

Evaluation of Hemolysis, Icterus, and Lipemia Interference Effects in Biochemical Analysis Using an Automated Clinical Chemistry Analyzer

Somsak Fongsupa¹, Boonyasirii Phothipatt² and Wanlapa Chaibangyang^{1*}

¹*Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,
Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

²*Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,
Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

Abstract

Serum or plasma samples exhibiting hemolysis (H), icterus (I), or lipemia (L) are common preanalytical errors that affect the test results in clinical chemistry laboratories. Sample assessment with HIL index by spectrophotometry on an automated clinical chemistry analyzer is a reliable and commonly used method. The aim of this study is to evaluate the hemolysis, icterus, and lipemia effects in biochemical analysis using the Beckman Coulter AU5800 automated analyzer. The data, including semiquantitative and quantitative HIL indices and biochemical values, were collected from June to December 2023. The difference in biochemical values between HIL level (0) and other HIL index levels was compared. The correlation between biochemical values and the quantitative HIL index was determined, and linear regression models were generated to predict the clinically significant interference levels. Based on the HIL index data, the maximum interference level was evaluated in the present study up to level (2+). Clinically significant positive interference from hemolysis was detected for lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase (AST) at hemolysis index (HI) (1+), whereas clinically significant negative interference was detected for total bilirubin (TB) at HI (2+). Moreover, AST at lipemia index (LI) (2+) showed clinically significant positive interference from lipemia. No clinically significant interference was detected for alanine aminotransferase (ALT), direct bilirubin (DB), blood urea nitrogen (BUN), and magnesium up to HI (2+); cholesterol up to

*Corresponding author E-mail address: wanlapa.c@allied.tu.ac.th

icterus index (II) (1+); and ALT up to LI (2+). In addition, the LDH linear regression model predicted both the hemolysis interference level and interference cutoff, even at the minimal hemolysis degree, HI level (0). Thus, the proper HIL index cutoff and interference level should be evaluated and established in the clinical laboratories to guide sample and patient's result management for achieving patient safety.

Keywords: Interference, Hemolysis, Icterus, Lipemia, HIL index

การประเมินผลกระทบจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ความเหลือง และความข้น ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมี ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก

สมศักดิ์ ฟองสุภา¹ ปุญญศิริ โพธิพัฒน์² และ วัลลภา ใช้บางยาง^{1*}

¹ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

²บัณฑิตศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

สิ่งส่งตรวจประเภทซีรัมหรือพลาสมาที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis, H) มีความเหลืองจากบิลิรูบิน (icterus, I) หรือมีความข้น (lipemia, L) เป็นปัญหาในขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์ซึ่งส่งผลกระทบต่อค่าการตรวจวัด ที่พบเป็นประจำในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ปัจจุบันการประเมิน HIL index ในสิ่งส่งตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิกโดยวิธีวัดการดูดกลืนแสง เป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือและนิยมใช้กันแพร่หลาย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลการรบกวนจาก HIL ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Beckman Coulter AU5800 โดยใช้ข้อมูลผลการประเมิน HIL index เชิงกึ่งปริมาณและเชิงปริมาณ โดยเก็บข้อมูลจากผลการวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีของตัวอย่างผู้ป่วยระหว่างเดือนมิถุนายน-ธันวาคม พ.ศ. 2566 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับสารชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปตามระดับของ HIL index และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารชีวเคมีกับ HIL index เชิงปริมาณเพื่อทำนายระดับ HIL index ที่มีการรบกวนการวิเคราะห์โดยใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้น จากผลการวิจัยพบว่าจากข้อมูล HIL index สามารถประเมินผลการรบกวนได้สูงสุดที่ระดับ (2+) โดยพบการรบกวนเชิงบวกจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) อย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกในการวิเคราะห์ lactate dehydrogenase (LDH) และ aspartate aminotransferase (AST) ที่ดัชนีการแตกของเม็ดเลือดแดง (HI) ระดับ (1+) และการรบกวนเชิงลบในการวิเคราะห์ total bilirubin (TB) ที่ HI ระดับ (2+) นอกจากนี้พบการรบกวนเชิงบวกจากความข้น (lipemia) อย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกในการวิเคราะห์ AST ที่ดัชนีความข้น (LI) ระดับ (2+) แต่ไม่พบการรบกวนอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกในการวิเคราะห์ alanine aminotransferase (ALT), direct bilirubin (DB), blood urea nitrogen (BUN), และ magnesium จนถึงระดับ HI (2+) การวิเคราะห์ cholesterol จนถึงดัชนีความเหลืองจากบิลิรูบิน (II) ระดับ (1+) และการวิเคราะห์ ALT จนถึงระดับ LI (2+) ทั้งนี้ผลการทำนายระดับที่พบการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) โดยใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้นของการวิเคราะห์ LDH ช่วยระบุ cutoff ที่มีการรบกวนตั้งแต่ระดับ HI (0) ได้

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: wanlapa.c@allied.tu.ac.th

รับบทความ: 5 มีนาคม 2567

แก้ไขบทความ: 22 เมษายน 2567

รับตีพิมพ์บทความ: 21 พฤษภาคม 2567

ดังนั้น ห้องปฏิบัติการควรประเมินและกำหนดระดับค่า cutoff ที่เหมาะสมของ HIL index เพื่อประโยชน์ในการตัดสินใจดำเนินการกับสิ่งส่งตรวจและผลการวิเคราะห์ เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับความปลอดภัยสูงสุดจากผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: การรบกวน การแตกของเม็ดเลือดแดง ความเหลือง ความขุ่น HIL index

บทนำ

สิ่งส่งตรวจประเภทซีรัมหรือพลาสมาที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) มีความเหลืองจากบิลิรูบิน (icterus) หรือมีความขุ่น (lipemia) ซึ่งเกิดจากไลโปโปรตีนชนิด chylomicrons และ very low density lipoprotein (VLDL) เป็นปัญหาคุณภาพสิ่งส่งตรวจที่พบเป็นประจำในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก โดยเฉพาะสิ่งส่งตรวจที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) เป็นความผิดพลาดที่พบมากที่สุดก่อนการวิเคราะห์⁽¹⁾ นอกจากนี้สิ่งส่งตรวจที่มีความขุ่นจากไขมัน (lipemia) เป็นปัญหาที่พบเป็นส่วนใหญ่ในสิ่งส่งตรวจที่มาจากแผนกผู้ป่วยนอก⁽²⁾ โดยสิ่งส่งตรวจจะมีฮีโมโกลบิน (hemoglobin) และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง สารบิลิรูบิน (bilirubin) และไลโปโปรตีน (lipoprotein) ตามลำดับ ซึ่งจัดเป็นสารรบกวนที่มีอยู่ในสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยตามธรรมชาติ (endogenous interference) แต่พบในปริมาณที่สูงกว่าปกติและส่งผลให้ค่าการวิเคราะห์เปลี่ยนแปลงไปจากค่าจริง ทั้งนี้การรบกวนนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งส่งตรวจ วิธีวิเคราะห์ และประเภทของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์⁽³⁾ การรบกวนจากสารรบกวนเกิดขึ้นผ่านกลไกหลัก คือ การรบกวนเชิงสเปกตรัม (spectral interference) โดยสารรบกวนมีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่ซ้อนทับกับความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์สารชีวเคมีนั้น ๆ ส่งผลให้วิธีวิเคราะห์ที่ใช้หลักการวัดสารสี (colorimetric method) ที่ช่วงความยาวคลื่นเดียวกันหรือใกล้เคียงกันจะได้รับผลกระทบ เช่น การรบกวนของฮีโมโกลบินในการวิเคราะห์ lipase, alkaline phosphatase (ALP) และ γ -glutamyl transferase (GGT)⁽⁴⁾ หรือการกระเจิงแสง (light scattering) ที่เกิดจากความขุ่นจากไลโปโปรตีน (lipemia) ซึ่งรบกวนการอ่านค่าในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 300-700 นาโนเมตร

แต่จะส่งผลกระทบอย่างมากในช่วงความยาวคลื่นสั้น เช่น การวิเคราะห์เอนไซม์หลายชนิดที่ใช้วิธีติดตามการเปลี่ยนแปลงของ NAD(P)H ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร⁽⁵⁾ กลไกการรบกวนทางเคมีเกิดจากตัวสารรบกวนหรือเอนไซม์จากเม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยาข้าม (cross-reaction) หรือรบกวนการทำปฏิกิริยวิเคราะห์ เช่น การทำปฏิกิริยาระหว่างบิลิรูบินกับ hydrogen peroxide ซึ่งเป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยาการวิเคราะห์ cholesterol, triglyceride, uric acid และ creatinine⁽⁵⁾ นอกจากนี้การแตกของเม็ดเลือดแดงยังทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับสารที่มีความเข้มข้นสูงภายในเม็ดเลือดแดง เช่น potassium, lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) และ magnesium อีกทั้งทำให้เกิดการลดลงของระดับสารซึ่งเป็นผลจากการเจือจางของสารน้ำเมื่อมีการแตกของเม็ดเลือดแดงในสิ่งส่งตรวจได้⁽⁴⁾ กลไกการรบกวนอีกรูปแบบหนึ่ง คือ การทดแทนปริมาตรน้ำจากไขมัน (volume displacement) ซึ่งพบการรบกวนในการวิเคราะห์ด้วยหลักการ indirect ion-selective electrode (ISE) ที่มีการเจือจางสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์⁽⁶⁾ จะเห็นได้ว่าการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลืองจากบิลิรูบิน (icterus) หรือความขุ่นจากไลโปโปรตีน (lipemia) ในสิ่งส่งตรวจรบกวนการวิเคราะห์ในหลายรายการทดสอบ ซึ่งส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการและกระทบต่อความปลอดภัยของผู้ป่วย

การประเมินคุณภาพสิ่งส่งตรวจ (specimen quality assessment) นับเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญช่วยป้องกันความผิดพลาดที่มีสาเหตุจากขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์ (preanalytical error) การแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis, H) ความเหลือง (icterus, I) และความขุ่น (lipemia, L) ในซีรัมหรือพลาสมา รวมเรียกว่า HIL index สามารถประเมินได้จากการ

