตรวจวัดในงานประจำ นอกจากนี้พบว่าในทางปฏิบัติการตรวจวัดตัวอย่างในงานผู้ป่วยนอกไม่นิยมเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ในวันต่อไป มักวางตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อกำจัดในช่วงเย็น จึงมีคำถามว่าพลาสมาที่ใช้เฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งมีความคงตัวนานเท่าใดในหลอดตัวอย่างที่ไม่แยกพลาสมาออกจากเซลล์และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องในช่วงระยะเวลา 1 วันทำการ (7 ชั่วโมง)

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างเลือด 100 ราย ได้จากตัวอย่างที่แพทย์ส่งตรวจผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอกและฉุกเฉิน โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรี ที่เหลือจากการตรวจวัดในงานประจำ และเลือกตัวอย่างแบบสุ่ม แต่ให้มีค่าความเข้มข้นแต่ละการตรวจวัดครอบคลุมทั้งค่าปกติและผิดปกติและมีปริมาณเลือดเพียงพอสำหรับการตรวจวัดตลอดการทดสอบ ตัวอย่าง 1 รายอาจมีผลการตรวจวัดไม่ครบทุกการทดสอบ การศึกษานี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรีแล้ว

หลอดตัวอย่างที่ใช้เก็บเลือดทั้ง 100 ราย เป็นหลอดที่มีลิเทียมเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งของบริษัทกรุงเทพอินเตอร์โปรดักส์ (ประเทศไทย) โดยเติมเลือดปริมาตร 4 มล. เมื่อห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างและลงบันทึกเวลาเรียบร้อยแล้ว นำหลอดตัวอย่างไปปั่นแยกพลาสมาด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็ว 4,000 รอบ/นาที เลือดที่ปั่นแยกแล้วได้นำหลอดเข้าตรวจวัดค่าทางเคมีคลินิกด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติภายใน 1 ชั่วโมง (1 ชม.) และรายงานผลให้แพทย์ทราบตามขั้นตอนปกติ หลังจากนั้นนำหลอดตัวอย่างมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส) เมื่อครบเวลา 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 ชั่วโมง (2 – 7 ชม.) นำหลอดตัวอย่างเข้าตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์เครื่องเดิม บันทึกผลค่าที่ได้ทุกช่วงเวลาเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่ใช้ในการศึกษาคือ ยี่ห้อโอลิมปัส รุ่น AU400 น้ำยาที่ใช้ตรวจวัดทั้งหมดเป็นของบริษัท E for L จำกัด การตรวจวัดกลูโคสและยูเรียไนโตรเจนใช้วิธีเอนไซม์ การตรวจวัดครีเอตินีนใช้หลักการ Jaffe kinetic ส่วนการตรวจวิเคราะห์โซเดียม โพแทสเซียม และคลอไรด์ใช้หลักการ ion selective electrode การตรวจ

วัดคาร์บอนไดออกไซด์รวมใช้หลักการเอนไซม์ การศึกษา
นี้ได้ควบคุมคุณภาพการตรวจวัดด้วยสารควบคุมที่ทราบ
ค่า ที่มีความเข้มข้นต่างกันสองระดับของบริษัท Beckman
(สหรัฐอเมริกา) lot number 14191 และ 14192 และพบว่า
การตรวจวัดอยู่ในช่วงที่กำหนดทั้งสองระดับ หาร้อยละ
สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% coefficient of variation,
% CV) ของผลการตรวจวัดสารควบคุมจากสูตร $\% CV =$
 $(S.D./mean) \times 100$ เทียบกับ % CV ของค่าเป้าหมาย (%
CV) โดยคำนวณค่า mean และ S.D. จากค่าเป้าหมายที่
กำหนดให้ หากผลการตรวจวัดสารควบคุมมีค่า % CV ต่ำ
กว่า % CV แสดงว่าผลการตรวจวัดมีความน่าเชื่อถือ

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยง
เบนมาตรฐาน (standard deviation; S.D.) คำนวณร้อยละ

