บทความพิเศษ

ค่าอ้างอิงสารเคมีในเลือด

สมพงษ์ จินายน*

Chinayon S. Reference values in clinical chemistry. Chula Med J 1986 Oct; 30(10): 955-966

Criteria for assignment and factors affecting the normal reference values in clinical chemistry are described. These are population characteristics, environmental effects, subject preparation, reliability of laboratory procedures and statistical estimation. Some experimental data in childhood, adolescence, adult and old age are established and the effects of age, sex, pregnancy, season, physiology and posture of subjects before specimen collection are demonstrated.

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัจจุบันในวงการเคมีคลินิกนิยมใช้คำว่า ค่าอ้างอิง (reference values) เมื่อระบุถึงระดับปกติของสารเคมีในซีรั่มหรือพลาสมาตัวอย่าง ทั้งนี้ตามข้อเสนอแนะของ Gräsbeck และ Saris[1] เพื่อการแปลผลการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เพราะ คำว่าค่าปกติ (normal value) คือค่าวิเคราะห์สารเคมีในเลือดของคนปกติ ซึ่งหมายถึงคนที่มีสุขภาพปกติอย่างสมบูรณ์ (absolute health) แต่เป็นการยากที่จะหาประชากรกลุ่มนั้น[2] การใช้คำค่าอ้างอิงของกลุ่มประชากรที่มีสุขภาพปกติจึงเหมาะสมกว่า เนื่องจากสามารถกำหนดลักษณะของกลุ่มประชากรได้ กำหนดระดับสุขภาพได้ โดยการสร้างเกณฑ์คัดเลือกกลุ่ม (criteria for inclusion or exlusion)

1. เกณฑ์การกำหนดค่าอ้างอิง

Sunderman[3] ได้แนะนำว่าการกำหนดค่าอ้างอิงสารเคมีที่ใช้แปลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการควรบอกถึงลักษณะ 5 ประการคือ

1.1 กลุ่มประชากรอ้างอิงและรายละเอียด เช่นกล่าวถึง เพศ อายุ อาชีพ น้ำหนัก ส่วนสูง จำนวนคน นอกจากนั้นข้อมูลทางพันธุกรรม อุปนิสัย ถิ่นที่อยู่ วัฒนธรรมประเพณีและเกณฑ์สำหรับคัดเลือกกลุ่ม

1.2 ภาวะแวดล้อมและสภาวะทางสรีรวิทยา เช่น อุณหภูมิของท้องถิ่น ฤดูกาล การออกกำลังกาย ภาวะความเครียด อาหารที่รับประทานประจำรวมทั้งการดื่มเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ และแคฟฟีอิน (caffeine) การสูบบุหรี่ ข้อมูลเกี่ยวกับสรีรวิทยาของสตรีในวัยเจริญพันธ์ เช่น ประจำเดือน การตั้งครรภ์ จำนวนบุตรและการใช้ยาคุมกำเนิด นอกจากนั้นต้องกล่าวถึงระยะเวลาที่งดอาหารก่อนเจาะเลือด ลักษณะของกลุ่มตัวอย่างนั้นได้จากผู้ป่วยที่หายจากโรคโดยได้รับการรักษาในโรงพยาบาล หรือเป็นผู้ป่วยรับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอก ตลอดจนชนิดและปริมาณยาที่ได้รับระหว่างการรักษาพยาบาล

1.3 วิธีการและเวลาที่เก็บตัวอย่าง วิธีการนำส่งตัวอย่าง การเตรียมและเก็บรักษาตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ เช่น เจาะเลือดจากหลอดโลหิตดำ แดง หรือเส้นโลหิตฝอย ระยะเวลาที่ใช้ tourniquet การใช้สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) หรือสารรักษาสภาพ (preservatives) ช่วงระยะเวลาที่แยกซีรั่มหรือพลาสมาหลังการเจาะเลือด อุณหภูมิที่ใช้และเก็บรักษา ความบ่อยในการแช่แข็งหรือละลาย (frequency of freezing and thawing) การสังเกตลักษณะทางกายภาพ (hemolysis, jaundice, lipemia)

1.4 เทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการวิเคราะห์ บอกข้อมูลที่แสดงถึงความแม่นยำ ความเที่ยงตรง และระบบการประกันคุณภาพ (quality assurance program)

1.5 บอกวิธีทางสถิติที่ใช้คำนวณข้อมูลค่าอ้างอิง และช่วงของค่าอ้างอิง (reference interval) เช่น โดยวิธี parametric เมื่อข้อมูลมีสมมติฐานการกระจายตัวแบบ gaussian curve หรือ log gaussian curve ใช้ค่า mean ± 2 SD เป็นค่าอ้างอิง ถ้าไม่ต้องตั้งสมมติฐานใช้ค่าระหว่างลำดับ 2.5 ถึง 97.5 percentile

2. ปัจจัยที่ทำให้ค่าอ้างอิงเปลี่ยนแปลง

Wilding and Bailey[4] ได้สรุปปัจจัยที่มีผลกระทบต่อค่าอ้างอิง ดังในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 : ปัจจัยที่เป็นสาเหตุหรือมีผลกระทบที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าสารชีวเคมี[4]

ก. ปัจจัยที่เนื่องจากกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติ

การเก็บตัวอย่าง (collection)
การนำส่ง (transport)
การเก็บรักษา (storage)
วิธีการวิเคราะห์ (analytical technique) : วิธีการ (method)
เครื่องมือ (equipment)
ความเที่ยงตรง (precision)
ความแม่นยำ (accuracy)

ข. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีววิทยาของร่างกาย

บุคคลเดียวกัน	: ระยะเวลาของวัน	(diurnal)
(intra-individual)	ฮอร์โมน	(hormonal)
	อริยาบทขณะเจาะเลือด	(posture)
	อาหาร	(dietary)
	การออกกำลังกาย	(exercise or physical activity)
	ฤดูกาล	(seasonal)
ต่างบุคคล	: อายุ (age)	
(inter-individual)	เพศ (sex)	
	เชื้อชาติ (race)	
	เศรษฐานะ (economic)	
	สิ่งแวดล้อม (environment)	
	พันธุกรรม (genetic)	
	ลักษณะรูปร่าง (physical type)	
	ความเครียด (stress)	
	ยา (medication)	
	พยาธิสภาพ (pathology)	