เปลี่ยนของสีและ/หรือความใสของสิ่งส่งตรวจด้วยตาเปล่า (visual inspection) เปรียบเทียบกับแผนภูมิสี แล้วระบุระดับแบบกึ่งปริมาณ (semiquantitative grade) ซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก⁽⁵⁾ แต่พบว่าผลการบ่งชี้ HIL index ด้วยวิธีนี้มีความสอดคล้องต่ำกับระดับความเข้มข้นจริงของสารรบกวน⁽⁷⁾ ขาดความแม่นยำและความน่าเชื่อถือ ด้วยข้อจำกัดจากปัจจัยหลายด้านที่ส่งผลต่อความสามารถในการระบุแยกสีที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล⁽⁸⁾ ปัจจุบันเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิกสมัยใหม่สามารถตรวจวัด HIL index หรืออีกชื่อหนึ่งคือ serum indices ซึ่งโดยส่วนใหญ่ใช้หลักการวัดการดูดกลืนแสงแบบ 2 ความยาวคลื่น (bichromatic absorbance measurement) ซึ่งให้ผลการตรวจวัดที่น่าเชื่อถือมากกว่าวิธีดั้งเดิม^(9, 10) อย่างไรก็ตาม ความยาวคลื่นที่ใช้ รูปแบบการรายงานผล การกำหนด cutoff และเกณฑ์การยอมรับการรบกวนของการทดสอบ serum indices ยังมีความหลากหลายและแตกต่างกันในแต่ละผู้ผลิต⁽¹¹⁾ แม้ในปี ค.ศ. 2012 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ได้แนะนำแนวทางสำหรับการสร้างและประเมิน HIL index ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ โดยการประเมินการเปลี่ยนแปลงของผลการวิเคราะห์หลังการเติมสารรบกวนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในซีรัมหรือพลาสมา ได้แก่ สารละลายเลือด (hemolysate) สารบิลิรูบิน ชนิด unconjugated หรือ conjugated bilirubin และ สารละลายไขมัน (commercial lipid emulsion)⁽¹²⁾ อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ไม่นิยมกำหนดระดับการรบกวนด้วยตนเอง อาจเนื่องด้วยข้อจำกัดทางด้านทรัพยากรและงบประมาณ⁽¹³⁾ จากผลสำรวจพบว่าร้อยละ 95 ของห้องปฏิบัติการใช้ข้อมูลจากผู้ผลิตในการกำหนด HIL index⁽¹⁴⁾ ทั้งนี้ข้อมูลเกี่ยวกับการรบกวนจาก HIL ที่ผู้ผลิตระบุไว้มีค่อนข้างจำกัด

หรือไม่ได้ระบุผลการรบกวนไว้ในบางรายการทดสอบ ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลือง (icterus) และความขุ่น (lipemia) ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก โดยใช้ข้อมูลผลการประเมิน HIL index และผลการวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีของตัวอย่างที่ส่งมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลังแบบภาคตัดขวาง (retrospective cross-sectional study) โดยเก็บข้อมูลผลตรวจวิเคราะห์ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ที่มีผลตรวจวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีในเลือดจำนวนทั้งสิ้น 9 การทดสอบ ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter AU5800 ในหน่วยเคมีคลินิกงานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ตั้งแต่เดือนมิถุนายน-ธันวาคม พ.ศ. 2566 ทั้งนี้โครงการวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ (COE No.031/2566)

2. ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา

ผู้วิจัยพิจารณาเลือกรายการทดสอบที่ทำการศึกษาผลการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลือง (icterus) และความขุ่น (lipemia) โดยมีเกณฑ์ดังนี้

2.1 เป็นรายการทดสอบที่เปิดบริการบนเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter AU5800 ไม่รวมการวิเคราะห์ด้วยวิธี ISE

2.2 รายการทดสอบมีลักษณะเป็นไปตามข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้ คือ 1) มีข้อมูลการรบกวน

ของ HIL จากผู้ผลิตโดยแสดงผลการรบกวนที่ระดับ HIL index เหนือถึงปริมาณน้อยกว่าหรือเท่ากับ (3+) 2) ไม่มีข้อมูลการรบกวนของ HIL จากผู้ผลิตและมีรายงานผลการรบกวนจากการศึกษาของ Akbas และคณะ⁽¹⁵⁾ ที่ระดับ HIL index เหนือถึงปริมาณน้อยกว่าหรือเท่ากับ (3+) 3) มีข้อมูลการรบกวนของ HIL จากผู้ผลิตแต่มีรายงานผลการรบกวนจากการศึกษาของ Akbas และคณะ⁽¹⁵⁾ ที่ระดับ HIL index เหนือถึงปริมาณต่ำกว่าข้อมูลของผู้ผลิต

จากเกณฑ์ดังกล่าว รายการทดสอบที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ประกอบด้วย การศึกษาผลการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ในการวิเคราะห์ alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB), blood urea nitrogen (BUN), lactate dehydrogenase (LDH) และ magnesium การศึกษาผลการรบกวนจากความเหลือง (icterus) ในการวิเคราะห์ cholesterol และ lipase การศึกษาผลการรบกวนจากความขุ่น (lipemia) ในการวิเคราะห์ ALT, AST และ lipase โดยใช้ข้อมูลผลตรวจระดับสารชีวเคมีในเลือดและข้อมูลค่า HIL index เหนือถึงปริมาณและเชิงปริมาณ ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter AU5800

เกณฑ์การคัดเข้า (inclusion criteria) ได้แก่ ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีในเลือดทุกรายในรายการทดสอบ ALT, AST, TB, DB, BUN, cholesterol, LDH, lipase และ magnesium ตั้งแต่เดือนมิถุนายน-ธันวาคม พ.ศ. 2566

เกณฑ์การคัดออก (exclusion criteria) ได้แก่ ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีที่มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับศูนย์ ผลการตรวจวิเคราะห์

ระดับสารชีวเคมีที่ไม่มีผลการตรวจ HIL index เหนือถึงปริมาณและเชิงปริมาณ ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีที่มีผลการตรวจ HIL index เหนือถึงปริมาณมีค่าเป็นลบ และผลการตรวจวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีที่มีผลการตรวจ HIL index แจ้งเตือนความผิดปกติของการวิเคราะห์ HIL index ในสิ่งส่งตรวจนั้น

3. การวิเคราะห์ HIL index และระดับสารชีวเคมีในเลือด

สิ่งส่งตรวจประเภทซีรัมและพลาสมาจากผู้ป่วยที่มีการส่งตรวจวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมี ในหน่วยเคมีคลินิก งานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter AU5800 จะได้รับการประเมิน HIL index โดยอัตโนมัติทุกตัวอย่าง ซึ่งมีชื่อการทดสอบว่า LIH ในขั้นตอนนี้ตัวอย่างจะถูกเจือจางด้วยน้ำยา LIH ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ 0.9% sodium chloride และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 6 ช่วง ได้แก่ ความยาวคลื่น 410/480 นาโนเมตร และ 600/800 นาโนเมตร สำหรับการประเมินการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความยาวคลื่น 480/570 นาโนเมตร และ 600/800 นาโนเมตร สำหรับการประเมินความเหลือง (icterus) และความยาวคลื่น 660/800 นาโนเมตร สำหรับการประเมินความขุ่น (lipemia)⁽⁵⁾ เครื่องจะรายงานผล HIL index แยกเป็น hemolysis index (HI), icterus index (II) และ lipemia index (LI) ในรูปแบบเชิงถึงปริมาณแบ่งเป็น 6 ระดับ ตามค่าระดับ HIL index เหนือถึงปริมาณโดยใช้ cutoff ที่ผู้ผลิตกำหนด⁽¹⁶⁾ (Table 1) โดยผล HIL index เหนือถึงปริมาณจะรายงานพร้อมกับผลวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีในสิ่งส่งตรวจนั้น

Table 1 Semiquantitative and quantitative cutoffs for HIL indices and corresponding concentrations of hemoglobin (H index), bilirubin (I index), and Intralipid (L index) on the Beckman Coulter AU5800 analyzer, according to the manufacturer's specifications.

Semiquantitative scale	H index		I index		L index	
	Hemoglobin (mg/dL)	Cutoff	Bilirubin (mg/dL)	Cutoff	Intralipid (mg/dL)	Cutoff
0	< 50	< 0.1700	< 2.5	< 0.1100	< 40	< 0.0150
1+	50 – 99	0.1700 – 0.3499	2.5 – 4.9	0.1100 – 0.2099	40 – 99	0.0150 – 0.0399
2+	100 – 199	0.3500 – 0.6999	5.0 – 9.9	0.2100 – 0.4299	100 – 199	0.0400 – 0.0799
3+	200 – 299	0.7000 – 0.9999	10 – 19.9	0.4300 – 0.8499	200 – 299	0.0800 – 0.1199
4+	300 – 500	1.0000 – 1.6999	20 – 40	0.8500 – 1.6999	300 – 500	0.1200 – 0.1999
5+	> 500	> 1.7000	> 40	> 1.7000	> 500	> 0.2000

การวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีในเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter AU5800 ภายใต้คำแนะนำของผู้ผลิต โดยใช้น้ำยาวิเคราะห์ที่เหมาะสมตามข้อกำหนดของผู้ผลิต ดังนี้ 1) ALT หลักการ enzymatic UV method ปราสจาก pyridoxal phosphate ตามคำแนะนำของ International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) วัดการดูดกลืนแสงที่ 340/660 นาโนเมตร 2) AST หลักการ enzymatic UV method ปราสจาก pyridoxal phosphate ตามคำแนะนำของ IFCC วัดการดูดกลืนแสงที่ 340/660 นาโนเมตร 3) TB หลักการ colorimetric diazo method โดยใช้ 3,5-dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborate (DPD) ร่วมกับ caffeine และ surfactant วัดการดูดกลืนแสงที่ 540/660 นาโนเมตร 4) DB หลักการ colorimetric diazo method โดยใช้ 3,5-dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborate (DPD) วัดการดูดกลืนแสงที่ 570/660 นาโนเมตร 5) BUN หลักการ enzymatic UV method โดยใช้ urease