ความแตกต่าง (% different) ที่ 2 – 7 ซม. โดยใช้ค่าที่ 1
ซม. เป็นค่าเป้าหมาย นำค่าที่ได้เทียบกับค่าความผิดพลาด
รวมที่ยอมรับได้ (total allowable error limit) ที่กำหนด
โดย Clinical Laboratory Improvement Amendments
(CLIA)⁽⁵⁾ ที่กำหนดค่าความผิดพลาดการตรวจวัดกลูโคส
ยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินีน โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์
และคาร์บอนไดออกไซด์รวมไว้ที่ $\pm 10 \%$, $\pm 9 \%$, ± 15
 $\%$, ± 4 mmol/L, ± 0.5 mmol/L, $\pm 5 \%$, และ ± 20
 $\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังได้นำผลการตรวจ
วัดเทียบกับระดับการตัดสินใจของแพทย์ (medical decision
level) ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาร่วมพิจารณาด้วย (ตารางที่ 1)
แต่เนื่องจากความเข้มข้นที่ระดับการตัดสินใจของแพทย์ขึ้น
กับค่าเริ่มต้นของผู้ป่วยซึ่งอาจมีค่าสูงมากหรือต่ำมาก ในการ
ศึกษานี้มีตัวอย่างที่อยู่ในช่วงค่าดังกล่าวจำนวนไม่มากนัก

ตารางที่ 1 เกณฑ์มาตรฐานการตรวจวัดทางเคมีคลินิกที่ใช้ในการศึกษา

การตรวจวัด	CLIA Acceptable Performance	Medical Deci- sion Level	CLIA Allowable Error	Medical Allowable Error
กลูโคส	$\pm 10 \%$	50 mg/dL	6.0 mg/dL	5.35 mg/dL
		120 mg/dL	12.0 mg/dL	12.7 mg/dL
		200 mg/dL	20.0 mg/dL	21.4 mg/dL
ยูเรียไนโตรเจน	$\pm 9 \%$	27 mg/dL	2.4 mg/dL	8.2 mg/dL
ครีเอตินีน	$\pm 15 \%$	1.0 mg/dL	0.30 mg/dL	0.11 mg/dL
โซเดียม	± 4 mmol/L	130 mmol/L	4.0 mmol/L	1.78 mmol/L
		150 mmol/L	4.0 mmol/L	2.06 mmol/L
โพแทสเซียม	± 0.5 mmol/L	3.0 mmol/L	0.50 mmol/L	0.33 mmol/L
		6.0 mmol/L	0.50 mmol/L	0.66 mmol/L
คลอไรด์	$\pm 5 \%$	90 mmol/L	4.5 mmol/L	2.97 mmol/L
		110 mmol/L	5.5 mmol/L	3.63 mmol/L
คาร์บอนไดออกไซด์รวม	$\pm 20 \%$	6.0 mmol/L 20 mmol/L 33 mmol/L		

ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้ Kolmogorov-Smirnov test ถ้า $P = 0.05$ ถือว่าข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ (normal distribution) ทดสอบความแตกต่างของผลการตรวจวัดที่ 2 – 7 ชม. เทียบกับที่ 1 ชม. ด้วยสถิติ paired t-test ข้อมูลที่มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ (non-normal distribution) ทดสอบความแตกต่างด้วยสถิติ Wilcoxon Sign-Rank test ผลการทดสอบพบว่า การกระจายตัวการตรวจวัดกลูโคส ยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินีน และโซเดียม มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ส่วนผลการตรวจวัดโพแทสเซียม คลอไรด์ และคาร์บอนไดออกไซด์รวม มีการกระจายแบบปกติ เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของผลการตรวจที่แตกต่างจากชั่วโมงที่ 1 และเวลาที่ศึกษา การตรวจวัดที่กระจายตัวแบบปกติใช้สถิติ Pearson correlation ส่วนการตรวจวัดที่มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติใช้สถิติ Spearman' rho คำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 10.0.1 กำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ $P < 0.05$

ผลการศึกษา

ผลการตรวจวัดสารควบคุมทั้งสองระดับพบว่า ผลการตรวจวัดทั้ง 6 การทดสอบมีค่าอยู่ในช่วงค่าควบคุมทั้งสองระดับ (ตารางที่ 2) แต่เมื่อพิจารณา % CV พบว่าการตรวจวัดกลูโคส ยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินีน โซเดียม โพแทสเซียม และคลอไรด์ มี % CV ต่ำกว่า % CV_t ทั้งสองระดับ แสดงว่าการตรวจวัดมีความถูกต้อง ส่วนการตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์รวมในสารควบคุมระดับ 1 พบว่ามี % CV สูงกว่า % CV_t แสดงว่าการตรวจวัดมีความแปรปรวนมากและอาจมีผลต่อความถูกต้องในการตรวจวัดกลุ่มตัวอย่าง

ผลการศึกษาความคงตัวของการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่าง 100 ราย พบว่าที่ 1 ชม. มีความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 138 ± 71 mg/dL เมื่อเวลาผ่านไป 7 ชม. พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสลดลงเหลือเท่ากับ 126 ± 70 mg/dL หรือลดลงร้อยละ 10 ในชั่วโมงที่ 7 และค่าลดลงอยู่นอกช่วง total allowable error limit และพบว่าผลการตรวจวัดที่ 2 – 7 ชม. ลดลงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก 1 ชม. ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับกลูโคสและเวลา ($r = -0.694$, $P < 0.001$) (รูปที่ 1A) และพบว่าที่ 4 ชม. มีตัวอย่าง 1 ราย มีความแตกต่างมากกว่า total allowable error limit และพบจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 12, 33