ปัจจัยดังกล่าวแล้วข้างต้นอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงค่าอ้างอิง สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่งได้ ดังที่มีรายงานการศึกษาที่ควรทราบคือ

2.1 ปัจจัยที่เนื่องจากกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

การเก็บและรักษาวัตถุตัวอย่าง

การเจาะเลือดจากกลุ่มประชากรที่มีสุขภาพปกติควรกำหนดชนิดวัตถุตัวอย่างที่จะใช้สำหรับวิเคราะห์ เช่น ซีรั่มหรือพลาสมา ถึงแม้ว่าสารชีวเคมีบางชนิดอาจหาปริมาณได้ทั้งในซีรั่มและพลาสมา ผู้วิเคราะห์ควรมีข้อมูลที่แสดงว่าค่าวิเคราะห์ในวัตถุ

ตัวอย่างทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน เพราะมีการศึกษาที่แสดงว่าปริมาณสารทองแดงในซีรั่มสูงกว่าในพลาสมาจากบุคคลเดียวกันเมื่อวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ atomic absorption spectrophotometry[5] สาเหตุที่แน่นอนยังไม่ทราบ แต่ส่วนหนึ่งอาจเนื่องจากสารทองแดงถูกปล่อยออกจากเกร็ดเลือด เม็ดโลหิตขาว หรือเม็ดโลหิตแดงระหว่างการแข็งตัวของโลหิตและการหดตัวของลิ่มเลือด ในการเตรียมซีรั่ม (coagulation and clot retraction)

การเก็บรักษาวัตถุตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ก็เป็นขั้นตอนที่นักวิเคราะห์ต้องทำให้ถูกต้องก่อนการวิเคราะห์หาค่าอ้างอิงปกติสารเคมี ปัจจัยที่สำคัญคือระยะเวลาที่เก็บรักษา และอุณหภูมิ ถ้าสารใดยังไม่ได้กล่าวไว้ในหนังสือตำราหรือรายงานการศึกษาหรือข้อมูลไม่ตรงกัน นักเคมีคลินิกควรต้องทำการทดลองดูตามสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการเองเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับนำมาปฏิบัติ[6,7] ดังการศึกษาความคงที่ของค่าไตรกลีเซอไรด์ในซีรั่ม[6] ซีรั่มเก็บไว้ 2 วันในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4° เซลเซียส จะลดลง 3 มก./ดล. และเก็บไว้ 2 วันที่อุณหภูมิ 25° เซลเซียส จะลดลง 7 มก./ดล. ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่านี้น้อยมาก อย่างไรก็ตามถ้ามีความจำเป็นต้องเก็บซีรั่มไว้สำหรับหาปริมาณไตรกลีเซอไรด์ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น เพราะมีการลดปริมาณลงน้อยกว่า ทั้งนี้เพราะไตรกลีเซอร์ไรด์จะถูกย่อยสลายเป็นกลีเซอรอลได้ขณะเก็บรักษา

ความคงที่ของเอนไซม์ระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างมีความสำคัญต่อการวิเคราะห์หาค่าอ้างอิง จึงจำเป็นต้องทราบถึงรายละเอียดดังการศึกษาความคงที่ของค่าวิเคราะห์เอนไซม์แกมมา กลูตามิลย์ทรานสเฟอเรส (gamma glutamyl transferase)[7] ในซีรั่มที่วิเคราะห์ทันทีหลังเจาะเลือด 2 ชั่วโมง เก็บรักษาไว้ 3 วันที่อุณหภูมิ 25°, 4° และ -10° เซลเซียส ซึ่งพบว่าค่าเอนซัมย์ที่วิเคราะห์ได้ไม่แตกต่างกัน จึงอาจเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิดังกล่าวแล้วเมื่อไม่อาจวิเคราะห์ได้ทันที

นอกจากการกำหนดชนิดของตัวอย่างแล้ว บริเวณที่เจาะเลือดก็อาจมีบทบาทต่อค่าวิเคราะห์ด้วย ดังรายงานการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ แลคเตทดีฮัยโดรจีเนสและแอสฟาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรสในซีรั่มที่เจาะจากหลอดโลหิตดำ (venous blood) ซีรั่มจากเส้นโลหิตฝอย (capillary serum) และพลาสมาจากเส้นโลหิตฝอย (capillary plasma)[8] ซึ่งพบว่าค่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดในซีรั่มจากเส้นโลหิตฝอยซึ่งเจาะจากปลายนิ้วสูงกว่าซีรั่มที่ได้จากหลอดโลหิตดำ และพลาสมาจากเส้นโลหิตฝอย ปรากฏการณ์นี้คงเนื่องจากกลวิธีการแข็งตัวของโลหิตในหลอดแก้วขนาดเล็กมีผลทำให้เกิดการแตกทำลายของเกร็ดเลือดและเม็ดโลหิตขาวมากกว่าในหลอดแก้วขนาดใหญ่ ผู้รายงานได้แนะนำให้ใช้พลาสมาจากเส้นโลหิตฝอยในการตรวจวิเคราะห์เอนไซม์ทั้งสองชนิดในเด็กซึ่งมักจะเจาะเลือดจากเส้นเลือดฝอย[8]

