

Evaluation of Blood Chemistry Stability Using Vacuum Blood Collection Tube

Ornanong Patsri*, Nopparat Keawhanam, Kesorn Butruang and Supasiri Sutthisom

Clinical Chemistry and Immunology Laboratory, Department of Medical Technology, Prasart Neurological Institute, Bangkok, Thailand

Abstract

The storage process and the time spent in transporting the specimens to the laboratory have resulted in inaccurate values. The purpose of this study was to determine the stability of glucose, BUN (blood urea nitrogen), creatinine, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in various blood collection tubes, including Gel & Clot, Clot Activator, Heparin, Sodium Fluoride (NaF) and Gel & Heparin. Blood samples were collected from 90 volunteers and centrifuged for measuring chemicals at time 0, 1, 2, 4, 8, 24, 48, and 72 hours. The data were compared with immediately measured values at 0 hours, allowable total error (TEa) and the significant change limits (SCL) range. The results showed that the stability of glucose in the NaF tube at 72 hours was not different from those of the immediately measured samples ($p = 0.270$), and the values did not exceed SCL. The stability in Gel & Clot, Clot Activator, and Heparin tubes was 24, 4, and 4 hours ($p = 0.015, 0.001$ and 0.004 , respectively) and the results were in SCL within 48, 4, and 4 hours, respectively. The stability in Gel & Heparin tube of BUN, creatinine and ALT at 48 hours did not exceed SCL and were not different from those of the immediately measured samples ($p = 0.067, 0.161$, and 1.000 , respectively). ALT was in SCL but different from those of the immediately measured samples at 24 hours ($p < 0.001$).

Keywords : Stability, Biochemical, Blood collection tube

*Corresponding author E-mail address: mu_mt_ning@hotmail.com

Received: 24 November 2019

Revised: 6 January 2020

Accepted: 24 February 2020

การศึกษาความคงทนของผลตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือด โดยใช้หลอดเก็บเลือดสุญญากาศ

อรอนงค์ พัฒศรี* นพรัตน์ แก้วหานาม เกษร บุตรเรือง และ ศุภสิริ สุทธิสม

งานเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันประสาทวิทยา กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

กระบวนการเก็บรักษาและระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่งสิ่งส่งตรวจมายังห้องปฏิบัติการ มีผลทำให้การวิเคราะห์มีความคลาดเคลื่อนได้ อีกทั้งยังไม่มีข้อกำหนดของหน่วยงานเกี่ยวกับระยะเวลาในการขนส่งตรวจการทดสอบเพิ่ม โดยใช้ตัวอย่างเลือดเดิม การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงทนของการตรวจวิเคราะห์ glucose, BUN (blood urea nitrogen), creatinine, aspartate aminotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหลอดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Gel & Clot, Clot Activator, Heparin, Sodium Fluoride (NaF) และ Gel & Heparin โดยใช้ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัคร 90 ราย นำมาปั่นตกและตรวจวัดสารเคมี ที่เวลา 0, 1, 2, 4, 8, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นำผลการตรวจวัดที่ได้เทียบกับการผลตรวจวัดทันที เทียบกับ allowable total error (TEa) และช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก (significant change limit; SCL) ผลการศึกษาพบว่า การทดสอบ glucose ในหลอดชนิด NaF ที่เวลา 72 ชั่วโมง ค่าไม่แตกต่างจากค่าหลังตรวจวัดทันที ($p=0.270$) และค่าทั้งหมดอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก สำหรับหลอดชนิด Gel & Clot, Clot Activator และ Heparin ให้ค่าแตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันทีอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่เวลา 24, 4 และ 4 ชั่วโมง ($p = 0.015, 0.001$ และ 0.004 ตามลำดับ) โดยค่ายังอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 48, 4 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับ ส่วนการทดสอบในหลอดชนิด Gel & Heparin โดยไม่แยกซีรัมหรือพลาสมาในการทดสอบ BUN, creatinine และ ALT ที่เวลา 48 ชั่วโมง ค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก และไม่แตกต่างจากค่าที่ได้หลังตรวจวิเคราะห์ทันที ($p = 0.067, 0.161$ และ 1.000 ตามลำดับ) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ ALT พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก แต่ค่าแตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันทีอย่างมีนัยสำคัญที่เวลา 24 ชั่วโมง ($p < 0.001$)

คำสำคัญ: ความคงทน สารชีวเคมี หลอดเก็บเลือด

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: mu_mt_ning@hotmail.com

รับบทความ: 24 พฤศจิกายน 2562

แก้ไขบทความ: 6 มกราคม 2563

รับตีพิมพ์บทความ: 24 กุมภาพันธ์ 2563

บทนำ

ปัจจุบันการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ มีทั้งการส่งตรวจภายในโรงพยาบาล การตรวจสุขภาพจากหน่วยตรวจสุขภาพเคลื่อนที่ หรือการส่งจากหน่วยย่อยมายังศูนย์ห้องปฏิบัติการกลาง โดยกระบวนการเก็บรักษาและระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่งสิ่งส่งตรวจมายังห้องปฏิบัติการอาจมีผลทำให้ผลการวิเคราะห์มีค่าคลาดเคลื่อนหรือแตกต่างกัน จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับสารเคมีในเลือดที่มีผู้ศึกษาไว้พบว่า การเปลี่ยนแปลงของสารเคมีในเวลาต่างๆ กันของแต่ละการทดสอบ มีการเปลี่ยนแปลงไม่เท่ากัน โดย glucose จะมีระดับลดลงภายใน 1 ชั่วโมง ในหลอดเลือดชนิด clotted blood แต่ในหลอดเลือดชนิด Gel & Clot จะมีความคงทนของระดับ glucose, total bilirubin, blood urea nitrogen (BUN) และ uric acid เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 1 สัปดาห์ แต่ aspartate aminotransferase (AST) จะมีระดับสูงขึ้นใน 48 ชั่วโมง⁽¹⁾ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับสารเคมีในซีรัม ได้แก่ glucose, BUN, creatinine, sodium (Na^+), potassium (K^+), chloride (Cl^-) และ total CO_2 (TCO_2) หลังจากปั่นแยกเม็ดเลือดกับน้ำเหลืองและตั้งหลอดเก็บเลือดไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) นาน 7 ชั่วโมง โดยตรวจวัดสารเคมีทันทีภายในเวลาไม่เกิน 30 นาที แล้วตั้งหลอดเก็บเลือดไว้ที่อุณหภูมิห้อง และนำมาตรวจ เมื่อเวลาครบ 1, 3, 5 และ 7 ชั่วโมง พบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับ BUN และ creatinine ในซีรัมหลังตั้งไว้ 7 ชั่วโมงไม่แตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันที ค่าเฉลี่ยระดับ K^+ ที่ตั้งไว้ 1 ชั่วโมงไม่แตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันที ส่วนค่าเฉลี่ยระดับ glucose, Na^+ , Cl^- และ TCO_2 ที่ตั้งไว้ 1 ชั่วโมงมีค่าแตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันทีอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)⁽²⁾ และจากการศึกษาที่ผ่านมาของระดับ glucose ในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด NaF