และ glutamate dehydrogenase วัดการดูดกลืนแสงที่ 340/660 นาโนเมตร 6) cholesterol หลักการ enzymatic colorimetric method โดยใช้ cholesterol oxidase และ peroxidase วัดการดูดกลืนแสงที่ 540/600 นาโนเมตร 7) LDH หลักการ enzymatic UV method ตามคำแนะนำของ IFCC วัดการดูดกลืนแสงที่ 340/660 นาโนเมตร 8) lipase หลักการ enzymatic colorimetric method โดยใช้ glycerol kinase, glycerol phosphate oxidase และ peroxidase วัดการดูดกลืนแสงที่ 540/800 นาโนเมตร 9) magnesium หลักการ colorimetric method โดยใช้ xylydyl blue วัดการดูดกลืนแสงที่ 520/800 นาโนเมตร

4. วิธีการศึกษา

4.1 การรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลือง (icterus) และความขุ่น (lipemia) ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมี

จัดกลุ่มข้อมูลผลตรวจระดับสารชีวเคมีตามค่า HIL index เชิงกึ่งปริมาณ กลุ่มที่ 1 HIL index ระดับ (0) กลุ่มที่ 2 HIL index ระดับ (1+) กลุ่มที่ 3 HIL index ระดับ (2+) กลุ่มที่ 4 HIL index ระดับ (3+) และกลุ่มที่ 5 HIL index ระดับตั้งแต่ (4+) ขึ้นไป เนื่องจากข้อมูลระดับสารชีวเคมีในแต่ละกลุ่มมีการแจกแจงไม่ปกติ (non-normal distribution) แปลงข้อมูลด้วยวิธี Box-Cox transformation⁽¹⁷⁾ เพื่อให้ข้อมูลมีการแจกแจงปกติ (normal distribution) แล้วพิจารณา outlier ของข้อมูลที่แปลงแล้วด้วยวิธีของ Tukey⁽¹⁸⁾ ที่เกณฑ์ 1.5 เท่าของ interquartile range (IQR) ร่วมกับการประเมินด้วย box plot ข้อมูลที่เป็น outlier จะถูกนำออกจากข้อมูลดิบ จากนั้นพิจารณา outlier ในชุดข้อมูลดิบอีกครั้งด้วยวิธีเดียวกัน ทำซ้ำจนกว่าจะไม่พบ outlier หากชุดข้อมูลภายหลังการกำจัด outlier แล้วมี $n < 25$ ⁽¹⁹⁾ จะไม่นำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าระดับสารชีวเคมีของแต่ละกลุ่มแสดงด้วยค่ามัธยฐาน (median) ช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 (95% confidence interval) และ IQR ความแตกต่างของระดับสารชีวเคมีแต่ละกลุ่มแสดงด้วยค่าความแตกต่าง (absolute difference, Δ) และค่าร้อยละความแตกต่าง (% difference, % Δ) เทียบกับค่ามัธยฐานของกลุ่มที่มี HIL index (0) ดังสมการ

$$\text{Absolute difference} = \text{Median}_{(N)} - \text{Median}_{(0)}$$

$$\text{Difference (\%)} = [(\text{Median}_{(N)} - \text{Median}_{(0)}) / \text{Median}_{(0)}] \times 100$$

โดยที่ $\text{Median}_{(N)}$ คือ ค่ามัธยฐานของระดับสารชีวเคมีของกลุ่มที่มี HI, II หรือ LI (1+) เป็นต้นไป

$\text{Median}_{(0)}$ คือ ค่ามัธยฐานของระดับสารชีวเคมีของกลุ่มที่มี HI, II หรือ LI (0)

ศึกษาแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างค่า HIL index เชิงปริมาณกับระดับสารชีวเคมีแบ่งตามกลุ่มของ HIL index เชิงกึ่งปริมาณ โดยใช้แผนภาพการกระจาย (scatter plot) และแสดงเส้นแนวโน้มแยกตามกลุ่ม

4.2 การทำนายการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลือง (icterus) และความขุ่น (lipemia) ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีโดยใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้น

รวมข้อมูลระดับสารชีวเคมีภายหลังการกำจัด outlier แล้วทุกกลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มต้องมี $n \geq 25$ ตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างค่า HIL index เชิงปริมาณกับระดับสารชีวเคมีด้วยแผนภาพการกระจาย (scatter plot) วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นโดยใช้ Pearson correlation แล้ววิเคราะห์ตัวแบบถดถอยเชิงเส้น (linear regression model) โดยจุดตัดของแกน x ระหว่างจุดบนตัวแบบถดถอยเชิงเส้นกับเกณฑ์การยอมรับ (acceptance limit) แสดงค่า HIL index เชิงปริมาณที่พบการรบกวนอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก

5. เกณฑ์การยอมรับในการประเมินการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลือง (icterus) และความขุ่น (lipemia)

ผู้วิจัยกำหนดเกณฑ์การยอมรับการรบกวนการวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมี (acceptance limit) โดยใช้ค่า allowable total analytical error (TEa) ที่กว้างที่สุดสำหรับรายการทดสอบนั้นจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งต่อไปนี้ (1) Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) 2024 (2) biological variation ที่ระดับ desirable (BVd) จากฐานข้อมูลของ European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Biological Variation Database⁽²⁰⁾ (3)

biological variation ที่ระดับ desirable (BVd) จากข้อมูลของ Ricós และคณะ⁽²¹⁾ กำหนดให้ความแตกต่างที่มากกว่า acceptance limit หรือระดับสารชีวเคมีที่มีค่าเกิน acceptance limit แสดงว่ามีการรบกวนการวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีนั้นอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

รวบรวมข้อมูลเพื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2021 และโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 25 ใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) แสดงข้อมูลระดับสารชีวเคมีด้วยค่ามัธยฐาน (median) ช่วงความเชื่อมั่นที่ระดับร้อยละ 95 (95% confidence interval) และ interquartile range (IQR) เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับสารชีวเคมีแยกตามกลุ่มของ HIL index กับระดับสารชีวเคมีที่ HIL index (0) โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของค่า HIL index เชิงปริมาณกับระดับสารชีวเคมีโดยใช้ Pearson correlation และตัวแบบถดถอยเชิงเส้น (linear regression) แสดงช่วงความเชื่อมั่นที่ระดับร้อยละ 95 โดยคำนวณสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

1. การรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ต่อการวิเคราะห์ ALT, AST, TB, DB, BUN, LDH และ magnesium

ผลการศึกษาการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) โดยการเปรียบเทียบ

ความแตกต่างของระดับสารชีวเคมี แยกตามระดับ hemolysis index (HI) เชิงปริมาณ ดังแสดงใน Table 2 พบว่า ALT, AST, TB, DB, BUN และ magnesium มีข้อมูลที่เพียงพอ ($n \geq 25$) ต่อการวิเคราะห์ผลการรบกวนสูงสุดที่ระดับ HI (2+) ส่วน LDH มีข้อมูลที่เพียงพอต่อการวิเคราะห์ผลการรบกวนสูงสุดที่ระดับ HI (1+) เท่านั้น โดยพบลักษณะของการรบกวนเชิงบวกในการทดสอบ ALT, AST, LDH และ magnesium และพบลักษณะการรบกวนเชิงลบในการทดสอบ TB และ DB โดยที่ไม่พบการรบกวนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดสอบ BUN จนถึงระดับ HI (2+) ทั้งนี้พบความแตกต่างของระดับ ALT, DB และ magnesium ที่ระดับ HI (1+) และ HI (2+) อยู่ในช่วงผลการรบกวนที่ยอมรับได้ (acceptance limit) แต่พบความแตกต่างของระดับ AST และ LDH สูงกว่าเกณฑ์การยอมรับตั้งแต่ระดับ HI (1+) ซึ่งทั้งสองรายการทดสอบไม่มีข้อมูลการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) จากผู้ผลิต ส่วนระดับของ TB ลดลงต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับที่ระดับ HI (2+) นอกจากนี้ผลการศึกษาแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างค่า HI เชิงปริมาณกับระดับสารชีวเคมีแบ่งตามกลุ่มของ HI เชิงปริมาณแสดงผลสอดคล้องกับระดับที่พบการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ในทุกรายการทดสอบ (Fig. 1) ยกเว้นการทดสอบ LDH ที่พบเส้นแนวโน้มของระดับสารชีวเคมีเพิ่มสูงขึ้นออกนอกขอบเขตการยอมรับตั้งแต่ระดับ HI (0)

Table 2 Hemolysis interference on seven biochemical parameters determined by the Beckman Coulter AU5800 analyzer.