2.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อชีววิทยาของร่างกาย

2.2.1 อริยบทขณะเจาะเลือด

Statland และคณะ[9] ได้ศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยของแต่ละบุคคลที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าวิเคราะห์สารเคมี 18 ชนิด ในคนสุขภาพปกติ จำนวน 11 คน อายุ 20-25 ปี พบว่าอริยาบทขณะเจาะเลือดทำให้ค่าวิเคราะห์ในบุคคลเดียวต่างกันได้ ถ้าคนยืนก่อนเจาะเลือดนาน 30 นาที เพิ่มระดับซีรั่มฟอสเฟต โปรตีนรวม แอลบูมิน ไขมันรวม โฆเลสเตอรอล และแอลคาไลน์ ฟอสฟาท์เทส ถ้านั่งก่อนเจาะเลือดนาน 30 นาที ระดับแอสฟาร์เตท อะมิโนทราสเฟอเรส (AST) จะลดลงกว่าเมื่อนั่งเพียง 15 นาทีก่อนเจาะเลือด นอกจากนั้นถ้านอนนาน 30 นาที และเจาะเลือดมีระดับสารเคมีลดต่ำกว่าเมื่อนั่ง 15 นาทีก่อนเจาะเลือด

ได้แก่ แคลเซียม โปแตสเซียม โปรตีนรวมอัลบูมิน แอสฟาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรส และแอซิดฟอสฟาท์เทส อีกประการหนึ่งการใช้สายยางรัดแขนบริเวณเจาะเลือดเป็นเวลานาน 3 นาที (prolonged tourniquet application) มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าสารเคมีเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สายยางรัดระยะสั้น 15-30 วินาที ซีรั่มโปแตสเซียมต่ำกว่า ส่วนค่าที่สูงกว่าเป็นโปรตีนรวม เหล็ก ไขมันรวม โมเลสเตอรอล แอสพาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรส และบิลิรูบิน

2.2.2 ระยะเวลาของวัน

Winkel และคณะ[10] ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าวิเคราะห์สารเคมีในเลือดในคนปกติกลุ่มเดียวกันในรายงานของ Statland[9] และคณะ โดยเจาะเลือดต่างเวลาในวันเดียว (within hour variation) และต่างวันในเวลา 2 สัปดาห์ (shot-term day-to-day variation) พบว่า เมื่อผู้ถูกทดลองนั่งเป็นเวลานาน 60 นาทีก่อนเจาะเลือดครั้งแรก และนั่งนาน 30 นาที ก่อนเจาะเลือดครั้งที่ 2 ผลการวิเคราะห์ไขมันรวม (total lipids) และแอลคาไลน์ ฟอสฟาท์เทส ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อผู้ถูกทดลองถูกเจาะเลือกทุกระยะ 3 วันในช่วงเวลา 2 สัปดาห์ ค่าวิเคราะห์สารเคมีที่มีความแปรปรวนเนื่องจากระยะเวลา คือ ซีรั่มแอซิดฟอสฟาท์เทสจะเพิ่มขึ้นจากครั้งที่ 1 จนถึงครั้งที่ 5 นอกจากนั้นความแปรปรวนทางสรีรชีววิทยาของผู้ถูกทดลองแต่ละคนมีผลทำให้ค่าวิเคราะห์สารเคมีในซีรั่มแต่ละวันเปลี่ยนแปลง (subject-day interaction) ได้แก่ โซเดียม โปแตสเซียม แคลเซียม ฟอสเฟท ยูเรีย กรดยูริค เหล็ก โมเลสเตอรอล โปรตีนรวม ไขมันรวม แอซิดฟอสฟาท์เทส แอลคาไลน์ฟอสฟาท์เทส แอสฟาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรส อะลานิน อะมิโนทรานสเฟอเรส และบิลิรูบิน การที่ระดับซีรั่มแอซิดฟอสฟาท์เทสสูงขึ้นในบุคคลเดียวกันเมื่อเจาะเลือดต่างวันกัน สาเหตุจากการเก็บรักษาซีรั่มตัวอย่างไว้ที่ -20° เซลเซียส และวิเคราะห์พร้อมกัน ซีรั่มที่เก็บนานกว่าการทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity) จะลดลง ส่วนความแปรปรวนค่าวิเคราะห์ของสารเคมีชนิดอื่นตรวจต่างเวลาหรือต่างวันกัน คงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาที่เกิดขึ้นในกลุ่มคนปกติที่เจาะเลือด

2.2.3 อายุและเพศ

2.2.3.1 เด็ก Gomer และคณะ[11] ได้ศึกษาค่าอ้างอิงปกติสารเคมีในเด็กจำนวน 2,099 ราย อายุตั้งแต่แรกเกิดจนถึง 14 ปี เป็นเด็กที่มาตรวจสุขภาพที่โรงพยาบาล เมืองมะดริด ประเทศสเปญ

การวิเคราะห์ข้อมูลมุ่งศึกษาผลของเพศ และอายุที่อาจทำให้ค่าอ้างอิงปกติเปลี่ยนแปลง และพบว่าระดับสารเคมีที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากเพศ คือ triglyceride, lactate dehydrogenase (LDH) ในเด็กผู้ชาย พบว่า LDH สูงกว่าที่พบในเด็กผู้หญิง และค่า triglycerides ต่ำกว่าเด็กหญิง เฉพาะกลุ่มที่มีอายุตั้งแต่ 7 ปีขึ้นไป สำหรับค่า alkaline phosphatase ที่ระดับ 50 percentile ในหญิงอายุเกิน 12 ปีขึ้นไป จะลดต่ำกว่าที่พบในเด็กผู้ชายมาก (97 u/l vs 253 u/l)

ส่วนอายุในเด็กนั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ระดับสารเคมีในซีรั่มเปลี่ยนแปลง ดังนี้ คือ[11]

กลูโคส ในเด็กแรกเกิดอาทิตย์แรก ค่าต่ำ แต่ในระยะเด็กอ่อนไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ

กรดยูริค โซเดียม และคลอไรด์ ในเด็กแรกเกิดอาทิตย์แรก มีความแปรปรวนมาก ในระยะต่อมาที่ศึกษาไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ

ครีอาตินิน ค่าจะสูงมากในเด็กแรกเกิด และค่อยลดลงในปลายเดือนแรก ต่อไปค่าจะค่อยสูงขึ้นจนอายุ 3 ปี จะมีระดับเท่ากับที่พบในผู้ใหญ่