และ 44 ราย ในชั่วโมงที่ 5, 6, และ 7 ตามลำดับ และที่ 4 ชม. มีตัวอย่าง 1 ราย มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 117 mg/dL ซึ่งอยู่ในช่วงความผิดพลาดที่ยอมรับได้ทางการแพทย์ (medical allowable error)

ผลการตรวจวัดยูเรียไนโตรเจนพบว่าค่าเพิ่มขึ้นตามเวลา ($r = 0.369$, $P < 0.001$) (รูปที่ 1B) และพบค่าเพิ่มขึ้นร้อยละ 2 ที่ 7 ชม. เมื่อเทียบกับ 1 ชม. แต่พบว่าผลการตรวจวัดใน 7 ชม. มีความผิดพลาดไม่เกินค่า total allowable error limit (ตารางที่ 3) ผลการตรวจวัดพบว่าค่าที่ 4 ชม. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก 1 ชม. ($P < 0.05$) และพบตัวอย่าง 1 รายที่ 5 ชม. มีค่าเพิ่มขึ้นและมากกว่าค่า total allowable error limit แต่ไม่เกินความผิดพลาดที่ยอมรับได้ทางการแพทย์ (medical allowable error) โดยตัวอย่างรายนี้มีค่าเริ่มต้นที่ 1 ชม. เท่ากับ 24.3 mg/dL แต่เมื่อตั้งไว้ที่ 6 ชม. มีตัวอย่าง 1 รายที่มีร้อยละความแตกต่างมากกว่าค่า total allowable error limit โดยรายนี้มีค่าเริ่มต้น (1 ชม.) เท่ากับ 6.5 mg/dL ซึ่งความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางแพทย์

ส่วนผลการตรวจวัดครีเอตินีนพบว่าค่าเฉลี่ยที่ 1 ชม. เท่ากับที่ 7 ชม. และไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้น แต่พบว่าระดับครีเอตินีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.7 เมื่อวางตัวอย่างไว้นาน 7 ชม. ซึ่งค่าที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง total allowable error limit (ตารางที่ 3) แต่พบว่ามีตัวอย่าง 1 ราย ที่ 2 – 7 ชม. มีความผิดพลาดรวมมากกว่าที่กำหนดให้ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวัดครีเอตินีนและเวลา ($r = 0.073$, $P < 0.073$) (รูปที่ 1C)

ส่วนผลการตรวจวัดอิเล็กโทรไลต์พบว่า การตรวจวัดโซเดียมมีค่าเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับจำนวนชั่วโมงที่วางไว้อย่างมีนัยสำคัญ ($r = 0.412$, $P < 0.001$) (รูปที่ 1D) และพบว่าค่าที่ 2 – 7 ชม. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก 1 ชม. ยกเว้นค่าที่ 3 ชม. และพบว่าผลการตรวจวัดโซเดียมที่ 7 ชม. มีค่าเพิ่มขึ้น 1.0 mmol/L จากค่าเริ่มต้น ซึ่งค่าที่แตกต่างนี้อยู่ในช่วง total allowable error limit ส่วนผลการตรวจวัดโพแทสเซียมพบว่าผลการตรวจวัดที่ 2 – 4 ชม. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก 1 ชม. ($P < 0.05$) แต่พบว่าการตรวจวัดที่ 7 ชม. มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1 ชม. (ตารางที่ 3) ค่าที่เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับจำนวนชั่วโมงที่ตั้งไว้ (รูปที่ 1E)

ตารางที่ 2 ผลตรวจวัดสารเคมีในสารควบคุม 2 ระดับ จำนวน 19 ครั้ง

สารเคมี	Control Level I				Control Level II			
	Mean $\pm$ SD	% CV	Target	% CV	Mean $\pm$ SD	% CV	Target	% CV
กลูโคส	96 $\pm$ 1.07	1.10	86 – 102	4.2	228 $\pm$ 2.71	1.19	207 – 244	4.10
ยูเรียไนโตรเจน	17 $\pm$ 0.70	3.90	15 – 19	5.8	76 $\pm$ 2.99	3.93	67 - 83	5.3
ครีเอตินีน	1.3 $\pm$ 0.08	6.10	1.19 – 1.93	11.8	5.1 $\pm$ 0.28	5.40	4.55 – 5.67	5.47
โซเดียม	116 $\pm$ 1.00	0.86	114 – 121	1.48	148 $\pm$ 0.91	0.62	144 – 153	1.51
โพแทสเซียม	3.7 $\pm$ 0.05	1.34	3.5 – 3.9	2.7	6.3 $\pm$ 0.13	2.04	5.5 – 7.2	6.69
คลอไรด์	88 $\pm$ 0.63	0.71	86 – 94	2.2	110 $\pm$ 0.73	0.67	107 – 117	2.23
คาร์บอนไดออกไซด์รวม	14.6 $\pm$ 1.02	6.99	14.1 – 18.0	6.07	32.0 $\pm$ 1.47	4.58	29 – 35	4.68