Analyte (unit)	HI	Number of patient results (%)	Number of patient results after outlier removal (%)	Median (95% CI)	IQR	Δ from HI (0) ^b	% Δ from HI (0) ^b	Acceptance criteria	Source of acceptance criteria	HI _{TD} (criteria)
ALT (U/L)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	40,579 (97.66) 755 (1.82) 183 (0.44) 21 (0.05) 11 (0.03)	33,994 (97.93) 583 (1.68) 136 (0.39) ND ND	19.15 (19.01 – 19.30) 21.26 (20.05 – 22.65) ^a 23.06 (20.13 – 25.48) ^a N/A N/A	13.89 14.97 14.66 N/A N/A	0.00 2.11 3.91 N/A N/A	0.0 11.0 18.4 N/A N/A	± 6 U/L	CLIA 2024	4+ (<10% or 6 U/L)
AST (U/L)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	36,516 (97.55) 710 (1.90) 176 (0.47) 19 (0.05) 12 (0.03)	29,056 (98.00) 473 (1.59) 121 (0.41) ND ND	24.99 (24.89 – 25.08) 32.23 (30.89 – 32.95) ^a 36.61 (34.95 – 40.15) ^a N/A N/A	10.00 11.43 15.70 N/A N/A	0.00 7.24 11.62 N/A N/A	0.0 29.0 46.5 N/A N/A	± 6 U/L	CLIA 2024	N/A
Total bilirubin (mg/dL)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	18,130 (97.62) 348 (1.87) 80 (0.43) 14 (0.08) 0 (0.00)	15,083 (98.15) 234 (1.52) 51 (0.33) ND ND	0.60 (0.59 – 0.60) 0.47 (0.43 – 0.50) ^a 0.37 (0.26 – 0.52) ^a N/A N/A	0.30 0.37 0.36 N/A N/A	0.00 -0.13 -0.23 N/A N/A	0.0 -21.7 -38.33 N/A N/A	± 27%	BVd (Ricós)	1+ (<10%)
Direct bilirubin (mg/dL)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	25,727 (97.29) 556 (2.10) 134 (0.51) 15 (0.06) 11 (0.04)	21,023 (97.78) 388 (1.80) 90 (0.42) ND ND	0.12 (0.12 – 0.12) 0.10 (0.10 – 0.11) ^a 0.09 (0.08 – 0.09) ^a N/A N/A	0.09 0.08 0.06 N/A N/A	0.00 -0.02 -0.03 N/A N/A	0.0 -16.7 -25.00 N/A N/A	± 44.5%	BVd (Ricós)	N/A
BUN (mg/dL)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	40,740 (97.51) 796 (1.91) 202 (0.48) 30 (0.07) 11 (0.023)	32,732 (97.79) 572 (1.71) 152 (0.45) 15 (0.05) ND	14.11 (14.04 – 14.19) 14.26 (13.75 – 14.83) 14.17 (12.65 – 15.64) ND N/A	7.09 7.25 8.40 ND N/A	0.00 0.15 0.06 N/A N/A	0.0 1.1 0.4 N/A N/A	± 16.9%	BVd (EFLM)	3+ (<10%)
LDH (U/L)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	1,901 (97.09) 36 (1.84) 15 (0.77) 2 (0.10) 4 (0.20)	1,545 (98.16) 29 (1.84) ND ND ND	207.97 (203.32 – 212.77) 356.83 (279.67 – 550.94) ^a N/A N/A N/A	87.21 292.1 N/A N/A N/A	0.00 148.86 N/A N/A N/A	0.0 71.6 N/A N/A N/A	± 15%	CLIA 2024	N/A
Magne- sium (mg/dL)	0 1+ 2+ 3+ ≥4+	8,842 (96.69) 228 (2.49) 62 (0.68) 8 (0.09) 5 (0.05)	8,334 (96.95) 203 (2.36) 59 (0.69) ND ND	2.00 (1.99 – 2.01) 2.05 (1.98 – 2.13) ^a 2.02 (1.92 – 2.1) N/A N/A	0.37 0.46 0.53 N/A N/A	0.00 0.05 0.02 N/A N/A	0.0 2.5 1.0 N/A N/A	± 15%	CLIA 2024	2+ (<10% or 0.29 mg/dL)

BVd, desirable biological variation; HI, hemolysis index; HI_{TD}, hemolysis index from the manufacturer's technical document; N/A, not applicable; ND, not determined

^a Statistically significant difference in biochemical level compared to hemolysis index (0), $p < 0.05$.

^b Bold values for Δ from HI (0) or % Δ from HI (0) represent detected interference greater than acceptance limit, clinically significant difference.

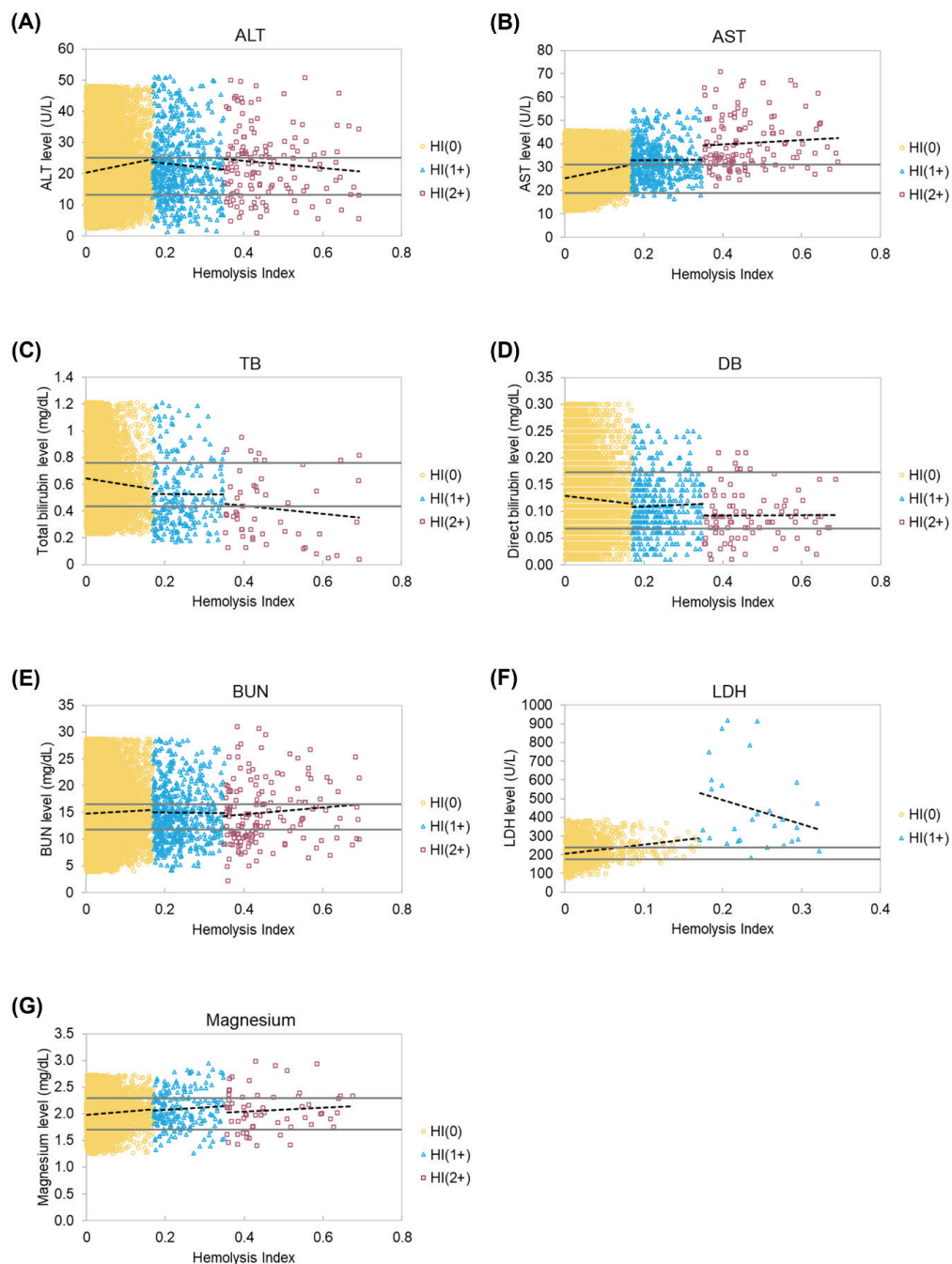


Fig. 1 Scatter plots showing the relationship between the biochemical levels and the quantitative hemolysis index (HI) of ALT (A), AST (B), TB (C), DB (D), BUN (E), LDH (F), and magnesium (G). Acceptance limits were calculated from the median biochemical level in HI (0) based on acceptance criteria. The trend lines of each group of semiquantitative HI shown as black dashed lines and the acceptance limits indicated as solid grey lines.

2. การรบกวนจากความเหลือง (icterus) ต่อการวิเคราะห์ cholesterol และ lipase

ผลการศึกษาการรบกวนจากความเหลือง (icterus) โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับสารชีวเคมี แยกตามระดับ icterus index (II) เปรียบปริมาณ ดังแสดงใน Table 3 พบว่า cholesterol และ lipase มีข้อมูลเพียงพอ ($n \geq 25$) ต่อการวิเคราะห์ผลการรบกวนสูงสุดที่ระดับ II (1+) เท่านั้น โดยพบลักษณะของการรบกวนเชิงลบในการทดสอบ cholesterol แต่ไม่พบการรบกวนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดสอบ lipase ที่ระดับ II (1+) ทั้งนี้พบความแตกต่างของระดับ cholesterol

ที่ระดับ II (1+) เทียบกับ II (0) อยู่ในช่วงผลการรบกวนที่ยอมรับได้ (acceptance limit) อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างค่า II เปรียบปริมาณกับระดับสารชีวเคมีแบ่งตามกลุ่มของ II เปรียบปริมาณ (Fig. 2) พบว่าระดับของ lipase มีแนวโน้มออกนอกขอบเขตการยอมรับในกลุ่ม II (1+) นอกจากนี้ระดับของ cholesterol มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นออกนอกขอบเขตการยอมรับเมื่อ II เปรียบปริมาณเพิ่มขึ้นในกลุ่ม II (0) แต่มีแนวโน้มลดต่ำลงและออกนอกขอบเขตการยอมรับเมื่อ II เปรียบปริมาณเพิ่มขึ้นในกลุ่ม II (1+)

Table 3 Icteric interference on two biochemical parameters determined by the Beckman Coulter AU5800 analyzer.

Analyte (unit)	II	Number of patient results (%)	Number of patient results after outlier removal (%)	Median (95% CI)	IQR	Δ from II (0)	% Δ from II (0)	Acceptance criteria	Source of acceptance criteria	II _{TD} (criteria)
Cholesterol (mg/dL)	0	30,024 (99.61)	29,339 (99.68)	176.52 (175.86 – 177.24)	59.53	0.00	0.0	± 10%	CLIA 2024	2+
	1+	95 (0.31)	94 (0.32)	163.94 (146.36 – 177.79) ^a	86.59	-12.6	-7.1			(<10%
	2+	15 (0.05)	ND	ND	N/A	N/A	N/A			or
	3+	6 (0.02)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			25.13
	≥4+	2 (0.01)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			mg/dL)
Lipase (U/L)	0	703 (87.22)	568 (90.45)	20.93 (18.79 – 22.45)	21.33	0.00	0.0	± 37.9%	BVd (Ricos)	3+
	1+	52 (6.45)	36 (5.73)	23.26 (19.39 – 36.26)	25.16	2.33	11.1			(<10%
	2+	28 (3.48)	24 (3.82)	ND	ND	N/A	N/A			or
	3+	18 (2.23)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			5.7 U/L)
	≥4+	5 (0.62)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			

BVd, desirable biological variation; II, icterus index; II_{TD}, icterus index from the manufacturer's technical document; N/A, not applicable; ND, not determined

^a Statistically significant difference in biochemical level compared to icterus index (0), $p < 0.05$.