โดยแยกเก็บพลาสมาแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องพบว่าสามารถรักษาระดับความคงทนได้นานถึง 72 ชั่วโมง⁽³⁾ นอกจากนี้ปัจจุบันยังมีบริการเจาะเลือดจากโรงพยาบาลชุมชน เพื่อลดความแออัดภายในโรงพยาบาลและเพื่ออำนวยความสะดวกให้แก่ประชาชน ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาในการขนส่งมายังโรงพยาบาล การแยกเก็บพลาสมาหรือซีรัมออกจากเม็ดเลือดแดงแล้วเก็บไว้ในตู้เย็นจะทำให้สามารถทำการทดสอบได้เกือบทุกรายการภายใน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส⁽⁴⁾ แต่งานเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันประสาทวิทยา ไม่ได้ปั่นเก็บซีรัมเนื่องจากมีปริมาณงานมาก โดยปัจจุบันหน่วยงานได้เก็บหลอดเลือดที่ทดสอบเสร็จแล้วทั้งหลอดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน (48 ชั่วโมง) เพื่อการทวนสอบกรณีมีความผิดพลาดเกิดขึ้น การทดสอบที่แพทย์นิยมส่งตรวจเพิ่มได้แก่ glucose, BUN, creatinine, AST และ ALT

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเจาะเก็บเลือดและตรวจวิเคราะห์ทันที (freshly drawn serum) จะทำให้ได้ค่าผลการตรวจวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับผู้ป่วยมากที่สุด ซึ่งในกรณีที่ต้องตรวจวิเคราะห์ล่าช้าออกไป หรือมีการขอเพิ่มรายการทดสอบในภายหลัง ก็จะมีผลทำให้ค่าการตรวจวิเคราะห์ผิดไปจากความเป็นจริงได้ และปัจจุบันหลอดที่ใช้ในการบรรจุเลือดมีหลายชนิดด้วยกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความคงทนของผลการตรวจวิเคราะห์ glucose, BUN, creatinine, AST และ ALT ในเลือดโดยใช้หลอดเก็บเลือดสุญญากาศชนิดต่างๆ ได้แก่ Clot Activator, Gel & Clot, Heparin Sodium Fluoride (NaF) และ Gel & Heparin เพื่อนำไปใช้เป็นเกณฑ์ในการเก็บรักษา และขนส่งสิ่งส่งตรวจมายังห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเกณฑ์

ระยะเวลาที่สามารถเพิ่มการทดสอบในหลอดเลือดแต่ละชนิดเพื่อเพิ่มความสะดวกในการเพิ่มการทดสอบและเพื่อให้ได้รับผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ

วิธีการศึกษา

1. ประชากรที่ศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้เป็นเลือดที่เจาะจากอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี เพศชายและหญิง อายุ 20-60 ปี สามารถอ่านออกเขียนได้ และยินดีเข้าร่วมโครงการโดยสมัครใจ จำนวน 90 ราย โดยคำนวณขนาดตัวอย่างจากความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง 2 กลุ่ม (detecting the difference between 2 population means) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ power of test 80% เจาะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำ (venous blood) โดยเจาะเก็บเลือดในหลอดสุญญากาศ IMPROVACUTER® ชนิด Clot Activator, Gel & Clot, Heparin, Gel & Heparin และ NaF ตามลำดับ การศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการวิจัยและจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ สถาบันประสาทวิทยา หมายเลขโครงการ 62002

2. ขั้นตอนการทดสอบ

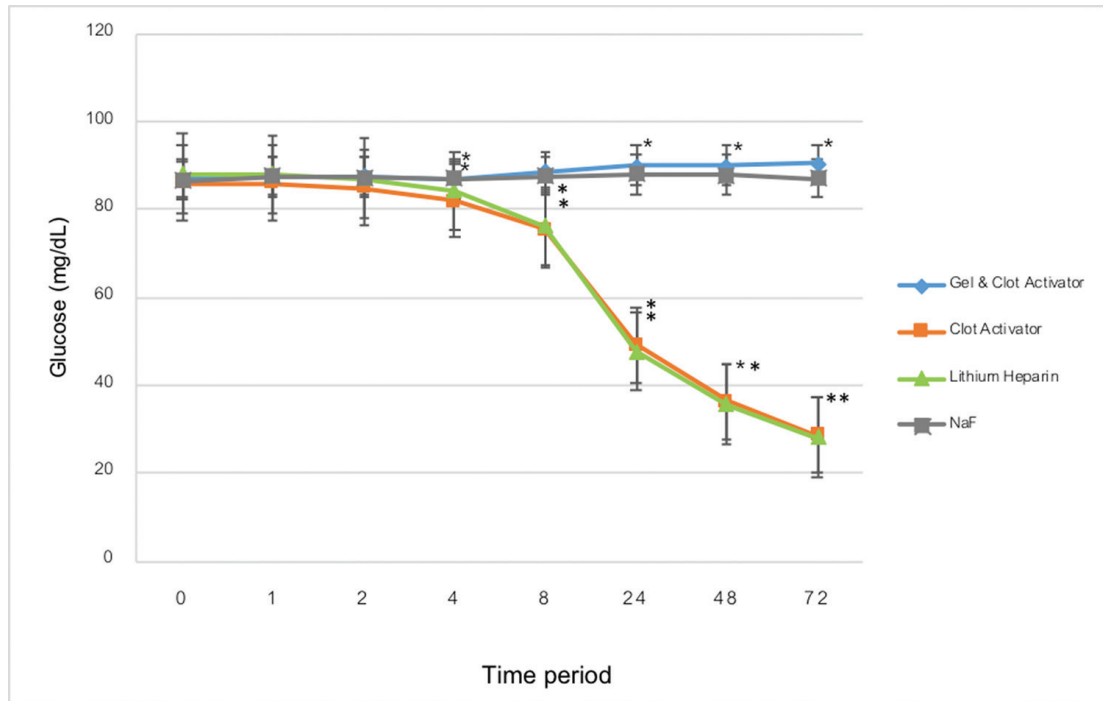
ตัวอย่างเลือดที่เจาะเก็บด้วยหลอดสุญญากาศชนิด Clot Activator, Gel & Clot และ Gel & Heparin จะตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ก่อนปั่นตกด้วยเครื่องปั่นตกตะกอน (centrifuge) โดยหลอดชนิด Gel & Clot และ Gel & Heparin นำมาปั่นที่ความเร็ว 2,000 g เป็นเวลา 10 นาที และสำหรับตัวอย่างเลือดที่เจาะเก็บด้วยหลอดสุญญากาศชนิด Clot Activator, Heparin และ NaF นำมาปั่นตกที่ความเร็ว 1,800 g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์ ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Unicel DxC 800 Synchron Clinical System ของบริษัท Beckman Coulter, USA จัดจำหน่ายโดย