ตารางที่ 3 ผลตรวจวัดสารเคมีในตัวอย่างพลาสมา 100 ตัวอย่าง ณ เวลาต่างๆ หลังเจาะเก็บเลือดและปั่นแยกพลาสมา แล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.)

ระยะเวลา (ชม.)	กลูโคส (mg/dL)	ยูเรียไนโตรเจน (mg/dL)	ครีเอตินีน (mg/dL)	โซเดียม (mmol/L)	โพแทสเซียม (mmol/L)	คลอไรด์ (mmol/L)	คาร์บอนไดออกไซด์รวม (mmol/L)
1	138 $\pm$ 71.5	25.1 $\pm$ 20.3	2.2 $\pm$ 2.5	138 $\pm$ 3.6	4.0 $\pm$ 0.61	102 $\pm$ 4.9	25.5 $\pm$ 3.7
2	137 $\pm$ 71.3 ^a	25.1 $\pm$ 20.3	2.2 $\pm$ 2.5 ^d	137 $\pm$ 3.6 ^a	4.0 $\pm$ 0.61 ^b	102 $\pm$ 4.9 ^b	25.2 $\pm$ 3.7 ^b
3	135 $\pm$ 70.8 ^a	25.2 $\pm$ 20.2	2.2 $\pm$ 2.5 ^d	138 $\pm$ 3.6	4.0 $\pm$ 0.61 ^b	102 $\pm$ 4.8 ^b	24.6 $\pm$ 3.6 ^b
4	133 $\pm$ 71.1 ^{a,d,e}	25.2 $\pm$ 20.3 ^a	2.2 $\pm$ 2.5 ^d	138 $\pm$ 3.5 ^a	4.0 $\pm$ 0.61 ^b	102 $\pm$ 4.9 ^b	24.0 $\pm$ 3.5 ^b
5	132 $\pm$ 71.0 ^{a,d}	25.4 $\pm$ 20.4 ^{a,d}	2.2 $\pm$ 2.5 ^d	138 $\pm$ 3.6 ^a	4.0 $\pm$ 0.60	102 $\pm$ 4.9 ^b	23.1 $\pm$ 3.5 ^b
6	129 $\pm$ 70.7 ^{a,d}	25.5 $\pm$ 20.6 ^{a,d}	2.2 $\pm$ 2.5 ^d	138 $\pm$ 3.5 ^a	4.0 $\pm$ 0.61	102 $\pm$ 4.9	22.4 $\pm$ 3.5 ^b
7	126 $\pm$ 70.1 ^{a,d}	25.6 $\pm$ 20.5 ^a	2.2 $\pm$ 2.5 ^d	139 $\pm$ 3.4 ^a	4.0 $\pm$ 0.61	102 $\pm$ 4.8	21.8 $\pm$ 3.5 ^b
Diff ^c	-10.2 $\pm$ 5.2 %	2.0 $\pm$ 2.0 %	0.7 $\pm$ 4.6 %	1.0 $\pm$ 1.2	0.0 $\pm$ 0.3	0.0 $\pm$ 1.11 %	-14.5 $\pm$ 7.5 %