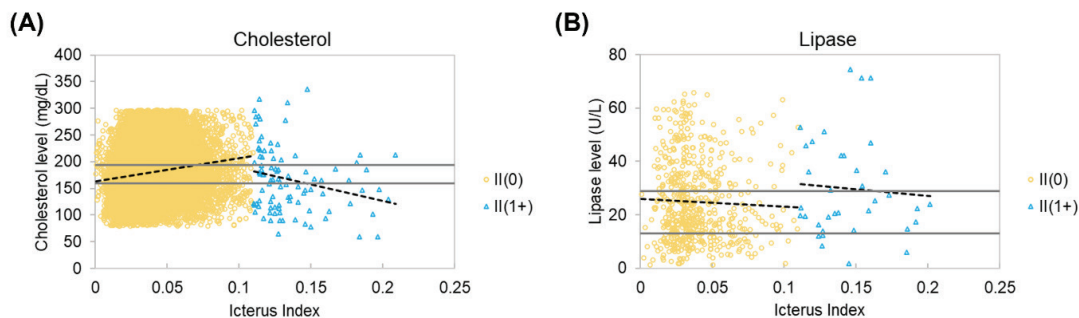


Fig. 2 Scatter plots showing the relationship between the biochemical levels and the quantitative icterus index (II) of cholesterol (A) and lipase (B). Acceptance limits were calculated from the median biochemical level in II (0) based on acceptance criteria. The trend lines of each group of semiquantitative II shown as black dashed lines and the acceptance limits indicated as solid grey lines.

3. การรบกวนจากความขุ่น (lipemia) ต่อการวิเคราะห์ ALT, AST และ lipase

ผลการศึกษาการรบกวนจากความขุ่น (lipemia) โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับสารชีวเคมี แยกตามระดับ lipemia index (LI) ซึ่งกึ่งปริมาณ ดังแสดงใน Table 4 พบว่า ALT และ AST มีข้อมูลเพียงพอ ($n \geq 25$) ต่อการวิเคราะห์ผลการรบกวนสูงสุดที่ระดับ LI (2+) ส่วน lipase มีข้อมูลไม่เพียงพอต่อการศึกษารเปรียบเทียบการรบกวนจากความขุ่น โดยพบลักษณะของการรบกวนเชิงบวกในการทดสอบ ALT และ AST ทั้งนี้พบความแตกต่างของระดับ ALT ที่ระดับ LI (1+) และ LI (2+) อยู่ในช่วงผลการรบกวนที่ยอมรับได้ (acceptance limit) แต่ระดับของ AST ที่ระดับ LI (2+) เพิ่มสูงขึ้นกว่าเกณฑ์การยอมรับ โดยเป็นระดับการรบกวนที่ต่ำกว่าที่ผู้ผลิตระบุไว้ ในขณะที่ผลการศึกษาแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างค่า LI เชิงปริมาณกับระดับสารชีวเคมีแบ่งตามกลุ่มของ LI เชิงกึ่งปริมาณ (Fig. 3) พบว่าระดับของ ALT มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ระดับ LI (1+) และออก

นอกขอบเขตการยอมรับที่ระดับ LI (2+) ส่วนระดับ AST มีแนวโน้มสูงขึ้นนอกขอบเขตการยอมรับตั้งแต่ช่วงกลางของระดับ HI เชิงคุณภาพ (1+)

4. การทำนายการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ความเหลือง (icterus) และความขุ่น (lipemia) ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีโดยใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้น

ค่า HI เชิงปริมาณมีความสัมพันธ์เชิงเส้นเชิงบวกกับระดับ ALT, AST, BUN, LDH และ magnesium ($r = 0.015-0.384$, $p < 0.01$) แต่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นเชิงลบกับระดับ TB และ DB ($r = -0.098, -0.057$, $p < 0.001$) (Table 5) ค่า II เชิงปริมาณมีความสัมพันธ์เชิงเส้นเชิงบวกกับระดับ cholesterol ($r = 0.133$, $p < 0.001$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า II เชิงปริมาณกับระดับ lipase ($p = 0.451$) ค่า LI เชิงปริมาณมีความสัมพันธ์เชิงเส้นเชิงบวกกับระดับ ALT และ AST ($r = 0.068, 0.064$, $p < 0.001$)

เมื่อวิเคราะห์ด้วยแบบถดถอยเชิงเส้น (linear regression model) ระหว่างค่า HIL index เชิงปริมาณกับค่าระดับสารชีวเคมีเพื่อทำนายระดับของ HIL index และ cutoff ที่พบการรบกวนอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก (Table 5) พบว่าการทดสอบที่มีความไวต่อการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) มากที่สุด คือ LDH ที่ระดับ HI (0) cutoff 0.0393 (Fig. 4, F) รองลงมา คือ AST ที่ระดับ HI (1+) (Fig. 4, B)

ALT และ TB ที่ระดับ HI (2+) (Fig. 4, A, C) DB และ magnesium ที่ระดับ HI (3+) (Fig. 4, D, G) และ BUN ที่ระดับ HI (4+) (Fig. 4, E) การทดสอบ cholesterol พบการรบกวนจากความเหลือง (icterus) ที่ระดับ II (1+) (Fig. 4, H) การทดสอบ ALT และ AST พบการรบกวนจากความขุ่น (lipemia) ที่ระดับ LI (1+) และ LI (2+) (Fig. 4, I, J)

Table 4 Lipemic interference on three biochemical parameters determined by the Beckman Coulter AU5800 analyzer.

Analyte (unit)	LI	Number of patient results (%)	Number of patient results after outlier removal (%)	Median (95% CI)	IQR	Δ from LI (0) ^b	% Δ from LI (0)	Acceptance criteria	Source of acceptance criteria	LI _{TD} (criteria)
ALT (U/L)	0	44,060 (98.524)	36,991 (98.62)	19.03 (18.89 – 19.16)	13.64	0.00	0.0	± 6 U/L	CLIA 2024	4+
	1+	589 (1.317)	469 (1.25)	21.87 (20.67 – 23.22) ^a	17.05	2.84	14.9			(<3% or
	2+	61 (0.137)	48 (0.13)	24.74 (18.33 – 28.95) ^a	16.75	5.71	26.1			6 U/L)
	3+	9 (0.020)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			
	≥4+	1 (0.002)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			
AST (U/L)	0	39,555 (98.415)	31,557 (98.52)	24.95 (24.86 – 25.04)	9.99	0.00	0.0	± 6 U/L	CLIA 2024	4+
	1+	570 (1.418)	428 (1.34)	26.98 (26.13 – 27.86) ^a	12.27	2.03	8.1			(<5%)
	2+	58 (0.144)	46 (0.14)	33.49 (26.88 – 40.70) ^a	22.77	8.54	34.2			
	3+	8 (0.020)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			
	≥4+	1 (0.003)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			
Lipase (U/L)	0	758 (97.81)	596 (100.00)	20.93 (19.24 – 22.42)	21.54	0.00	0.0	± 37.9%	BVd (Ricós)	4+
	1+	16 (2.06)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			(<10% or
	2+	1 (0.13)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			5.7 U/L)
	3+	0 (0.00)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			
	≥4+	0 (0.00)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A			

BVd, desirable biological variation; LI, lipemia index; LI_{TD}, lipemia index from the manufacturer's technical document; N/A, not applicable; ND, not determined

^a Statistically significant difference in biochemical level compared to lipemia index (0), $p < 0.05$.

^b Bold value for Δ from LI (0) represents detected interference greater than acceptance limit, clinically significant difference.

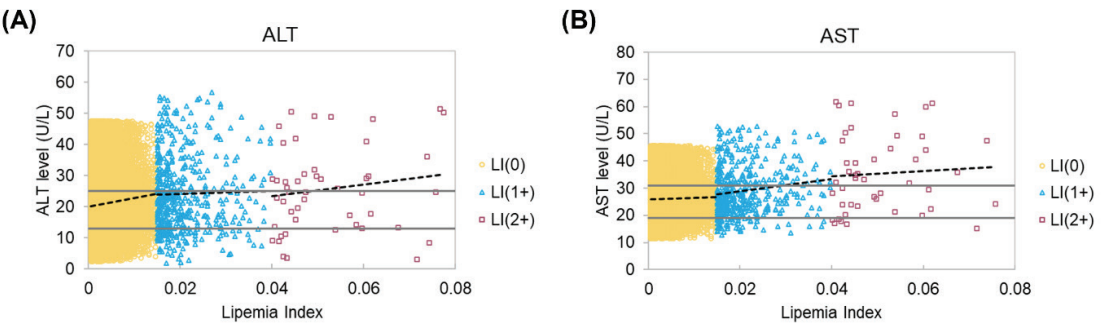


Fig. 3 Scatter plots showing the relationship between the biochemical levels and the quantitative lipemia index (LI) of ALT (A) and AST (B). Acceptance limits were calculated from the median biochemical level in LI (0) based on acceptance criteria. The trend lines of each group of semiquantitative LI shown as black dashed lines and the acceptance limits indicated as solid grey lines.

Table 5 Pearson correlation and linear regression analysis of quantitative HIL index and biochemical level.