บริษัท PCL Holding ในห้องปฏิบัติการงานเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันประสาทวิทยา โดยควบคุมคุณภาพการตรวจวัดด้วยสารควบคุมคุณภาพ (control material) ทุกครั้งก่อนตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตรวจค่า glucose ในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Clot, Clot Activator, Heparin และ NaF ที่เวลา 0, 1, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง จากนั้นเก็บหลอดเลือดไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส และตรวจที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับการทดสอบค่า BUN, creatinine, AST และ ALT ในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Heparin ที่เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง จากนั้นเก็บหลอดเลือดไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส และตรวจที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 18.0 for Windows (ลิขสิทธิ์ SPSS Inc. & IBM) โดยข้อมูลทั่วไปวิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบค่าผลการตรวจที่ได้ในเวลาต่างๆ กับค่าที่ตรวจวัดทันที (เวลาที่ 0) โดยใช้สถิติ paired t-test เปรียบเทียบค่าผลการตรวจที่วัดทันทีที่ 0 ชั่วโมง กับที่เวลาต่างๆ คือ 1, 2, 4, 8, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือด โดยค่าความแตกต่างไม่เกิน allowable total error (TEa)⁽⁵⁾ และไม่เกินเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก (significant change limit; SCL) คือค่าเฉลี่ยที่ 0 ชั่วโมง ± 3 USD⁽⁶⁾ (usual standard deviation) ซึ่งได้มาจากค่า standard deviation (SD) ของสารควบคุมคุณภาพ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันประสาทวิทยา ในระยะ 3 เดือน



* indicates that the mean value is significantly changed with $p < 0.05$

**USD of glucose = 1.0 and SCL range = mean at 0 hours $\pm$ 3.0

Fig.1 Changes of glucose levels (mg/dL) at various times in 4 types of blood collection tube

ผลการศึกษา

ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 90 ราย โดยเปรียบเทียบค่าผลตรวจวัดทันทีที่ 0 ชั่วโมง กับที่เวลาต่างๆ ของการทดสอบพบว่าระดับ glucose ค่อยๆ ลดลง (Fig. 1) โดยเฉพาะในหลอดชนิด Clot Activator และ Heparin มีค่าลดลงแตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันทีอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 4 ชั่วโมง ส่วนในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Clot มีความแตกต่างจากค่าที่ตรวจวัดทันทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในชั่วโมงที่ 24 แต่ยังอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 48 ชั่วโมงและในหลอดชนิด NaF

ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ตลอดการทดสอบที่เวลา 72 ชั่วโมง (Table 1)

เมื่อเขียนกราฟค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงจากเวลาที่ 0 ชั่วโมง ที่เวลาต่างๆ กับค่าความแตกต่าง allowable total error (TEa) พบว่าการทดสอบ glucose ในหลอดชนิด Gel & Clot มีค่าไม่เกิน TEa (10%) ภายใน 48 ชั่วโมง สำหรับชั่วโมงที่ 72 มีค่าเกิน TEa 1 ราย (ร้อยละ 1.11) (Fig. 2) ในหลอดชนิด Clot Activator มีค่าไม่เกิน TEa ภายใน 2 ชั่วโมง สำหรับชั่วโมงที่ 4 มีค่าเกิน TEa 2 ราย (ร้อยละ 2.22) (Fig. 3) ในหลอดชนิด Heparin มีค่าไม่เกิน TEa ภายใน 2 ชั่วโมง สำหรับชั่วโมงที่ 4

Table 1 The comparison of the results at various times of glucose levels (mg/dL) in 4 types of blood collection tube

Time period	Gel & Clot Activator	P	Clot Activator	P	Lithium Heparin	P	NaF	P
0	87.11 ± 7.89	-	86.04 ± 7.67	-	88.16 ± 8.80	-	86.46 ± 9.68	-
1	87.59 ± 8.04	0.688	86.00 ± 7.82	0.969	88.02 ± 8.75	0.919	87.47 ± 7.25	0.429
2	87.52 ± 7.98	0.728	84.92 ± 7.79	0.332	87.10 ± 9.03	0.428	87.36 ± 7.45	0.487
4	86.83 ± 11.60	0.606	82.04 ± 7.83 ^a	0.001*	84.28 ± 9.03 ^a	0.004*	87.13 ± 7.43	0.599
8	88.71 ± 8.01	0.179	75.43 ± 8.09 ^a	<0.001*	76.22 ± 9.27 ^a	<0.001*	87.58 ± 7.18	0.378
24	90.04 ± 8.18	0.015*	49.28 ± 8.50 ^a	<0.001*	47.73 ± 9.31 ^a	<0.001*	87.99 ± 7.60	0.239
48	90.02 ± 8.11	0.016*	36.22 ± 9.28 ^a	<0.001*	35.61 ± 8.11 ^a	<0.001*	87.90 ± 7.43	0.263
72	90.40 ± 8.34 ^a	0.007*	28.61 ± 9.29 ^a	<0.001*	28.06 ± 7.33 ^a	<0.001*	87.13 ± 8.79	0.270

* indicates that the mean value is significantly changed with p < 0.05
^a indicates that the value is over SCL (significant change limit)

มีค่าเกิน TEa 4 ราย (ร้อยละ 4.44) (Fig. 4) และในหลอดเลือดชนิด NaF มีค่าไม่เกิน TEa ภายใน 72 ชั่วโมงที่ทำการศึกษา (Fig. 5)

การทดสอบ BUN, creatinine, AST และ ALT ในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Heparin เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าผลตรวจวัดทันทีที่ 0 ชั่วโมง