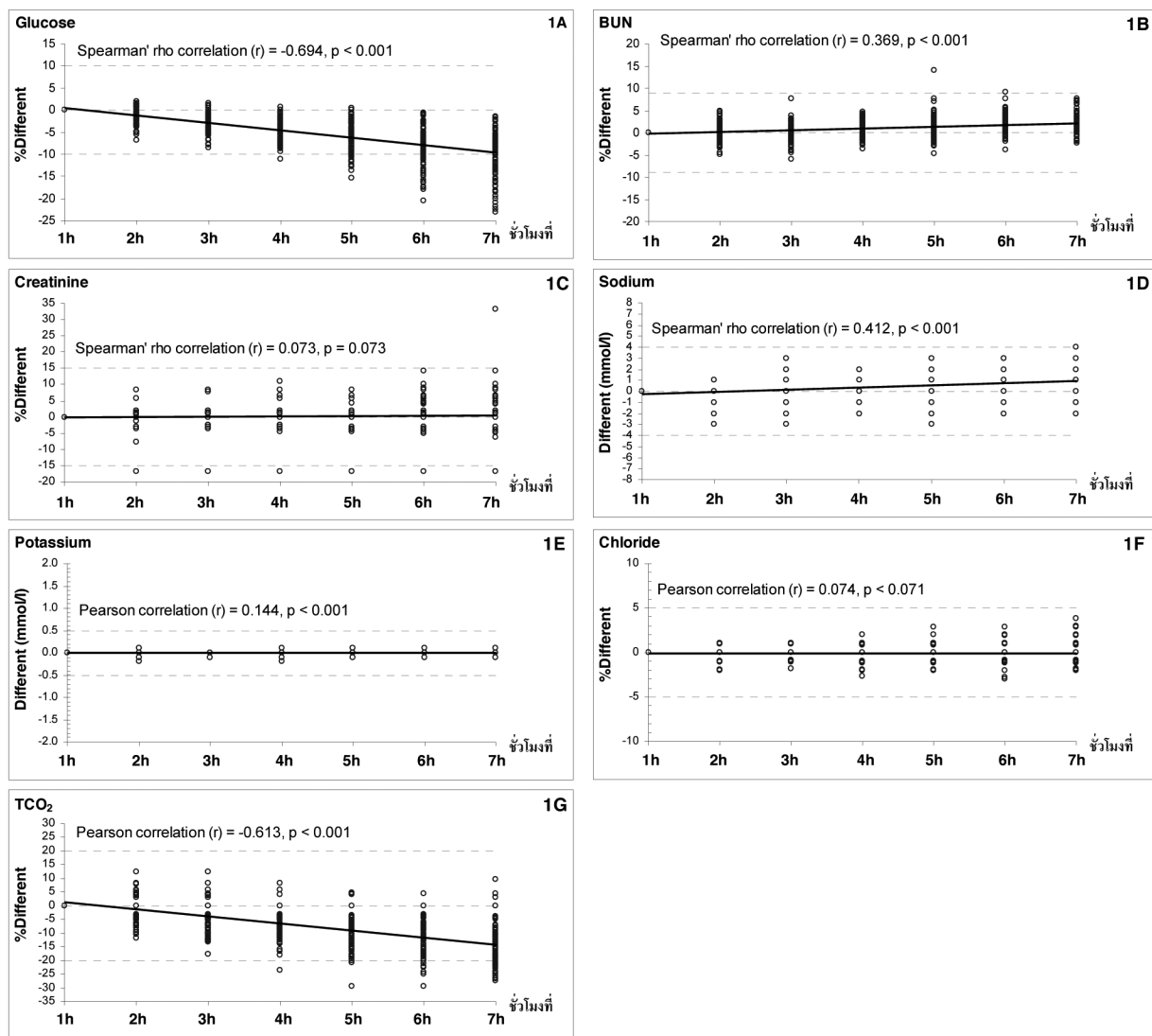
^a $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า ณ เวลา 1 ชั่วโมง ด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Ranks Test

^b $P < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า ณ เวลา 1 ชั่วโมงด้วยสถิติ Paired t-test

^c ความแตกต่างที่ 7 ชม. เทียบกับ 1 ชม. ถ้าไม่ระบุ % ให้ถือตามหน่วยการทดสอบ

^d มีตัวอย่างที่มีค่าเกินช่วง total allowable error limit

^e มี 1 รายที่มีค่าในระดับตัดสินใจของแพทย์



รูปที่ 1 ค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกลูโคส (1A), ยูเรียไนโตรเจน (1B), ครีเอตินีน (1C), โซเดียม (1D), โพแทสเซียม (1E), คลอไรด์ (1F) และคาร์บอนไดออกไซด์รวม (1G) ในพลาสมาที่ใช้เฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งและสัมผัสเซลล์เม็ดเลือดที่อุณหภูมิห้องระหว่าง 2 – 7 ชม. เทียบกับ 1 ชม.