ฟอสฟอรัส อนินทรีย์ (inorganic phosphorus) สารนี้ค่าจะต่ำกว่าที่พบในผู้ใหญ่ตลอดระยะที่ศึกษา

โปแตสเซียม ค่าสูงในระยะเด็กแรกเกิด และค่อยลดต่ำลงจนเท่าระดับที่พบในผู้ใหญ่เมื่ออายุ 3 ปี

คาร์บอนไดออกไซด์รวม (total CO_2) ค่าคงที่จนเด็กอายุ 2 ปีแรก และมีแนวโน้มจะสูงขึ้นในระยะที่ศึกษา

เหล็ก ระดับซีรั่มเหล็ก สูงในเด็กแรกเกิด (1 เดือนแรก) ต่อมาจะค่อยลดลง ในอายุระหว่าง 1 ปีแรก จะสูงขึ้น และคงที่เท่ากับระดับที่พบในผู้ใหญ่ ตลอดระยะการศึกษา

โฆเลสเตอรอล ค่าสูงขึ้นตั้งแต่อายุแรกเกิดจนถึงสองปีแรก ต่อมาจะคงที่เท่ากับระดับที่พบในผู้ใหญ่

ไตรกลีเซอร์ไรด์ เฉพาะค่า 97 percentile สูงในระยะ 2 ปีแรก สาเหตุอาจเนื่องจากระยะเวลาในการงดอาหารก่อนเจาะเลือดไม่แน่นอน

โปรตีนรวม และอัลบูมิน ในเดือนแรกระดับในซีรั่มลดต่ำ ต่อมาจะค่อยสูงขึ้นจนเท่ากับระดับที่พบในผู้ใหญ่ สำหรับโปรตีนรวม เมื่ออายุ 7 ปี และสำหรับอัลบูมิน เมื่ออายุ 2 ปี

บิลิรูบินรวม (total bilirubin) ระดับสูงตั้งแต่อาทิตย์แรกหลังคลอด หลังจากนั้นจะลดต่ำลงเมื่อปลายอาทิตย์แรก และคงที่อยู่ตลอดระยะที่ศึกษา

แคลเซียม ในเดือนแรกระดับมีความแปรปรวนมาก ตั้งแต่ระยะเด็กอ่อนระดับค่อนข้างคงที่และเท่ากับที่พบในผู้ใหญ่

creatine kinase ในเด็กแรกเกิดจนอายุ 1 ขวบปีแรก ระดับมีความแปรปรวนมากและค่าที่ 97 percentile จะสูงในเด็กอ่อน ต่อมาค่าจะค่อยลดลงจนเท่ากับระดับที่พบในผู้ใหญ่เมื่ออายุ 1 ปี

alkaline phosphatase ระดับจะสูงกว่าที่พบในผู้ใหญ่ตลอดระยะที่ศึกษา

lactate dehydrogenase (LDH) และ **aspartate aminotransferase (AST)** ระดับจะแปรปรวนมากในระยะ 1 ปีแรก ต่อมาจะค่อยลดลงจนเท่าที่พบในผู้ใหญ่ แต่เอนไซม์ LDH จะลดลงเห็นได้ชัดกว่า AST

alanine aminotransferase (ALT) ในอายุ 1 ปีแรก ค่าจะสูง ต่อมาจะลดลงจนเท่ากับค่าที่พบในผู้ใหญ่

2.2.3.2 ผู้ใหญ่ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาในกลุ่มผู้บริจาคเลือด 1,000 คน ในประเทศอังกฤษ ทั้งเพศหญิงและชายอายุระหว่าง 18 ถึง 65 ปี และแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามช่วงอายุออกเป็น 5 กลุ่มและยังศึกษาผลกระทบของยาคุมกำเนิดชนิดรับประทานในหญิงวัยเจริญพันธุ์ ผลของการหยุดมีประจำเดือนในหญิง (post-menopausal women) ผลการผ่าตัดเอามดลูกออกในหญิง ผลการศึกษาที่สำคัญคือ[12]

ซีรั่มโปรตีนรวมและพลาสมาอัลบูมินทั้งชายและหญิงจะลดลงทุกอายุ 10 ปีที่เพิ่มขึ้น แต่ระดับในหญิงต่ำกว่าของชายที่อายุเท่ากันจนถึงอายุ 45 ปี และระดับจะค่อยสูงขึ้นจนเมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน ระดับซีรั่มโปรตีนรวมและพลาสมาอัลบูมินในหญิงจะสูงกว่าในชาย นอกจากนี้การรับประทานยาคุมกำเนิดยังทำให้ระดับพลาสมาอัลบูมินของหญิงลดต่ำลงได้อีกประมาณ 0.23 กรัม/ดล[12]

พลาสมาแคลเซียม การเปลี่ยนแปลงเป็นรูปแบบเดียวกับซีรั่มโปรตีนรวมและพลาสมาอัลบูมิน แต่การรับประทานยาคุมกำเนิดไม่มีผลกระทบต่อความเข้มข้นของพลาสมาแคลเซียมในหญิง[12]

พลาสมาฟอสเฟตอนินทรีย์ ระดับที่พบทั้งเพศชายและหญิงลดลงเล็กน้อยเมื่ออายุเพิ่มขึ้นถึง 45 ปี และความแตกต่างของระดับพลาสมาฟอสเฟตระหว่างเพศมีเพียงเล็กน้อย แต่ที่อายุในวัยหมดประจำเดือนหญิงจะมีระดับสูงขึ้นอย่างฉับพลัน ทำให้ค่าสูงกว่าที่พบในชายถึง 17% ในคนปกติกลุ่มอายุระหว่าง 56-65 ปี ยาคุมกำเนิดทำให้ระดับ

พลาสมาฟอสเฟตลดลงโดยเฉลี่ย 0.13 มิลลิโมล/ลิตร (m mol/l)[12]