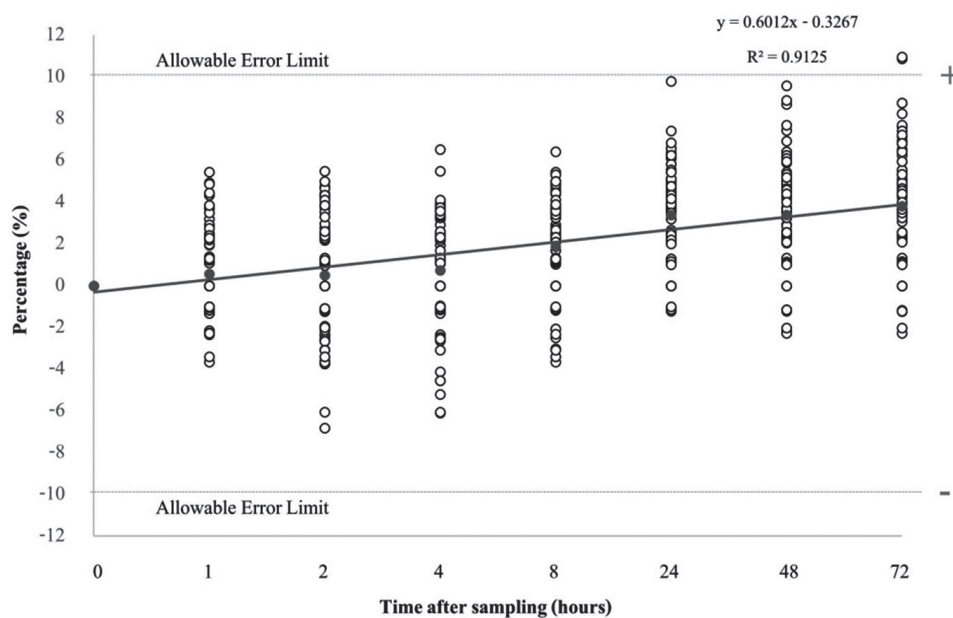


Fig. 2 Changes in glucose values in Gel & Clot tube after sampling at various times

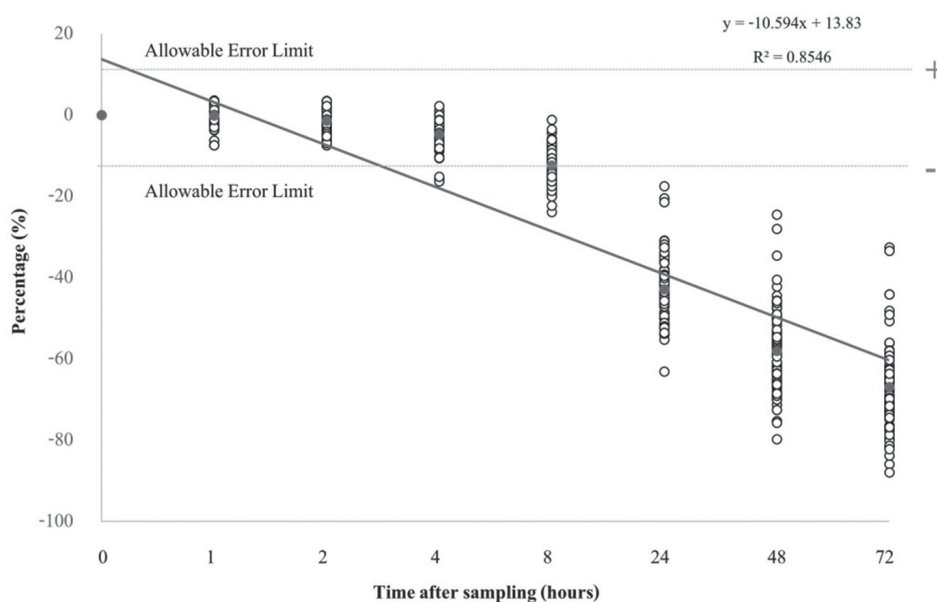


Fig. 3 Changes in glucose values in Clot Activator tube after sampling at various times