ผลการตรวจวัดคลอไรด์พบว่าค่าที่ 2 – 5 ชม. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก 1 ชม. ($P < 0.05$) แต่ค่าเฉลี่ยที่ 7 ชม. เท่ากับค่าที่ 1 ชม. ค่าที่เปลี่ยนแปลงไม่สัมพันธ์กับจำนวนชั่วโมงที่วางไว้ ($r = 0.074$, $P < 0.071$) (รูปที่ 1F) ส่วนผลการตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์รวมพบว่าค่าที่ 2 – 7 ชม. แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากที่ 1 ชม. โดยพบว่าค่าที่ 7 ชม. ลดลงจาก 1 ชม. เท่ากับ -14.5 ± 7.5 % (ตารางที่ 3) และค่าลดลงสัมพันธ์กับจำนวนชั่วโมงที่ตั้งไว้อย่างมีนัยสำคัญ ($r = -0.613$, $P < 0.001$) (รูปที่ 1G) แต่ค่าที่ลดลงยังอยู่ในช่วง total allowable error limit

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ผลการตรวจวัดกลูโคสในพลาสมาที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งพบว่าค่าลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าระดับกลูโคสลดลงเฉลี่ยร้อยละ 10.2 ในชั่วโมงที่ 7 ซึ่งมากกว่าช่วงความผิดพลาดที่ยอมรับได้ การที่ระดับกลูโคสลดลงเนื่องจากในเฮปารินไม่มีสารป้องกันการใช้น้ำตาลของเซลล์เหมือนในหลอดตัวอย่างที่ใช้โซเดียมฟลูออไรด์เป็นสารกันเลือดแข็ง แต่พบว่าระดับน้ำตาลที่ลดลงในการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่าที่พบในซีรัมที่วางให้สัมผัสเม็ดเลือดที่พบว่าลดลงร้อยละ 17 ต่อชั่วโมง และต่ำกว่าตัวอย่างที่วางให้พลาสมาสัมผัสกับเซลล์และปั่นแยกที่พบว่ามีค่าลดลงร้อยละ 28 เมื่อวาง

หลอดตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 8 ชั่วโมง⁽⁶⁾ และถึงแม้ข้อมูลจากการศึกษานี้พบว่ากลูโคสมีความคงตัวนาน 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง แต่การไม่ตรวจวัดทันทีอาจมีผลต่อการวินิจฉัยในรายที่ระดับน้ำตาลอยู่ในช่วงคาบเกี่ยวกับการวินิจฉัยหรือการเปลี่ยนแปลงการรักษา ซึ่งจากการศึกษาพบว่าในชั่วโมงที่ 4 เริ่มมีตัวอย่าง 1 รายที่มีผลการตรวจลดลงมากกว่าร้อยละ 10 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น และค่าเริ่มต้นของตัวอย่างรายนี้อยู่ในระดับตัดสินใจทางการแพทย์และพบว่าจำนวนตัวอย่างที่มีผลการตรวจวัดลดลงมากกว่าร้อยละ 10 เพิ่มขึ้นเป็น 12, 33 และ 44 ราย ในชั่วโมงที่ 5, 6 และ 7 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อวางตัวอย่างไว้นานโอกาสที่จะพบความผิดพลาดจะเพิ่มขึ้น

ส่วนผลการตรวจวัดยูเรียไนโตรเจน และครีเอตินีนพบว่าในช่วง 7 ชั่วโมง ผลการตรวจวัดทั้งสองการทดสอบยังอยู่ในช่วงความผิดพลาดที่ยอมรับ ดังนั้นสามารถใช้ตัวอย่างพลาสติกที่วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 ชั่วโมงสำหรับตรวจวัดได้ ในการศึกษาพบว่าค่าครีเอตินีนเพิ่มขึ้นน้อยกว่าการศึกษาของ Boyanton⁽⁶⁾ ที่พบว่าเพิ่มขึ้นร้อยละ 10 เมื่อวางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 8 ชั่วโมง

ผลการตรวจวัดครีเอตินีนในการศึกษานี้มีตัวอย่าง 1 ราย ที่มีร้อยละการเปลี่ยนแปลงมากกว่าค่า total allowable error ตั้งแต่ 2 ซม. (รูปที่ 1C) ค่าที่เพิ่มขึ้นอาจมาจากการรบกวนของ pseudo-creatinine ที่ตรวจวัดด้วยวิธี Jaffe reaction ที่ใช้ในการตรวจวัด⁽⁷⁾ เพราะเป็นเพียงรายเดียวที่พบตลอดการศึกษาในช่วง 7 ชั่วโมง จึงอาจใช้ตัวอย่างพลาสติกที่ตั้งไว้นาน 7 ชั่วโมง ตรวจวัดครีเอตินีนได้ ส่วนผลการศึกษาความคงตัวของอิเล็กโตรไลต์พบว่าตัวอย่างพลาสติกที่ใช้เฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็ง การตรวจวัดโซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ และคาร์บอนไดออกไซด์รวมในชั่วโมงที่ 7 มีความผิดพลาดอยู่ในช่วงที่กำหนดให้ตามเกณฑ์ของ CLIA ดังนั้นสามารถใช้ตัวอย่างที่วางไว้นาน 7 ชั่วโมงตรวจวัดอิเล็กโตรไลต์ได้ ถึงแม้ว่าการตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์จะมีความแปรปรวนจากการตรวจวัดรวมด้วย % different ที่ได้จากการศึกษาคือ -14.5 % ยังต่ำกว่าเกณฑ์ของ CLIA ที่กำหนดไว้ที่ ± 20 %