ซีรั่มเหล็ก ทั้งชายและหญิงจะมีระดับลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้นในหญิงกลุ่มอายุ 18 ถึง 25 ปี ซีรั่มเหล็กจะลดต่ำกว่าชายโดยเฉลี่ย 4.8 ไมโครโมล/ลิตร (μ mol/l) สำหรับกลุ่มอายุอื่นหญิงมีระดับต่ำกว่าชายเล็กน้อยและในหญิงวัยหมดประจำเดือนระดับจะเท่ากับที่พบในชาย[12]

พลาสมาคลอไรด์ ในเพศชายจะมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามอายุจนถึง 65 ปี ส่วนเพศหญิงมีระดับสูงกว่าที่พบในเพศชายเล็กน้อย และไม่มีความแตกต่างกับเพศชายเมื่อหญิงอยู่ในวัยหมดประจำเดือน อย่างไรก็ตามความแตกต่างของระดับพลาสมาคลอไรด์ระหว่างอายุและเพศมีไม่เกิน 1%[12]

พลาสมาโซเดียม ทั้งในหญิงและชายมีระดับค่อนข้างคงที่จนถึงอายุ 45 ปี และระดับที่พบในหญิงต่ำกว่าที่พบในชาย หญิงเมื่อย่างเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนระดับพลาสมาโซเดียมค่อยสูงขึ้น จนมากกว่าที่พบในชาย 1%[12]

พลาสมาโปแตสเซียม ความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นตามอายุของทั้งสองเพศ ค่าในผู้หญิงระดับต่ำกว่าผู้ชาย 4% แต่เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนความแตกต่างของค่าพลาสมาโปแตสเซียมเกือบไม่มีเลย และการผ่าตัดเอามดลูกออกในวัยดังกล่าวทำให้มีระดับโปแตสเซียมต่ำกว่าหญิงในวัยเดียวกัน[12]

พลาสมายูเรท ในชายระดับจะไม่เปลี่ยนแปลงมากในช่วงอายุระหว่าง 18 ถึง 65 ปี แต่ค่าจะสูงกว่าหญิงอายุระหว่าง 18 ถึง 45 ปี 25% ส่วนในหญิงนั้นเมื่อถึงวัยหมดประจำเดือนค่าจะเพิ่มขึ้นแต่ยังคงต่ำกว่าค่าที่พบในชายอายุเท่ากัน 12%[12]

พลาสมาแอสพาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรส ในชายระดับไม่เปลี่ยนแปลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น แต่ค่าจะสูงกว่าหญิงอายุระหว่าง 18 ถึง 45 ปี 20% ส่วนในหญิงวัยหมดประจำเดือนค่าจะเพิ่มขึ้นจนเท่ากับชายในอายุเดียวกัน อีกประการหนึ่งยาคุมกำเนิดชนิดรับประทานทำให้ระดับพลาสมาแอสพาร์เตทอะมิโนทรานสเฟอเรสลดลงได้ 10%[12]

ซีรั่มโกลบุลิน ในผู้ชายระดับเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามอายุ ในผู้หญิงระดับสูงกว่าชายในช่วงอายุน้อย 5% และระดับคงที่จนถึงอายุ 45 ปี จึงทำให้ไม่มีความแตกต่างระหว่างหญิงกับชาย แต่เมื่อถึงวัยหมดประจำเดือนระดับจะเพิ่มขึ้นแต่ก็ยังคงไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ[12]

พลาสมาครีอาตินิน ระดับทั้งที่พบในชายและหญิงจะค่อยเพิ่มขึ้นตามอายุโดยเมื่อถึงกลุ่มอายุสูงสุดที่ศึกษา 56 ถึง 65 ปี ค่าจะเพิ่มขึ้น 15% จากที่พบในกลุ่มอายุต่ำ 18 ถึง 25 ปี ค่าพลาสมาครีอาตินินในผู้ชายสูงกว่าของผู้หญิง 20% ตลอดช่วงอายุที่ศึกษา[12]

พลาสมายูเรีย ระดับที่พบในชายเพิ่มขึ้นตามอายุ ตลอดช่วงอายุที่ศึกษาเพิ่มขึ้น 18% ในหญิงระดับต่ำกว่าชาย 16% จนถึงอายุ 45 ปี ในระยะวัยหมดประจำเดือนค่าจะสูงขึ้นจนใกล้เคียงกับที่พบในชาย จึงทำให้ความแตกต่างลดลง[12]

พลาสมาแอลไลน์ ฟอสฟาท์เทส ระดับทั้งสองเพศจะลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุระหว่าง 18 ถึง 25 ปี และจะคงที่จนถึงอายุ 36 ปี ถึง 45 ปี ค่าจึงจะเพิ่มขึ้นอีก ในหญิงตลอดระยะวัยเจริญพันธุ์ค่าต่ำกว่าที่พบในชาย 17% แต่เมื่อถึงวัยหมดประจำเดือนผู้หญิงมีระดับพลาสมาแอลคาไลน์ฟอสฟาท์เทสเพิ่มขึ้นจนเท่ากับผู้ชาย[12]

พลาสมาโฆเลสเตอรอล ระดับที่พบในทั้งสองเพศเพิ่มขึ้นตามอายุที่สูงขึ้น และระดับใกล้เคียงกันจนถึงกลุ่มอายุระหว่าง 36 ถึง 45 ปี ในหญิงระดับจะเพิ่มขึ้นเร็ว คือสูงประมาณ 40% เมื่ออายุ 56-65 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับอายุ 18 ถึง 25 ปี ส่วนในชายระดับเพิ่มขึ้นช้ากว่า ความแตกต่างระหว่างหญิงและชายประมาณ 15% ในกลุ่มอายุสูงสุด[12]

กลูโคสในเลือด ระดับเพิ่มขึ้นเมื่ออายุเพิ่มขึ้นทั้งชายและหญิง โดยค่าของกลุ่มอายุสูงสุดจะสูงกว่ากลุ่มอายุต่ำสุดที่ศึกษา 10% ไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ[12]