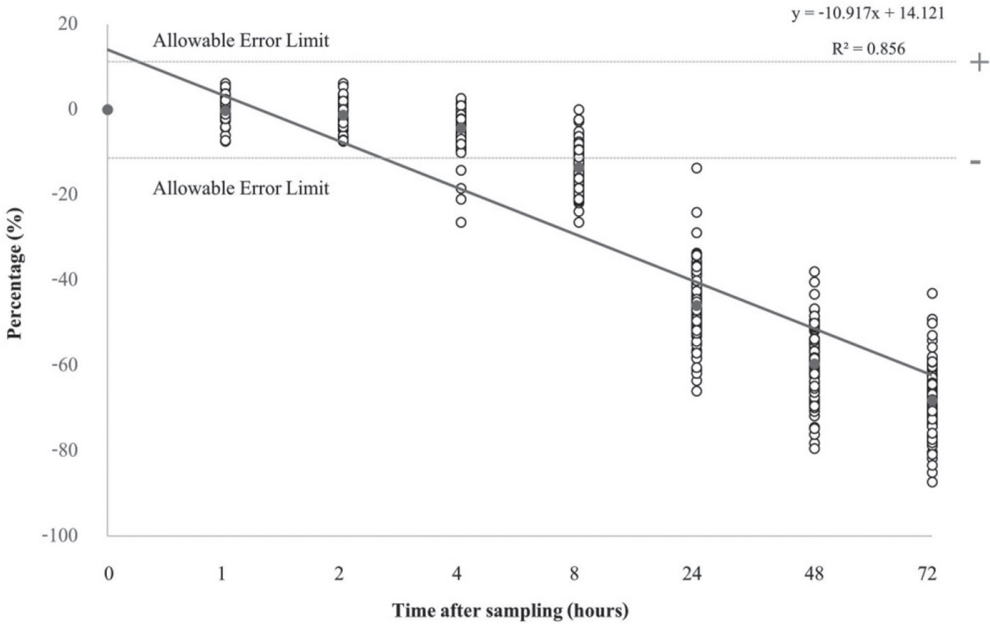


Fig. 4 Changes in glucose values in Heparin tube after sampling at various times

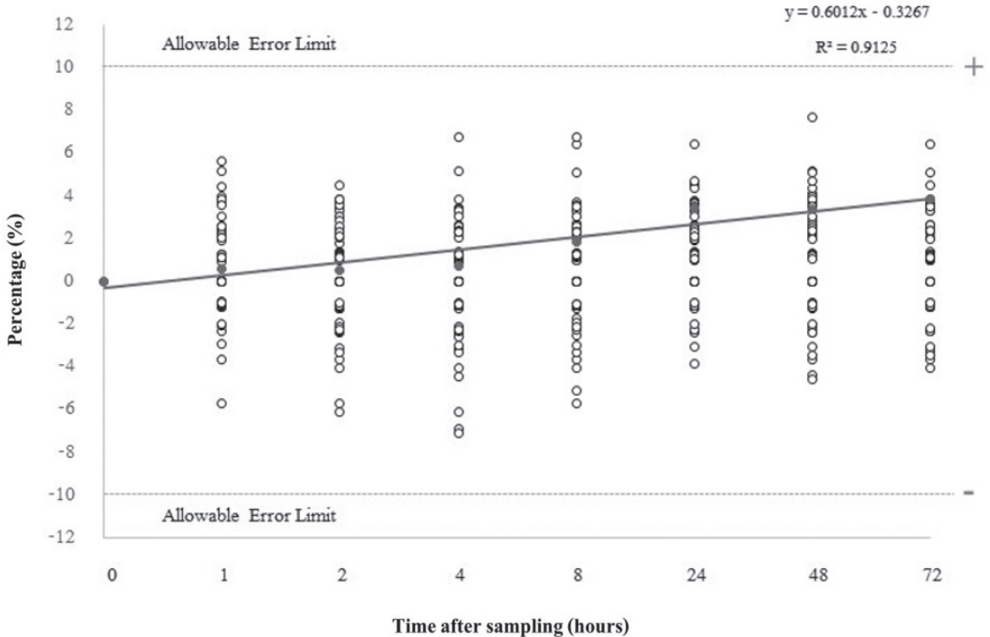


Fig. 5 Changes in glucose values in NaF tube after sampling at various times

กับที่เวลาต่างๆ คือ 1, 2, 4, 8, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าการทดสอบ AST มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในชั่วโมงที่ 24 ส่วนการทดสอบ BUN, creatinine และ ALT ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง (Table 2)

เมื่อเขียนกราฟค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงจากเวลาที่ 0 ชั่วโมง กับที่เวลาต่างๆ เกี่ยวกับค่าความแตกต่าง TEa ของการทดสอบในหลอดชนิด Gel & Heparin พบว่า

การทดสอบ BUN มีค่าเกิน TEa ใน 2 ชั่วโมง จำนวน 4 ราย (ร้อยละ 4.44) ชั่วโมงที่ 4 มีค่าเกิน TEa 6 ราย (ร้อยละ 6.66) ชั่วโมงที่ 8 มีค่าเกิน TEa 5 ราย (ร้อยละ 5.55) ชั่วโมงที่ 24 และ 48 มีค่าเกิน TEa 3 ราย (ร้อยละ 3.33) (Fig. 6) แต่ค่าการทดสอบตลอดทั้ง 48 ชั่วโมง พบว่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิกทั้งหมด (Table 3)

การทดสอบ creatinine มีค่าไม่เกิน TEa ในชั่วโมงที่ 2, 4, 24 และ 48 สำหรับชั่วโมงที่ 8 มีค่าเกิน TEa 1 ราย (ร้อยละ 1.11) (Fig. 7) และค่าการทดสอบตลอดทั้ง 48 ชั่วโมง พบว่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิกทั้งหมด (Table 3)

การทดสอบ AST มีค่าไม่เกิน TEa ภายใน 8 ชั่วโมง สำหรับชั่วโมงที่ 24 และ 48 มีค่าเกิน TEa 7 ราย (ร้อยละ 7.77) (Fig. 8) แต่ค่าการทดสอบอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิกทั้งหมดภายใน 8 ชั่วโมง (Table 3)

สำหรับการทดสอบ ALT มีค่าไม่เกิน TEa และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 48 ชั่วโมงที่ทำการศึกษา (Fig. 9) (Table 3)

วิจารณ์และสรุป

จากการศึกษาความคงทนของผลตรวจ

วิเคราะห์ glucose, BUN, creatinine, AST และ ALT ในเลือดหลังปั่นแยกชั้นเม็ดเลือด โดยใช้หลอดเก็บเลือดสุญญากาศชนิด IMPROVACUTER พบว่า

1. การทดสอบ Glucose

ในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Clot มีความคงทนของผลตรวจวิเคราะห์ดี โดยสามารถรักษาระดับ glucose ได้นาน 48 ชั่วโมง เนื่องจากหลอดชนิดนี้จะมี gel กั้นระหว่างเม็ดเลือดและซีรัม ทำให้ไม่เกิดกระบวนการใช้ glucose ของเซลล์ (glycolysis) แต่ค่าที่ตรวจได้ในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Clot มีแนวโน้มสูงขึ้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากการวางหลอดเลือดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ปิดฝาจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าอุณหภูมิ และระยะเวลาก่อนการปั่นแยกเลือดมีผลทำให้ค่าการทดสอบเพิ่มสูงขึ้น⁽⁷⁾ แต่ไม่เกินค่า TEa และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิกภายใน 48 ชั่วโมง ส่วนหลอดชนิด Clot Activator และ Heparin มีการเปลี่ยนแปลงลดลง เนื่องจากไม่มีสารที่ไปยับยั้งการใช้ glucose ซึ่งค่าไม่เกิน TEa และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 4 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boyanton และคณะ⁽⁸⁾ ที่ได้ศึกษาความเปลี่ยนแปลงของค่าการทดสอบในพลาสมาและซีรัม ของหลอดเลือด Vacutainer® ชนิด Serum Separator Tube (SST) และ Heparin ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ที่เวลา 0, 4, 8, 16, 24, 32, 40, 48 และ 56 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบผลกับที่เวลา 0 ชั่วโมง พบว่าค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 4 ชั่วโมง ในหลอดเลือดทั้ง 2 ชนิด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li และคณะ⁽⁹⁾ ที่ได้ศึกษาระดับ glucose ในหลอดเลือด 3 ชนิดได้แก่ Gel & Clot, Heparin และ NaF ในอาสาสมัคร 18 ราย โดยตั้งหลอดเลือดไว้ที่อุณหภูมิห้อง 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตรวจวัดระดับ

Table 2 The comparison of the results at various times of BUN, creatinine, AST, and ALT in Gel & Heparin tube

Time period	BUN	P	Creatinine	P	AST	P	ALT	P
0	11.91 ± 3.29	-	0.75 ± 0.17	-	21.88 ± 5.05	-	18.16 ± 10.43	-
2	11.97 ± 3.33	0.910	0.76 ± 0.16	0.877	22.13 ± 5.12	0.736	18.11 ± 10.33	0.977
4	11.91 ± 3.42	1.000	0.76 ± 0.17	0.837	22.47 ± 5.07	0.436	18.13 ± 10.45	0.989
8	12.06 ± 3.40	0.772	0.76 ± 0.17	0.683	23.14 ± 5.21	0.099	18.26 ± 10.43	0.949
24	12.67 ± 3.48	0.136	0.78 ± 0.18	0.243	25.08 ± 5.56	<0.001*	18.02 ± 10.32	0.931
48	12.84 ± 3.51	0.067	0.79 ± 0.18	0.161	26.69 ± 5.40	<0.001*	18.16 ± 10.09	1.000