โดยปกติแล้วเฮปารินสามารถจับกับอิเล็กโตรไลต์ และอาจมีผลให้ความเข้มข้นของไอออนในรูปอิสระและในรูปอื่นๆ เปลี่ยนแปลงได้⁽⁸⁻¹⁰⁾ โดยพบว่าถ้าใช้สารกันเลือดแข็งในรูปซิงค์เฮปาริน เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้การตรวจ

วัดแมกนีเซียมและแคลเซียมอิสระเพิ่มขึ้น⁽¹¹⁾ ส่วนลิเทียม เฮปารินทำให้การตรวจวัดแคลเซียมอิสระลดลง⁽¹²⁾ แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ตรวจวัดแคลเซียมในรูปอิสระจึงไม่สามารถบอกการเปลี่ยนแปลงได้

ในการศึกษานี้พบว่าการตรวจวัดโซเดียมที่ 7 ซม. มีค่าเพิ่มขึ้นร้อยละ 1 ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาพบว่าในตัวอย่างเลือดรวมที่มีความเข้มข้นเฮปารินมากกว่า 100 U/mL ทำให้ตรวจวัดโซเดียมได้ค่าต่ำกว่าความจริง 2-3 mmol/L ทั้งในตัวอย่างที่เก็บด้วยหลอดเก็บเลือดแบบ electrolyte-balanced heparin และแบบคาพิลลารี ซึ่งกรณีดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อตัวอย่างเลือดไม่ได้สัดส่วนกับเฮปาริน⁽¹³⁾ แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าได้ควบคุมสัดส่วนของเลือดและสารกันเลือดแข็งให้มีสัดส่วนตามที่กำหนด จึงพบว่าความเข้มข้นของโซเดียมเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ส่วนผลการตรวจวัดโพแทสเซียมพบว่าค่าไม่เปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับการศึกษาของ Boyanton ที่พบว่าผลการตรวจวัดโพแทสเซียมในชั่วโมงที่ 8 ไม่แตกต่างจากผลการตรวจวัดที่ 0.5 ซม. หลังเจาะเลือด⁽⁶⁾ แต่จากการศึกษาของ Wei Y และคณะในปี 2010⁽¹⁴⁾ พบว่าเมื่อวางพลาสติกที่ใช้ลิเทียมเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งไว้นาน 48 ชั่วโมง ระดับโพแทสเซียมในพลาสติกเพิ่มขึ้นร้อยละ 58 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น การที่ค่าเพิ่มขึ้นอาจมาเหตุจากโพแทสเซียมในเซลล์เคลื่อนที่ออกนอกเซลล์มากขึ้น

ในการศึกษานี้พบว่าผลการตรวจวัดคลอไรด์ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ระดับคาร์บอนไดออกไซด์รวมลดลงแต่ไม่เกินค่าที่กำหนดให้ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Boyanton⁽⁶⁾ ที่พบว่าผลการตรวจวัดทั้งสองการทดสอบมีค่าลดลงเมื่อวางตัวอย่างพลาสติกไว้นาน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง การที่ค่าคลอไรด์เปลี่ยนแปลงในการศึกษาดังกล่าวน่าจะเป็นผลจากการเกิด chloride-bicarbonate shift ที่เกิดขึ้นเพื่อกำจัด H^+ ที่เกิดขึ้น⁽¹⁵⁾ แต่เนื่องจากในการศึกษานี้ใช้ระยะเวลาเพียง 7 ชั่วโมง การเกิด H^+ ยังไม่มากพอที่จะเห็นการเปลี่ยนแปลงของคลอไรด์ชัดเจนเหมือนการวางตัวอย่างไว้นาน 24 ชั่วโมง ถึงแม้มีรายงานว่าเฮปารินสามารถรบกวนทางบวกต่อการตรวจวัดคลอไรด์ด้วยวิธี ion-selective electrode ในเครื่องวิเคราะห์บางรุ่นเพราะอิเล็กโตรดที่ตรวจวัดคลอไรด์สามารถตรวจวัดเฮปารินได้ เพราะเฮปารินที่ละลายน้ำมีพลังงานมากกว่าคลอไรด์⁽¹⁶⁾ เป็นผลให้คลอไรด์เพิ่มขึ้น 2-10 mEq/L⁽¹⁷⁾ แต่ในการศึกษานี้ไม่พบเหตุการณ์ดังกล่าวเพราะค่าคลอไรด์เท่ากันตลอดการศึกษา