2.2.3.3 ผู้สูงอายุ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาค่าอ้างอิงของสาร lipids, lipoproteins และ apoproteins ของประชากรผิวขาวในประเทศสเปญ[13] โดยศึกษาในกลุ่มตัวอย่างผู้สูงอายุที่มีสุขภาพปกติ จำนวน 145 ราย เป็นชาย 50 ราย และหญิง 95 ราย อายุระหว่าง 65 ถึง 95 ปี อายุเฉลี่ย 80 ปี ผู้สูงอายุเหล่านี้ไม่ได้รับประทานยาเป็นประจำ และไม่มีโรคหรือพยาธิสภาพที่จะมีผลกระทบต่อเมตาบอลิสั่มของสารไขมัน ในหญิงและชายไม่มีความแตกต่างกันในระดับของสารไขมันในซีรั่มที่ศึกษาคือ total cholesterol, high-density-lipo-protein cholesterol (HDL--C) low density-lipoprotein cholesterol, (LDL – C) triglycerides, apoprotein A และ apoprotein B แต่ในผู้ชายมีแนวโน้มที่แสดงว่าซีรั่ม Cholesterol มีระดับต่ำกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุมระหว่างอายุ 40 ถึง 60 ปี (ค่าเฉลี่ย 194 vs 207 มก/ดล) ตรงกันข้ามผู้หญิงสูงอายุมีแนวโน้มที่มีระดับซีรั่ม cholesterol สูงกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุมที่อายุน้อยกว่า (ค่าเฉลี่ย 204 vs 198 มก/ดล) ค่า HDL – C ในกลุ่มผู้สูงอายุนั้นมีแนวโน้มแสดงค่าสูง ในเมื่อค่า LDL – C, triglyceride และ apo B มีระดับต่ำกว่า ทั้งนี้โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรอายุน้อยกว่าที่ได้เคยศึกษาในประเทศสเปญ[13]

ปัจจุบันวงการแพทย์ในประเทศไทย นำค่าอ้างอิงจากรายงานการศึกษาของต่างประเทศมาใช้ แต่สิ่งแวดล้อม เชื้อชาติ พันธุกรรม และอาหาร เป็นปัจจัยที่ทำให้ค่าอ้างอิงสารชีวเคมีเปลี่ยนแปลงได้ จึงได้มีการศึกษาหาค่าอ้างอิงในประชากรคนไทยด้วย[14] ซึ่งได้ศึกษาค่าอ้างอิงของสารชีวเคมีในเลือด 21 ชนิด จากตัวอย่างของประชากรสุขภาพปกติในจังหวัดสงขลาจำนวน 185 คน อายุระหว่าง 20 ถึง 39 ปี วิธีวิเคราะห์ใช้เทคนิคที่แนะนำ โดยคณะอนุกรรมการพัฒนาทางเคมีคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดให้ใช้ ซึ่งเป็นวิธีที่ทำด้วยมือและใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดธรรมดา (manual and spectrophotometric methods) และได้รายงานค่าอ้างอิงเป็น percentile ที่ลำดับ 50, 2.5 และ 97.5 จากการศึกษาพบว่า ค่าอ้างอิงสารเคมี 11 ชนิดในชายมีค่าสูงกว่าในหญิง ได้แก่ กรดยูริค ยูเรีย ไนโตรเจน ครีอาตินิน ไตรกลีเซอร์ไรด์ บิลิรูบินรวม แอสฟาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรส (AST) อะลานิน อะมิโนทรานสเฟอเรส (ALT) แอซิด ฟอสฟาท์เทส แอลคาไลน์ ฟอสฟาท์เทส อัลบูมิน และโกลบุลิน นอกจากนั้นเมื่อแบ่งกลุ่มประชากรทั้งหญิงและชายตามอายุออกเป็นช่วงระหว่าง 20-29 ปี และ 30-39 ปี ในหญิงทั้งสองกลุ่มอายุไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับสารเคมีในเลือด แต่ในชายระดับสารชีวเคมีจำนวน 8 ชนิดเพิ่มขึ้นตามอายุ ได้แก่ สารกลูโคส โฆเลสเตอรอลรวม ยูเรีย ไนโตรเจน ครีอาตินิน ไตรกลีเซอไรด์ แอสฟาร์เตท อะมิโนทรานสเฟอเรส อะลานิน อะมิโนทรานสเฟอเรส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาท์เทส และระดับสารเคมีลดเมื่ออายุเพิ่มขึ้น ได้แก่ ฟอสฟอรัส กรดยูริค และบิลิรูบินรวม ส่วนสารอื่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงตามอายุในผู้ชายคือ โซเดียม คลอไรด์ แคลเซียม โปรตีนรวม อัลบูมิน โกลบุลิน บิลรูบินชนิดที่ทำปฏิกิริยาโดยตรง (direct bilirubin) แอซิด ฟอสฟาท์เทส และอะมัยเลส

3. หลักการคำนวณค่าอ้างอิงสารเคมี

ค่าอ้างอิงกำหนดได้โดยใช้หลักทางสถิติ[15,16] และความสำคัญทางคลินิกของสารชีวเคมีเพื่อการวินิจฉัยโรค[17]