* indicates that the mean value is significantly changed with p < 0.05

Table 3 USD, SCL range and average results after sampling at various times of BUN, creatinine, AST and ALT

Test	Unit	%TEa	Time of analysis (hours)						USD value	SCL range
			0 (SD)	2 (SD)	4 (SD)	8 (SD)	24 (SD)	48 (SD)		
BUN	mg/dL	9%	11.91 ± 3.29	11.97 ± 3.33	11.91 ± 3.42	12.06 ± 3.40	12.67 ± 3.48	12.84 ± 3.51	0.5	10.41 – 13.41
Creatinine	mg/dL	15%	0.75 ± 0.17	0.76 ± 0.16	0.76 ± 0.17	0.76 ± 0.17	0.78 ± 0.18	0.79 ± 0.18	0.022	0.684 – 0.816
AST	U/L	20%	21.88 ± 5.05	22.13 ± 5.12	22.47 ± 5.07	23.14 ± 5.21	25.08 ± 5.56*	26.69 ± 5.40*	1.0	18.88 – 24.88
ALT	U/L	20%	18.16 ± 10.43	18.11 ± 10.33	18.13 ± 10.45	18.26 ± 10.43	18.02 ± 10.32	18.16 ± 10.09	1.0	15.16 – 21.16

* indicates the value over SCL (Significant Change Limit)

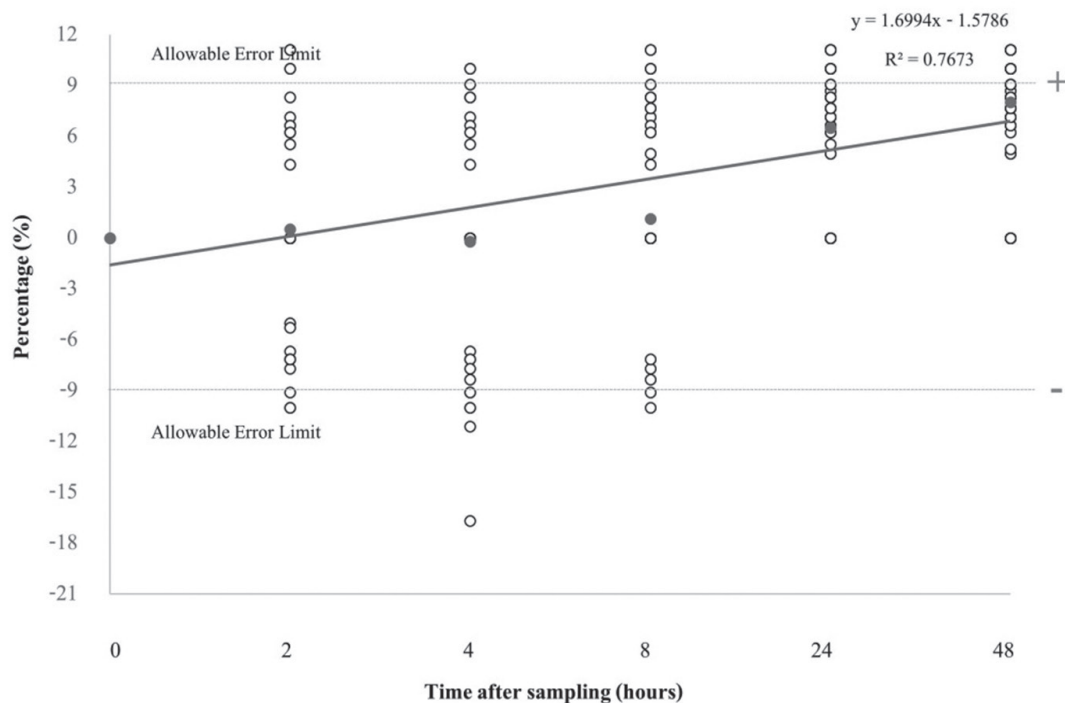


Fig. 6 Changes in BUN values in Gel & Heparin tube after sampling at various times

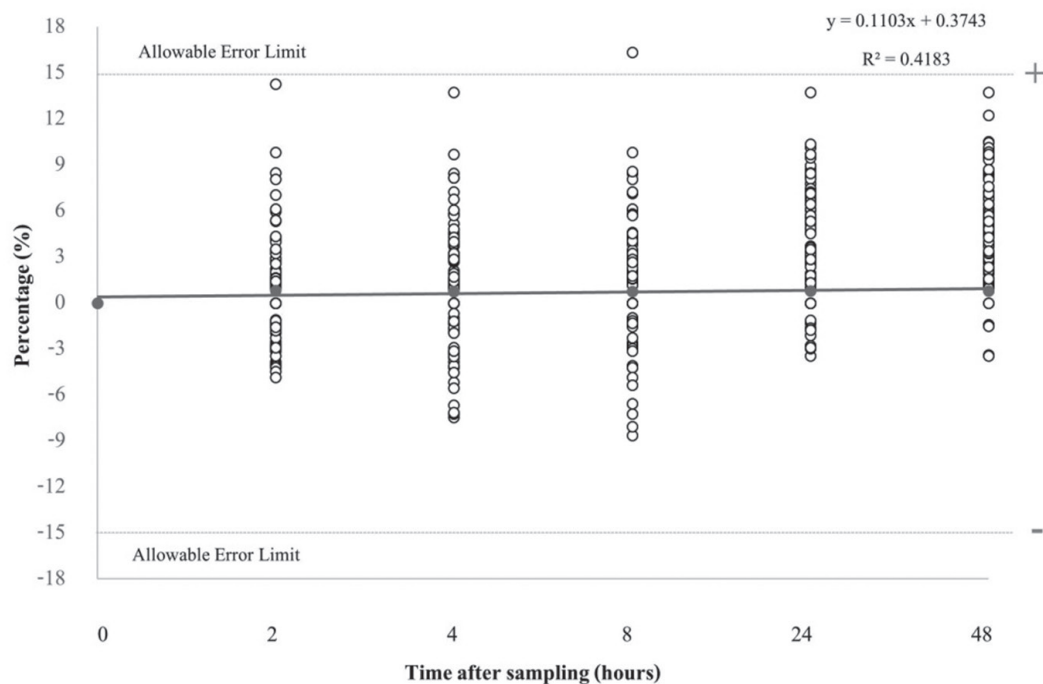


Fig. 7 Changes in creatinine values in Gel & Heparin tube after sampling at various times