ส่วนผลการตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์รวมพบว่าในการศึกษานี้ลดลง 14.5 % เมื่อวางไว้นาน 8 ชั่วโมง ส่วนการศึกษาของ Boyanton⁽⁶⁾ พบว่าที่ 8 ชั่วโมงยังมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมื่อวางไว้ครบ 24 ชั่วโมงพบว่าลดลง 5% จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเมื่อวางตัวอย่างไว้ที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น ผลการตรวจวัดคาร์บอนไดออกไซด์รวมลดลงมากขึ้น⁽¹⁸⁾ การที่มีค่าลดลงน่าจะเกิดจากการระเหยของคาร์บอนไดออกไซด์จากตัวอย่าง แต่ในการศึกษานี้ได้ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส และปิดฝาหลอดตัวอย่างไว้ตลอดเวลา ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่พบว่าตัวอย่างมีการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์น้อยกว่าและเวลาที่ใช้ในการศึกษาสั้นกว่า

ถึงแม้ว่าซีรัมจะเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดทางเคมีคลินิก และพลาสมาที่มีลิเทียมเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งที่เก็บด้วยหลอดที่มีเจลกันมีความเหมาะสมรองจากซีรัม⁽¹⁴⁾ แต่จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินีน โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ และคาร์บอนไดออกไซด์รวม สามารถใช้พลาสมาที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งที่วางไว้ให้สัมผัสเซลล์ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 ชั่วโมงได้ เพราะความแตกต่างจากค่าเริ่มต้นยังอยู่ในช่วง total allowable error limit ยกเว้นการตรวจวัดกลูโคสไม่ควรใช้ตัวอย่างที่วางไว้นานเกิน 4 ชั่วโมง เพราะที่เวลานี้เริ่มมีค่ามากกว่า medical allowable error และเพื่อให้ได้ผลถูกต้องควรตรวจวัดทันที

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลเคมีและผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างตรวจวัดและเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ ขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนบางส่วนในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. NCCLS Infobase 95, H18-A. Procedure for the handling and processing of blood specimens; approved guideline. Villanova, PA: NCCLS, 1995.
2. Young D, Bermes E. Specimen collection and processing ; sources of biological variation. In: Tietz NW, Burtis CA Ashwood ER, eds. Textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia : WB Saunder, 1994: 58-101.
3. Narayanan S. The pre-analytic phase. An important component of laboratory medicine. Am J Clin Pathol 2000; 113: 429-52.
4. Lutomski M, Bower H. The effect of thombocytosis on serum potassium and phosphorus concentrations Am J Med Sci 1994; 307: 255-8.
5. Westgard J. CLIA requirements for analytical quality (online) 2009 (cited 2011 October 26). Available from <http://www.westgard.com/clia-requirements-for-analytical-quality>.
6. Boyanton L, Jr., Blick E. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. Clin Chem 2002; 48: 2242-7.
7. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33: 231-8.
8. Urban P, Buchmann B, Scheidegger D. Facilitated determination of ionized calcium. Clin Chem 1985; 31: 264-6.
9. Toffaletti G, Wildermann F. The effects of heparin anticoagulants and fill volume in blood gas syringes on ionized calcium and magnesium measurements. Clin Chim Acta 2001; 304:147-51.
10. Landt M, Hertin L, Smith H, et al. Interference in ionized calcium measurements by heparin salts. Clin Chem 1994; 40: 565-70.
11. Wilhite R, Smith C, Landt M. Interference of zinc heparin anticoagulant in determination of plasma magnesium. Clin Chem 1994; 40: 848-9.
12. Toffaletti J. Use of novel preparations of heparin to eliminate interference in ionized calcium measurements: have all the problems been solved? Clin Chem 1994; 40: 508-9.
13. Yip M, Chan K, Zielinski N, Adeli K. Heparin interference in whole blood sodium measurements in a pediatric setting. Clin Biochem 2006; 39: 391-5.

14. Wei Y, Zhang C, Yang X, Ji M. The feasibility of using lithium-heparin plasma from gel separator tube as a substitute for serum in clinical biochemical tests. *Lab Med* 2010; 41: 215-9.
15. Goodman R, Vincent J, Rosen I. Serum potassium changes in blood clots. *Am J Clin Pathol* 1954; 24: 111-3.
16. Rayana C, Burnett W, Covington K, et al. Recommendation for measuring and reporting chloride by ISEs in undiluted serum, plasma or blood. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 346-52.
17. Bowen A, Hortin L, Csako G, Otanez H, Remaley T. Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays. *Clin Biochem* 2010; 43: 4-25.
18. Rehak N, Chiang T. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2111-4.