3.1 โดยใช้หลักทางสถิติ ถ้าทราบชนิดการกระจายตัวของข้อมูลที่วิเคราะห์ได้เป็นแบบปกติหรือโค้งปกติ (normal distribution or gaussian curve) ซึ่งทดลองหาโดยการเขียน histogram นำข้อมูลทั้งหมดมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean, SD) หาช่วงค่า mean $\pm$ 3 SD แล้วตัดค่าที่เกินช่วงดังกล่าวออก นำข้อมูลที่เหลือมาคำนวณหาค่า mean และ SD ซ้ำอีกครั้ง ค่าอ้างอิงของสารชีวเคมีอยู่ระหว่างค่า mean $\pm$ 2 SD[14,15] แต่ข้อมูลทางด้านสรีรวิทยาหรือชีวเคมีของร่างกายไม่ได้มีการกระจายตัวเป็นแบบปกติทั้งหมด (non-gaussian curve) ถ้านำมาคำนวณค่า mean และ SD และกำหนดเป็นค่าอ้างอิง ก็ทำให้การแปลผลค่าสารเคมีทางคลินิกผิดพลาดได้ จึงได้มีการดัดแปลงข้อมูลให้มีการกระจายตัวเป็นปกติก่อน โดยเปลี่ยนค่าวิเคราะห์สารเคมีให้เป็น logarithms ก่อนและนำมาหาค่า mean SD และเปลี่ยนให้เป็นค่า antilog ก็จะได้ค่าอ้างอิง วิธีนี้อาจมีอคติได้เพราะเพียงทำให้ความเบ้ (skewness) ของโค้งน้อยลง ดูเสมือนเป็นการกระจายตัวปกติ เพราะโค้งมีลักษณะปกติมากขึ้น (log-normal curve)[15] เท่านั้น จึงได้มีผู้แนะนำให้ใช้การคำนวณแบบ nonparametric percentile method สำหรับหาค่าอ้างอิงเพื่อจะหลีกเลี่ยงสมมติฐานเกี่ยวกับธรรมชาติของข้อมูลและการกระจายตัว[16] (gaussian assumption) ถึงแม้ว่าข้อมูลจะมีการกระจายตัวแบบปกติก็ใช้การคำนวณแบบ percentile method ได้ซึ่งให้ค่าอ้างอิงตรงกันกับการคำนวณแบบการหาค่า mean และ SD[16] การคำนวณค่า p^{th} percentile (P percent cut-off point or Percent point) จากตัวอย่างข้อมูลวิเคราะห์จำนวน N จะหา P percent ของ (N + 1) สมมติว่า N = 50 นำมาเรียงลำดับตัวเลขข้างบนตามจำนวนจากน้อยไปหามาก และตำแหน่งที่ 5 มีตัวเลขค่าวิเคราะห์ 43 ตำแหน่งที่ 6 มีตัวเลขค่าวิเคราะห์ 47 ถ้าต้องการค่าวิเคราะห์ที่ตำแหน่ง 10^{th} percentile คำนวณโดย (N + 1) $\times$ 0.1 คือ 51 $\times$ 0.1 = 5.1 หมายถึงตำแหน่ง (rank order) ของ 10 percentile อยู่ที่ลำดับ 5.1 นั่นคือ 0.1 ของค่าวิเคราะห์ที่อยู่ระหว่าง 43 และ 47 คือ 0.1 $\times$ 4 = 0.4 ซึ่งคือตัวเลข 43.4 เช่นเดียวกับค่าวิเคราะห์ที่ตำแหน่ง 90^{th} percentile ก็หาค่า 0.1 ของระยะระหว่างตำแหน่งที่ 45 และ 46 การหาค่าอ้างอิงแบบ percentile นั้นไม่ต้องพิจารณาถึงสมมติฐานให้การกระจายตัวของข้อมูลเป็นแบบ parametric techniques และไม่ต้องตัดข้อมูลใดออกก่อนการคำนวณ และจากการศึกษาของ Galen พบว่าค่าอ้างอิง (reference interval) จากผู้มาตรวจสอบสุขภาพที่คลินิกของผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลแบ่งกลุ่มตามเพศ และช่วงอายุทุก 5 ปี ซึ่งอยู่ระหว่างตำแหน่งที่ 2.5^{th} ถึง 97.5^{th} percentiles มีช่วงเทียบได้เท่ากับค่าที่คำนวณโดยวิธี gaussian ที่คิดค่า 95% ของข้อมูล ซึ่งรวมค่าที่อยู่ระหว่าง mean $\pm$ 2SD[17] อีกประการหนึ่งข้อมูลที่อยู่ระหว่างตำแหน่งที่ 0.5^{th} **ถึง 99.5^{th} percentiles หรือเทียบเท่ากับ mean** $\pm$ 3 SD หรือ 99% ของข้อมูล ก็ใช้เป็นค่าอ้างอิงของค่าวิเคราะห์สารเคมีในเลือดได้[17]

จากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นตามทฤษฎีการหา **ค่าอ้างอิงมีหลายองค์ประกอบ ตั้งแต่เกณฑ์การคัด** เลือกกลุ่มประชากรตัวแทน การแบ่งกลุ่มย่อยตามปัจจัยที่เป็นตัวแปรในบุคคลคนเดียวหรือต่างบุคคล การกำหนดมาตรการสำหรับเจาะเลือด การเก็บรักษาเลือด การเลือกเทคนิควิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ การที่จะได้ค่าอ้างอิงมาจึงต้องวางแผนอย่างรัดกุม และใช้เวลาเพื่อการดำเนินงาน ซึ่งบางห้องปฏิบัติการมีภาระในงานบริการมาก รวมทั้งการขาดเครื่องมือวิเคราะห์อัตโนมัติที่วิเคราะห์สารได้หลายอย่างพร้อมกันในซีรั่มตัวอย่าง จึงไม่อาจทำการศึกษาได้เอง จำเป็นต้องใช้ค่าอ้างอิงจากที่รายงานไว้ในหนังสือตำรา วารสารหรือคู่มือเอกสารของบริษัทผู้ผลิตน้ำยา

ถ้าใช้น้ำยาสำเร็จรูปเป็นวิธีวิเคราะห์

3.2 การกำหนดค่าบ่งชี้การเป็นโรค (predictive value)