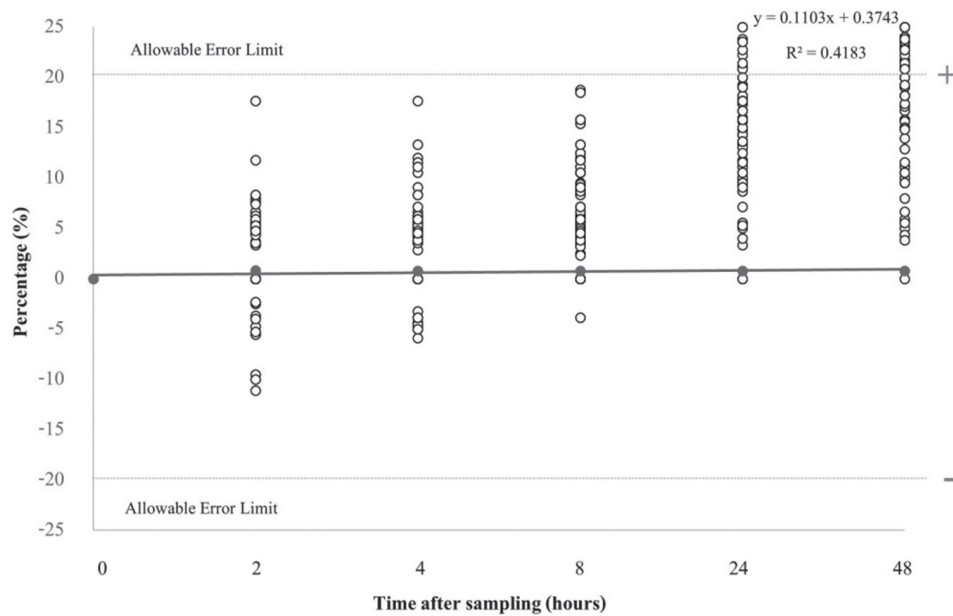


Fig. 8 Changes in AST values in Gel & Heparin tube after sampling at various times

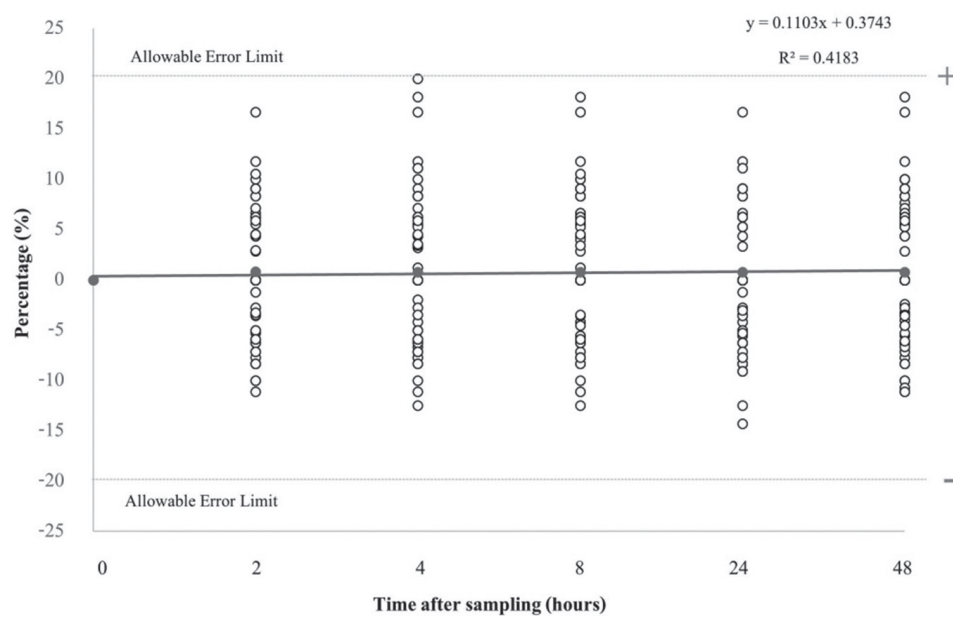


Fig. 9 Changes in ALT values in Gel & Heparin tube after sampling at various times

glucose ที่ 4 ชั่วโมงแรก หลังจากแช่เย็น 6 ชั่วโมง และทดสอบเมื่อครบ 1 วัน จนกระทั่งวันที่ 5 หลังการเก็บเลือด พบว่าระดับ glucose ในหลอด Gel & Clot และ NaF มีค่าความคงทนของระดับ glucose ได้ถึงวันที่ 5 ในขณะที่หลอด Heparin มีค่าลดลงหลังจากชั่วโมงที่ 4 แสดงให้เห็นว่าการตรวจ glucose ในหลอดเลือดชนิด Clot Activator และ Heparin จะต้องตรวจวิเคราะห์ภายใน 2-4 ชั่วโมงหลังการเจาะเลือด เนื่องจากกระบวนการเผาผลาญ glucose จะยังดำเนินอยู่โดยเซลล์เม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดกระบวนการ glycolysis ในสิ่งส่งตรวจ ซึ่งจะมีผลทำให้ระดับกลูโคสที่ได้น้อยกว่าความเป็นจริง นอกจากนี้ อุณหภูมิในการเก็บรักษาส่งตรวจก่อนปั่นเหวี่ยงและแยกซีรัมหรือพลาสมาที่มีผลต่อระดับ glucose เช่นกัน โดยถ้าเก็บไว้ในตู้เย็นระดับ glucose จะค่อนข้างเสถียรอยู่ได้เป็นเวลาหลายชั่วโมง⁽¹⁰⁾ สำหรับ การทดสอบในหลอดสุญญากาศชนิด NaF มีค่าความคงทนของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดีที่สุด โดยสามารถรักษาระดับ glucose ให้มีค่าไม่เกิน TEa และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ได้นานมากกว่า 72 ชั่วโมง เนื่องจากหลอดชนิด NaF มีสาร potassium oxalate (KOx) ซึ่งสามารถยับยั้งกระบวนการใช้น้ำตาลของเซลล์ (glycolysis)⁽¹¹⁾ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Steele และคณะ⁽¹²⁾ ที่ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า plasma glucose ในหลอดเลือดชนิด NaF โดยได้ศึกษาทั้งการปั่นแยกในทันที กับตั้งทิ้งไว้โดยไม่ปั่น และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง กับแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 0, 2, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าหลอดชนิด NaF สามารถรักษาความคงทนของระดับ glucose ได้มากกว่า 48 ชั่วโมง โดยไม่จำเป็นต้องปั่นแยกเลือดในทันที และไม่จำเป็นต้องแช่น้ำแข็งในระหว่างการขนส่ง แสดงให้เห็นว่าหลอดชนิด NaF สามารถรักษาความคงทนของระดับ glucose ได้ดี