Analyte (unit)	Quantitative HIL index	Number of patient results	Pearson correlation coefficient	p value	r ²	Mathematical relationship	HIL index cutoff for clinically significant difference	
							Semi-quantitative	Quantitative
ALT (U/L)	HI	34,713	0.059	<0.001	0.003	12.610x + 20.730	HI (2+)	0.4758
	LI	37,508	0.068	<0.001	0.005	192.566x + 20.350	LI (1+)	0.0312
AST (U/L)	HI	29,650	0.205	<0.001	0.042	32.785x + 25.231	HI (1+)	0.1830
	LI	32,031	0.064	<0.001	0.004	130.787x + 25.731	LI (2+)	0.0459
Total bilirubin (mg/dL)	HI	15,368	-0.098	<0.001	0.010	-0.470x + 0.645	HI (2+)	0.3705

Table 5 Pearson correlation and linear regression analysis of quantitative HIL index and biochemical level. (Cont.)

Analyte (unit)	Quantitative HIL index	Number of patient results	Pearson correlation coefficient	p value	r^2	Mathematical relationship	HIL index cutoff for clinically significant difference	
							Semi-quantitative	Quantitative
Direct bilirubin (mg/dL)	HI	21,501	-0.057	<0.001	0.003	-0.076x + 0.128	HI (3+)	0.7495
BUN (mg/dL)	HI	33,456	0.015	0.006	0.0002	1.603x + 14.834	HI (4+)	1.5639
Cholesterol (mg/dL)	II	29,433	0.133	<0.001	0.018	364.018x + 165.639	II (1+)	0.0455
LDH (U/L)	HI	1,574	0.384	<0.001	0.147	761.399x + 199.602	HI (0)	0.0393
Lipase (U/L)	II	604	0.031	0.451	-	No significant correlation	N/A	N/A
Magnesium (mg/dL)	HI	8,596	0.078	<0.001	0.006	0.391x + 1.984	HI (3+)	0.7611

HI, hemolysis index; II, icterus index; LI, lipemia index; N/A, not applicable

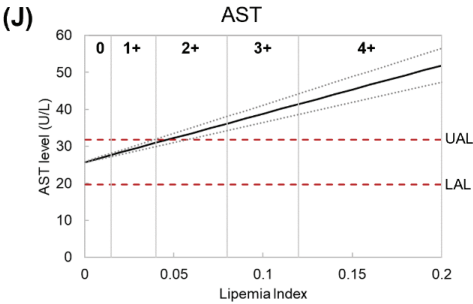
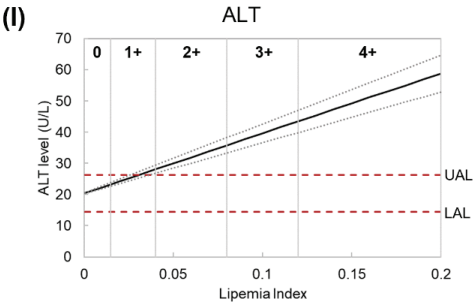
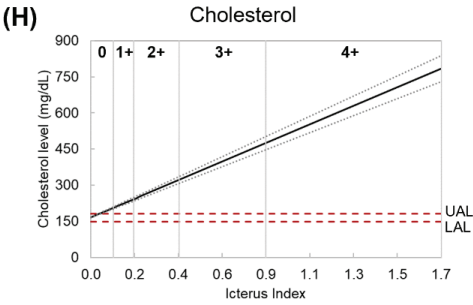
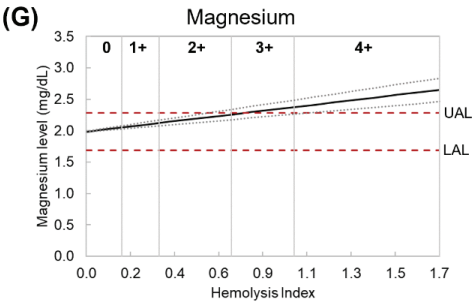
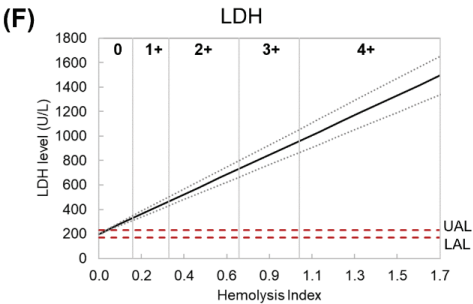
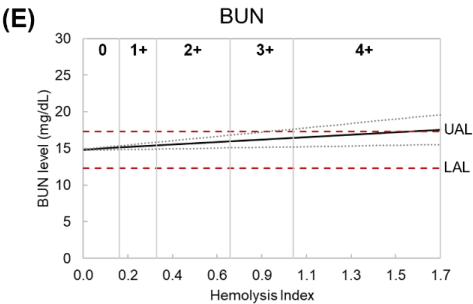
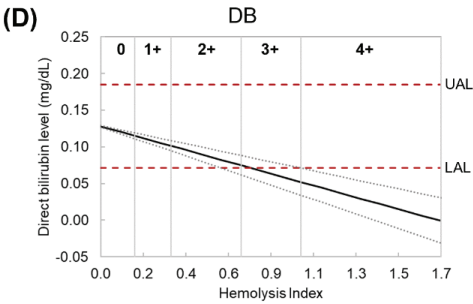
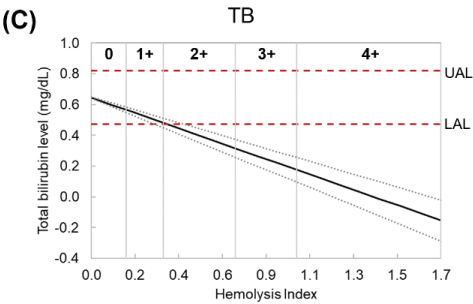
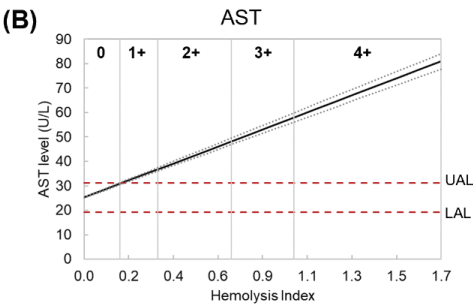
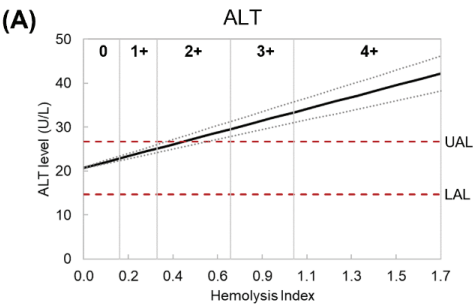


Fig. 4 Linear regression analysis of the biochemical levels and the quantitative serum indices. Hemolysis index (HI); ALT (A), AST (B), TB (C), DB (D), BUN (E), LDH (F), and magnesium (G). Icterus index (II); cholesterol (H). Lipemia index (LI); ALT (I) and AST (J). Solid black lines show linear regression lines with a 95% confidence interval (dashed lines). Acceptance limits were calculated from the constant of the linear regression model based on acceptance criteria. The upper acceptance limit (UAL) and lower acceptance limit (LAL) were indicated as red dashed lines.

Table 6 Hemolysis and lipemic interference thresholds comparing HIL index obtained from the manufacturer and HIL index determined in this study for seven biochemical parameters determined by the Beckman Coulter AU5800 analyzer.

Analyte (unit)	HIL index	HIL index thresholds from manufacturer		HIL index thresholds for clinically significant difference	
		Semi-quantitative	Acceptance	Semi-quantitative	Acceptance
		HIL index	criteria	HIL index	criteria
ALT (U/L)	HI	4+	<10% or 6 U/L	2+ ^b	<6 U/L
	LI	4+	<3% or 6 U/L	1+ ^b	
AST (U/L)	HI	N/A	N/A	1+ ^a	<6 U/L
	LI	4+	<5%	2+ ^a	
Total bilirubin (mg/dL)	HI	1+	<10%	2+ ^a	<27%
Direct bilirubin (mg/dL)	HI	N/A	N/A	3+ ^b	<44.5%
BUN (mg/dL)	HI	3+	<10%	4+ ^b	<16.9%
LDH (U/L)	HI	N/A	N/A	0 ^b	<15%
Magnesium (mg/dL)	HI	2+	<10% or 0.29 mg/dL	3+ ^b	<15%

HI, hemolysis index; II, icterus index; LI, lipemia index; N/A, not applicable

^a Clinically significant difference in biochemical level compared to HIL index (0)

^b Clinically significant difference in biochemical level predicted by the linear regression model

วิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการประเมินผลกระทบจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ความเหลืองและความขุ่น ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือด จำนวน 9 รายการทดสอบ ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Beckman Coulter AU5800 โดยใช้ฐานข้อมูลจากการประเมิน HIL index และผลตรวจระดับสารชีวเคมีในงานประจำวันเป็นเวลา 7 เดือน พบว่าสิ่งส่งตรวจที่มีระดับ HIL index ตั้งแต่ (3+) ขึ้นไป ได้แก่ hemolysis index (hemoglobin > 200 mg/dL), icterus index (bilirubin > 10 mg/dL) และ lipemia index (Intralipid > 200 mg/dL) มีเพียงร้อยละ 0.3, 2.9 และ 0.02 ตามลำดับ (Table 2-4) ซึ่งไม่เพียงพอต่อการวิเคราะห์ทางสถิติ จึงไม่สามารถประเมินผลการรบกวนจาก HIL ที่ระดับมากกว่า (2+) ได้ อย่างไรก็ตามอัตราการพบดังกล่าวสะท้อนถึงการจัดการในขั้นตอนก่อนการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้มาซึ่งสิ่งส่งตรวจที่มีคุณภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง พบโดยเฉลี่ยน้อยกว่าร้อยละ 3 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานการประเมินสิ่งส่งตรวจที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติจากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยระดับตติยภูมิในประเทศจีนในปี พ.ศ. 2565 ที่พบร้อยละ 3.84⁽²³⁾

การศึกษานี้นำเสนอรูปแบบการประเมินผลกระทบจาก HIL อีกรูปแบบหนึ่ง นอกเหนือจากแนวทางที่แนะนำโดย CLSI⁽¹²⁾ อย่างไรก็ตามวิธีการเตรียมสารละลายเม็ดเลือดแดง เพื่อใช้ในการประเมินการรบกวนการตรวจวิเคราะห์จากการแตกของเม็ดเลือดแดง มีความหลากหลายและอาจส่งผลต่อระดับการรบกวนการวิเคราะห์สารชีวเคมีที่แตกต่างกันในแต่ละวิธี⁽⁴⁾ จากผลการศึกษาในครั้งนี้

พบว่า การรบกวนที่เกิดจากสารชีวเคมีที่มีความเข้มข้นสูงภายในเม็ดเลือดแดง ได้แก่ LDH และ AST ส่งผลต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีนั้นอย่างมาก เมื่อเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง ในสิ่งส่งตรวจ โดยพบการรบกวนตั้งแต่ระดับ HI (0) ถึง HI (1+) หรือที่ระดับฮีโมโกลบินน้อยกว่า 100 mg/dL ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกันในหลายการศึกษา แม้ว่า จะใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ น้ำยาตรวจวิเคราะห์ และวิธีการประเมิน HIL index ที่แตกต่างกันในแต่ละผู้ผลิตก็ตาม^(15, 22-26) โดยพบว่าการวิเคราะห์ LDH มีความไวต่อการถูกรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง มากที่สุด ที่ระดับ HI (1+) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ LDH ที่ระดับ HI (0) แต่หากพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของระดับ LDH ที่ระดับ HI (0) ร่วมกับผลการทำนายโดยใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้น พบว่าการวิเคราะห์ LDH ถูกรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ตั้งแต่ระดับ HI (0) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทดสอบการรบกวนโดยใช้สารละลายเม็ดเลือดแดง ที่ระดับฮีโมโกลบิน 25-27 mg/dL ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter โดยให้ผลการวิเคราะห์ LDH เปลี่ยนแปลงไปร้อยละ 18.3-21.1^(15, 24) ดังนั้นค่า cutoff จากผู้ผลิตที่ 0.1700 สำหรับประเมิน hemolysis index ที่ระดับ HI (1+) อาจมีความไวไม่เพียงพอที่จะใช้ระบุระดับที่มีการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ในการวิเคราะห์ LDH ซึ่งผลการทำนายการรบกวนโดยใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้นจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า cutoff ที่พบการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง เกินเกณฑ์การยอมรับในการทดสอบ LDH เท่ากับ 0.0393 (Table 5) นอกจากนี้ผลการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง

ระดับสารชีวเคมีในการวิเคราะห์ ALT, BUN และ magnesium ไม่พบการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ที่ระดับน้อยกว่าหรือเท่ากับ HI (2+) ซึ่งผลจากการศึกษาอื่น ๆ ได้สนับสนุนการพบการรบกวนที่ระดับสูงกว่า คือ พบการรบกวนการวิเคราะห์ ALT ที่ระดับ HI (3+)^(15, 24) BUN ที่ระดับมากกว่า HI (3+)^(15, 24) และ magnesium ที่ระดับมากกว่า HI (4+)^(15, 23)

การแตกของเม็ดเลือดแดง ที่ระดับ HI (2+) ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ TB โดยมีค่าระดับสารชีวเคมีลดลงถึงร้อยละ 38 แต่ไม่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก (> 44.5%) ต่อการวิเคราะห์ DB ที่ระดับเดียวกันนี้ ซึ่งให้ผลการศึกษาเช่นเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทำการศึกษาผลของการแตกของเม็ดเลือดแดง ต่อการวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติรุ่น AU480 และ AU2700 โดยใช้วิธีเตรียมสารละลายเม็ดเลือดแดงด้วยวิธีเค้นเฉือน (shear stress) โดยการดูดเลือดผ่านเข็มฉีดยาด้วยความเร็ว และวิธีการแช่แข็งและละลายอย่างรวดเร็ว (rapid freeze-thaw) พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ TB ลดลงจากระดับเริ่มต้นมากกว่าร้อยละ 30 ที่ระดับ HI (2+) (ความเข้มข้นฮีโมโกลบิน 100-199 mg/dL)^(23, 24) และพบการเปลี่ยนแปลงของระดับ DB ลดลงจากระดับเริ่มต้นมากกว่าร้อยละ 44.5 ที่ระดับ HI (4+) (ความเข้มข้นฮีโมโกลบิน 300-499 mg/dL)⁽²³⁾ การรบกวนนี้อาจเป็นผลจาก pseudoperoxidase activity ของฮีโมโกลบินที่รบกวนปฏิกิริยา diazotization ในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ โดยไปทำลาย azobilirubin ผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) จึงทำให้ตรวจวัดบิลิรูบินได้ค่าต่ำลง⁽²⁷⁾ แต่จากผลการศึกษาผลกระทบจากการแตกของเม็ดเลือดแดง โดยใช้สารละลายฮีโมโกลบินที่เตรียมจากฮีโมโกลบินบริสุทธิ์

ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับ TB (เปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 10.9) และ DB (เปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 18.4) จนถึงระดับ HI (5+)⁽¹³⁾

การรบกวนการวิเคราะห์จากความเหลืองเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างบิลิรูบินและ hydrogen peroxide ซึ่งเป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยาการวิเคราะห์สารชีวเคมี เช่น การวิเคราะห์ cholesterol และ lipase โดยจะส่งผลให้ค่าระดับสารชีวเคมีที่วิเคราะห์ได้มีค่าลดลง ดังเช่นผลการศึกษาของ Akbas และคณะ⁽¹⁵⁾ โดยพบระดับของ cholesterol และ lipase ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก ที่ระดับ II (3+) และ II (4+) แต่ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ ไม่พบการรบกวนจากความเหลือง ต่อการวิเคราะห์สารดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ II (1+) และยังไม่พบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนและสอดคล้องกันเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของ II เจริญปริมาณ ซึ่งอาจเป็นผลจากข้อจำกัดของปริมาณข้อมูลที่สามารถวิเคราะห์ได้มีเพียง 2 ระดับ และระดับที่ II (1+) มีจำนวนตัวอย่างน้อยซึ่งส่งผลต่อความกว้างของ IQR และความแม่นยำในการประเมิน outlier ด้วยวิธีของ Tukey⁽²⁸⁾

การรบกวนการกระเจิงแสง ของความขุ่นจากไลโปโปรตีน (lipemia) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการวิเคราะห์ด้วย UV เช่น การวิเคราะห์เอนไซม์ ALT และ AST จากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์เพิ่มขึ้นร้อยละ 26.1-34.2 ที่ระดับ LI (2+) เปรียบเทียบกับการศึกษาผลของความขุ่น ต่อการวิเคราะห์ระดับสารชีวเคมีโดยใช้ Intralipid ซึ่งเป็นสารละลายอิมัลชันไขมันสังเคราะห์ และเป็นสารที่ทางผู้ผลิตใช้ทดสอบการรบกวนการวิเคราะห์จากความขุ่น พบว่า

ระดับของเอนไซม์ ALT และ AST เปลี่ยนแปลงไปมากกว่าร้อยละ 24.2-35.6 ที่ระดับ LI (2+) ถึง LI (3+)⁽¹⁵⁾ อย่างไรก็ตามมีรายงานเกี่ยวกับแนวโน้มความไม่สอดคล้องกันของผลการรบกวนระหว่างการศึกษโดยใช้ไขมันตามธรรมชาติ (endogenous lipid) กับ Intralipid หรือสารละลายไขมันสังเคราะห์กับไขมันตามธรรมชาติที่พบในสิ่งส่งตรวจ ซึ่งประกอบด้วยไลโปโปรตีนหลายชนิดที่มีขนาดแตกต่างกัน รวมถึงยังมีจำนวนที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล จึงแนะนำให้ใช้ไขมันตามธรรมชาติ (endogenous lipid) ในการประเมินผลกระทบจากความขุ่น⁽²⁹⁾ ทั้งนี้การศึกษาในครั้งนี้ประเมินผลการรบกวนการตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีโดยใช้ลักษณะตามธรรมชาติของสิ่งส่งตรวจที่มีความขุ่น ด้วยการประเมินจากค่า lipemia index เพียงอย่างเดียว โดยไม่ได้ประเมินระดับของไตรกลีเซอไรด์ร่วมด้วย

การใช้ตัวแบบถดถอยเชิงเส้นเพื่อทำนายระดับที่มีการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดงและความขุ่นนั้น พบว่า รายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับสารชีวเคมีในการศึกษาครั้งนี้และการศึกษาก่อนหน้า^(13, 15, 23, 24) ซึ่งศึกษาด้วยวิธีการเติมสารรบกวนตามแนวทางที่ CLSI แนะนำ โดยมีความแตกต่างของระดับ HIL index ไม่เกิน 1 ระดับ ยกเว้นการศึกษาการรบกวนจากความเหลืองต่อการวิเคราะห์ cholesterol เนื่องด้วยเหตุผลด้านข้อจำกัดดังที่ได้กล่าวไปแล้ว ทั้งนี้ระดับที่พบการรบกวนจาก HIL นั้นอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา รวมถึงแตกต่างจากผู้ผลิตระบุไว้ เนื่องจากขั้นตอนและวิธีที่ใช้ในการศึกษา ความเข้มข้นของสารรบกวนที่นำมาทดสอบ และเกณฑ์การยอมรับการรบกวนที่แตกต่างกัน