กล่าวได้ว่าหลอดเก็บเลือด Clot Activator

และ Heparin สามารถนำมาใช้ แทนหลอดเก็บเลือด NaF ได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อระดับ glucose ในเลือด เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ภายใน 4 ชั่วโมง หลังการเจาะเลือด นอกจากนี้หลอดเก็บเลือด Clot Activator และ Heparin ยังสามารถเก็บเลือดเพื่อไปตรวจสารชีวเคมีในรายการอื่นได้อีกด้วย เป็นการประหยัดเวลา และลดต้นทุนของห้องปฏิบัติการได้อีกด้วย

2. การทดสอบ BUN, Creatinine, AST และ ALT ในหลอดสุญญากาศชนิด Gel & Lithium Heparin

การทดสอบ BUN พบว่ามีระดับการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น แต่ค่าที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าหลังตรวจวิเคราะห์ทันที ($p > 0.05$) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการวางหลอดเลือดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ปิดฝา ส่งผลให้ค่าสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Oddoze C และคณะ ที่พบว่าระยะเวลา ชนิดของหลอดเลือด อุณหภูมิ และระยะเวลาก่อนการปั่นแยกเลือด มีผลทำให้ค่าการทดสอบเพิ่มสูงขึ้น⁽⁷⁾ โดยมีค่าเกิน TEa เฉลี่ยร้อยละ 3.87 แต่ค่าที่ได้อยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับทางคลินิก ทั้ง 48 ชั่วโมง การทดสอบ creatinine และ ALT มีค่าไม่เกิน TEa และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 48 ชั่วโมง ที่ทำการศึกษา และการทดสอบ AST มีค่าไม่เกิน TEa และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับทางคลินิก ภายใน 8 ชั่วโมง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการหลั่งของ AST ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงออกมา ทำให้ค่าสูงขึ้นเล็กน้อย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cuhadar และคณะ⁽¹⁾ ที่ศึกษาความคงทนของการทดสอบในหลอดชนิด Plain tube และ Serum gel separator ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 24 องศาเซลเซียส ที่เวลา 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าระดับ BUN ที่เก็บในหลอด Plain tube ทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 24 องศา

เซลเซียส และในหลอด Serum gel separator ที่เก็บที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส มีระดับเปลี่ยนแปลงใน 6 ชั่วโมงแรกของการทดสอบ แต่ในหลอด Serum gel separator ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าค่าไม่เปลี่ยนแปลงภายใน 30 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ⁽¹³⁾ ที่ได้ศึกษาความเปลี่ยนแปลงของสารเคมีที่เวลา 0.5, 3, 6, 24 ชั่วโมง พบว่าค่า creatinine, AST และ ALT ไม่เปลี่ยนแปลงใน 48 ชั่วโมงของการศึกษา ซึ่งค่า AST ที่ไม่สอดคล้องกันกับงานวิจัยครั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการศึกษาของ Zhang และคณะ ใช้เลือดที่ได้ปั่นแยกซีรัมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทดสอบ ในขณะที่งานวิจัยครั้งนี้ไม่ได้แยกพลาสมาออกจากเม็ดเลือดแดง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการทดสอบ AST หากไม่ได้แยกซีรัมหรือพลาสมาออกจากเม็ดเลือดแดงและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะต้องตรวจวิเคราะห์ภายใน 8 ชั่วโมงหลังการเจาะเลือด ในขณะที่การทดสอบ BUN, creatinine และ ALT สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ภายใน 48 ชั่วโมงหลังการเจาะเลือด โดยไม่จำเป็นต้องแยกซีรัมหรือพลาสมา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่งานเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันประสาทวิทยา ที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและการทดสอบในครั้งนี้ รวมทั้งขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.นริสา เก่งตรง บัณฑิตวิทยาลัย ประจำภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ ม.ธรรมศาสตร์ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาโครงการวิจัยนี้ และโครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก บริษัท เมดิทอป จำกัด

เอกสารอ้างอิง

1. Cuhadar S, Atay A, Koseoglu M, *et al.* Stability studies of common biochemical analytes in serum separator tubes with or without gel barrier subjected to various storage conditions. *Biochem Med* 2012; 22: 202-14.
2. Choosongsang P, Musigavon P, Wilairat B, *et al.* Changes in Levels of Glucose, BUN, Creatinine, Na⁺, K⁺, Cl⁻ and TCO. *Songklanagarind Med J* 2012; 29: 203-14.
3. Chan A, Swaminathan R, Cockram C. Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. *Clin Chem* 1989; 35: 315-7.
4. Lolekha P. *Applied clinical chemistry*. Bangkok: Chaicharoen; 1990; 18-214.
5. dgrhoads.com [homepage on the Internet]. South Burlington: Allowable Total Error Table Online Resources, Inc.; c2004 [updated 2009 Jul 1; cited 2019 Jan 9]. Available from: <http://www.dgrhoads.com/db2004/ae2004.php>.
6. Passey RB. Quality control for the clinical chemistry laboratory. In: Kaplan LA, Pesce JA, editors. *Clin Chem: theory, analysis, and correlation*. 3rd ed. St. Louis: Mosby; 1996; p. 385-91.
7. Oddoze C, Lombard E, Portugal H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clin Biochem* 2012; 45:464-9.

8. Boyanton BL, Blick KE. Stability Studies of Twenty-Four Analytes in Human Plasma and Serum. Clin Chem 2002; 48: 2242-7.
9. Li G, Cabanero M, Wang Z, *et al.* Comparison of glucose determinations on blood samples collected in three types of tubes. Ann Clin Lab Sci 2013; 43: 278-84.
10. Ganapathy UK, Ramachandran N. D, L Glyceraldehyde-Will it be an effective Antiglycolytic Agent? Int J Clin Biochem Res 2016; 3: 449-52.
11. Lippi G, Nybo M, Cadamuro J, *et al.* Blood glucose determination: effect of tube additives. Advances in clinical chemistry. 84: Elsevier; 2018. p. 101-23.
12. Steele A, Wensley K, Brewer E, *et al.* Preanalytical sample handling of venous blood: how to ensure your glucose measurement is accurate and reliable. Practical Diabetes Int 2013; 30: 128-31.
13. Zhang DJ, Elswick R, Miller WG, *et al.* Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. Clin Chem. 1998; 44: 1325 - 33.