จากการเปรียบเทียบระดับของ HIL index ที่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์และเกณฑ์การยอมรับการรบกวนระหว่างข้อมูลจากผู้ผลิตกับผลการศึกษาในครั้งนี้ (Table 6) พบว่าการแตกของเม็ดเลือดแดงส่งผลต่อค่าการวิเคราะห์ LDH และ AST เจิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกที่ระดับ HI (0) และ HI (1+) ซึ่งเป็นระดับที่พบการแตกของเม็ดเลือดแดงเพียงเล็กน้อย ส่วนการวิเคราะห์ DB ได้รับผลกระทบเชิงลบจากการแตกของเม็ดเลือดแดงที่ระดับ HI (3+) โดยที่ทั้ง 3 รายการทดสอบไม่มีข้อมูลผลกระทบของการแตกของเม็ดเลือดแดงจากผู้ผลิต นอกจากนี้การแตกของเม็ดเลือดแดงและความขุ่นส่งผลต่อค่าการวิเคราะห์ ALT และ AST ที่ระดับต่ำกว่าที่ผู้ผลิตระบุไว้ 2-3 ระดับ แม้ว่าการศึกษานี้จะใช้เกณฑ์การยอมรับที่กว้างกว่าหรือเท่ากับผู้ผลิตก็ตาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาผลกระทบจากความขุ่น ในการทดสอบ ALT และ AST ซึ่งทางผู้ผลิตรายงานระดับการรบกวนที่ LI (4+) ที่เกณฑ์การยอมรับการรบกวนร้อยละ 3-5 ในขณะที่การศึกษานี้พบการเปลี่ยนแปลงของระดับสารชีวเคมีร้อยละ 8-14 ที่ระดับ LI (1+) ซึ่งความแตกต่างนี้อาจเป็นผลจากสารรบกวน Intralipid ที่ผู้ผลิตนำมาใช้ทดสอบผลกระทบจากความขุ่น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lim และคณะ⁽¹³⁾ ซึ่งใช้สาร Intralipid ในการศึกษาการรบกวนการวิเคราะห์ ALT และ AST ด้วยเครื่องวิเคราะห์รุ่นเดียวกันนี้ โดยพบการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ดังกล่าวน้อยกว่าร้อยละ 9.7 และ 6.2 ที่ระดับ HI (5+) สำหรับผลของการแตกของเม็ดเลือดแดง ต่อการวิเคราะห์ TB, BUN และ magnesium พบผลกระทบที่ระดับ HI สูงกว่าที่ผู้ผลิตระบุไว้ ทั้งนี้เนื่องจากเกณฑ์การยอมรับการรบกวนของการศึกษานี้ที่กำหนดโดยใช้ค่า allowable total analytical error (TEa)

ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละสารชีวเคมีและมีเกณฑ์ที่กว้างกว่าของผู้ผลิตซึ่งนิยมใช้เกณฑ์การยอมรับการรบกวนเดียวกันที่ร้อยละ 10

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ การศึกษาโดยใช้ฐานข้อมูลของการประเมิน HIL ในสิ่งส่งตรวจในงานประจำวันส่งผลให้ขนาดของตัวอย่างที่มีผล HIL index ตั้งแต่ระดับ (3+) ขึ้นไป มีจำนวนไม่เพียงพอ จึงไม่สามารถศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบ HIL ต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดได้ครบทุกระดับ รวมถึงยังไม่ครอบคลุมทุกรายการทดสอบในงานประจำวันและเป็นการศึกษาผลกระทบของระดับสารชีวเคมีในระดับปกติ (normal level) เพียงระดับเดียว ทั้งนี้การเพิ่มระยะเวลาการศึกษาอาจช่วยให้มีข้อมูลที่ครอบคลุมหลายระดับมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาผลกระทบของ HIL ต่อระดับสารชีวเคมีที่ระดับผิดปกติ (pathogenic level) ที่เป็นค่าสูงจะได้รับผลกระทบจากการรบกวนที่ระดับ HIL index เดียวกันกับผลกระทบที่พบในระดับสารชีวเคมีปกติ (normal level) หรือในระดับ HIL index ที่สูงกว่า^(13, 23)

สรุป

การประเมิน HIL ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิกเป็นวิธีประเมินสิ่งส่งตรวจที่ใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน การศึกษานี้เสนอผลประเมินการรบกวนจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ความเหลือง และความขุ่นต่อการวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Coulter AU5800 และนำเสนอรูปแบบการประเมินผลกระทบจาก HIL อีกรูปแบบหนึ่ง ซึ่งสามารถนำไปปรับใช้ในการประเมินผลกระทบจาก HIL ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิกอื่น ๆ ในห้องปฏิบัติการได้ อย่างไรก็ตามเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ

ทางเคมีคลินิกของแต่ละบริษัทอาจมีความแตกต่างในการวิเคราะห์ HIL index เกณฑ์หรือ cutoff limit รวมถึงการแปลผล ซึ่งผู้ใช้งานจะต้องศึกษาคู่มือการใช้งานของแต่ละเครื่องประกอบด้วย นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการควรประเมิน และกำหนดระดับค่า cutoff ที่เหมาะสมของ HIL index เพื่อประโยชน์ในการตัดสินใจดำเนินการกับสิ่งส่งตรวจ การปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ หรือการระบุความเห็นไปพร้อมกับผลการวิเคราะห์ เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับความปลอดภัยสูงสุดจากผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ ที่อนุญาตให้ใช้ข้อมูลในการทำวิจัย และขอบพระคุณหัวหน้างานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ และหัวหน้าหน่วยเคมีคลินิก ที่อนุญาตและให้ความช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Chawla R, Goswami B, Tayal D, Mallika V. Identification of the types of preanalytical errors in the clinical chemistry laboratory: 1-year study at G.B. Pant Hospital. Lab Med 2010; 41: 89-92.
2. Ryder K, Glick M and Glick S. Incidence and amount of turbidity, hemolysis, and icterus in serum from outpatients. Lab Med 1991; 22: 415-8.
3. Kroll MH, McCudden CR. Endogenous interferences in clinical laboratory tests: icteric, lipemic and turbid samples. Berlin: De Gruyter; 2012.

4. Marques-Garcia F. Methods for hemolysis interference study in laboratory medicine - a critical review. *eJIFCC* 2020; 31: 85-97.
5. Farrell CJ, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. *Ann Clin Biochem*. 2016; 53: 527-38.
6. Dimeski G, Mollee P, Carter A. Effects of hyperlipidemia on plasma sodium, potassium, and chloride measurements by an indirect ion-selective electrode measuring system. *Clin Chem* 2006; 52: 155-6.
7. Glick MR, Ryder KW, Glick SJ, Woods JR. Unreliable visual estimation of the incidence and amount of turbidity, hemolysis, and icterus in serum from hospitalized patients. *Clin Chem* 1989; 35: 837-9.
8. Lippi G, Cadamuro J. Visual assessment of sample quality: quo usque tandem?. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56: 513-5.
9. Simundic AM, Nikolac N, Ivankovic V, *et al.* Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: can we rely on a human eye?. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47: 1361-5.
10. Getahun T, Alemu A, Mulugeta F, *et al.* Evaluation of visual serum indices measurements and potential false result risks in routine clinical chemistry tests in Addis Ababa, Ethiopia. *eJIFCC* 2019; 30: 276-87.
11. von Meyer A, Cadamuro J, Lippi G, Simundic AM. Call for more transparency in manufacturers declarations on serum indices: On behalf of the Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chim Acta* 2018; 484: 328-32.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Hemolysis, icterus, and lipemia/turbidity indices as indicators of interference in clinical laboratory analysis; approved guideline. C56-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
13. Lim YK, Young JC. Proposal of modified HIL-indices for determining hemolysis, icterus and lipemia interference on the Beckman Coulter AU5800 automated platform. *Lab Med Online* 2017; 7: 66-72.
14. Aslan B, Stemp J, Catomeris P, Allen L, Kerekes R, Gun-Munro J. Clinical chemistry sample interferences reporting patterns in Ontario laboratories (abstract). *Clin Chem* 2012; 58: A23-4.
15. Akbas N, Eppert B, Miller J, Schulten C, Wallace C, Turner T. Effect of hemolysis, icterus and lipemia on chemistry tests and association between the amount of interfering substances and LIH indices. Medpace Reference Laboratories, Cincinnati, OH; 2018 [cited 2024 Feb 5].

- Available from: <https://www.medpace.com/wp-content/uploads/2018/08/White-paper-LIH.pdf>
16. Beckman Coulter Inc. LIH setting sheet (technical document). Brea (CA): Beckman Coulter Inc, 2022 [cited 2024 Feb 5]. Available from: https://www.beckmancoulter.com/download/file/phx-BSOSR6X16604-EN_US/BSOSR6X16604?type=pdf
 17. Box GEP, Cox DR. An analysis of transformations. J R Stat Soc 1964; B26: 211-52.
 18. Horn PS, Feng L, Li Y, Pesce AJ. Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation. Clin Chem 2001; 47: 2137-45.
 19. Jenkins DG, Quintana-Ascencio PF. A solution to minimum sample size for regressions. PLoS One 2020; 15: e0229345.
 20. Aarsand AK, Fernandez-Calle P, Webster C, *et al.* The EFLM Biological Variation Database [cited 2024 Jan 14]. Available from: <https://biologicalvariation.eu/>
 21. Ricós C, Alvarez V, Cava F, *et al.* Current databases on biological variation: pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest. 1999; 59: 491-500 [cited 2024 Feb 5]. Updated database available from: <https://www.westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/238-biodatabase1.html>
 22. Tian G, Wu Y, Jin X, *et al.* The incidence rate and influence factors of hemolysis, lipemia, icterus in fasting serum biochemistry specimens. PLoS One 2022; 17: e0262748.
 23. Perović A, Dolčić M. Influence of hemolysis on clinical chemistry parameters determined with Beckman Coulter tests - detection of clinically significant interference. Scand J Clin Lab Invest 2019; 79: 154-9.
 24. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. Biochem Med 2011; 21: 79-85.
 25. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. Clin Chem Lab Med 2006; 44: 311-6.
 26. Ho CKM, Chen C, Setoh JWS, Yap WWT, Hawkins RCW. Optimization of hemolysis, icterus and lipemia interference thresholds for 35 clinical chemistry assays. Pract Lab Med 2021; 25: e00232.
 27. Shull B, Lees H, Li P. Mechanism of interference by hemoglobin in the determination of total bilirubin. I. Method of Malloy-Evelyn. Clin Chem 1980; 26: 22-5.

28. Dawson R. How significant is a boxplot outlier?. J Stat Educ 2011; 19.
29. Fernández-Prendes C, Castro-Castro MJ, Jiménez-Añón L, Morales-Indiano C, Martínez-Bujidos M. Discrepancies in lipemia interference between endogenous lipemic samples and Smoflipid[®]-supplemented samples. eJIFCC 2023; 34: 27-41.