ห้องปฏิบัติการหรือผู้วิเคราะห์ควรกำหนดช่วงค่าอ้างอิง ให้เป็นประโยชน์แก่แพทย์ในการแปลผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจากผู้ป่วย ค่าที่สำคัญคือค่าที่จะใช้แบ่งแยกระหว่างความปกติและความผิดปกติเพื่อการวินิจฉัยโรค คือค่า upper limit of normal, หรือ cut-off point หรือ critical value หรือ referent value หรือ discrimination value ในที่นี้จะเรียกว่าค่าบ่งชี้การเป็นโรค (predictive value)[18] ซึ่งจะกำหนดได้ด้วยการศึกษาค่าวิเคราะห์สารเคมีในกลุ่มตัวอย่างปกติ (health) และกลุ่มที่เป็นโรค (diseased states) การศึกษาค่าอ้างอิงในกลุ่มคนปกติอย่างเดียวไม่อาจนำมากำหนดค่าบ่งชี้การเป็นโรคได้ เพราะโดยธรรมชาติผลการวิเคราะห์สารเคมีในกลุ่มตัวอย่างปกติและกลุ่มที่เป็นโรค มีการกระจายตัวที่ซ้ำซ้อนกัน[18] กรณีที่การวิเคราะห์สารเคมีให้ผลบวกปลอม (false positive) แพทย์จะสับสนในการแปลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคหรือบอกภาวะเสี่ยงต่อโรค (health-risk states) ทั้งนี้เพราะว่ามีปัจจัยที่ส่งเสริมหรือเป็นตัวแปรที่ทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดปกติโดยที่ไม่มีพยาธิสภาพหรือผลบวกปลอม เช่นความแตกต่างทางพันธุกรรม สรีรวิทยา สารรบกวนทั้งทางเมตาบอลิสัมในร่างกาย และทางเทคนิควิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เทคนิคการเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย วิธีการนำส่ง วิธีการเก็บรักษา ความแม่นยำและเที่ยงตรงของเทคนิควิเคราะห์การกำหนดค่า cut-off point ของผลการตรวจสารเคมีในห้องปฏิบัติการเพื่อประโยชน์ในการแสดงการเป็นโรคนั้น ต้องใช้ predictive value model ได้แก่การพิจารณาค่า clinical sensitivity, clinical specificity predictive value และ efficiency ของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งความหมายและวิธีคำนวณได้กล่าวรายละเอียดไว้แล้ว[19] การศึกษาแบบนี้ยังไม่ได้ใช้กันแพร่หลายในวงการแพทย์ของประเทศไทย ถ้าจะศึกษาต้องตั้งเกณฑ์สำหรับการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคที่ต้องการวินิจฉัย ผู้ป่วยโดยโรคอื่น และนำค่าอ้างอิงที่หามาโดยวิธีการที่ถูกต้องมาประเมินผลด้วย

การใช้ค่าอ้างอิงเป็นค่าตัดสินแต่อย่างเดียว ทำให้เหมือนว่าพิจารณาแต่เฉพาะความสามารถด้าน specificity ในการวินิจฉัยโรคเท่านั้น หรือค่าวิเคราะห์ที่ให้ผลปกติในคนสุขภาพปกติ โดยไม่นำคุณสมบัติด้าน sensitivity หรือค่าวิเคราะห์ที่ให้ผลผิดปกติในผู้ป่วยที่เป็นโรคมาพิจารณา ซึ่งคุณสมบัติทั้งสองนี้จะเพิ่มหรือลดในทางตรงกันข้าม ดังนั้นค่าวิเคราะห์สารเคมีหรือการทดสอบทางห้องปฏิบัติการทุกชนิดควรจะได้มีการประเมินผลโดยการใช้ predictive value model ตัวอย่างเช่น การตรวจหาปริมาณยูเรีย ไนโตรเจน เป็นดัชนีบ่งชี้ที่ไว้สำหรับการตรวจหน้าที่ไต (sensitivity) แต่คุณสมบัติด้าน specificity มีน้อยกว่าและโรคไตพบได้บ่อยในคนอายุมาก ดังนั้น Galen[17] ได้กำหนดค่าอ้างอิงระหว่าง 2.5 ถึง 97.5% ในคนอายุน้อยกว่า 65 ปีลงไป แต่เมื่ออายุเกิน 65 ปี ขึ้นไปใช้ค่าอ้างอิงระหว่าง 2.5 ถึง 95.0% คือเพิ่มคุณสมบัติด้าน clinical sensitivity ขึ้นอีก

สรุป

รายงานการศึกษาที่กล่าวมาแล้วแสดงว่าปัจจัยของแต่ละบุคคลมีผลทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงในค่าวิเคราะห์ด้วย โดยเฉพาะการเตรียมผู้ถูกทดลองก่อนเจาะเลือด (preparation of subjects) ถ้าได้มีการควบคุมหรือวางเกณฑ์เพื่อการเจาะเลือดให้เหมือนกันก็จะเป็นการลดความแปรปรวนของค่าวิเคราะห์ได้ ทำให้ผลการวิเคราะห์ค่าอ้างอิงจากห้องปฏิบัติการมีคุณค่าในการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วย สิ่งที่บุคลากรทางการแพทย์ควรควบคุม

ก่อนเจาะเลือดผู้ถูกทดลองหรือผู้ป่วย ได้แก่ อาหาร การออกกำลังกาย อริยาบทขณะเจาะเลือด การใช้สายยางรัดบริเวณที่เจาะเลือดรวมทั้งเวลาของวันเพื่อเจาะเลือด นอกจากนี้เมื่อได้รับตัวอย่างแล้ว ผู้วิเคราะห์ยังต้องควบคุมความแปรปรวนเกี่ยวกับการปั่นแยก การเก็บรักษาซีรั่มหรือพลาสมาก่อนการวิเคราะห์ด้วย เพราะมีผลทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของค่าวิเคราะห์ นอกจากนั้นระดับสารเคมีหลายชนิดในซีรั่มคนปกติ เปลี่ยนแปลงตามอายุและเพศ การเลือกกลุ่มประชากรจึงมีความสำคัญต่อการกำหนดค่าอ้างอิงปกติ

อ้างอิง

1. Gräsbeck R, Saris NE. Establishment and use of normal values. Scand J Clin Lab Invest 1969; 24 Suppl. 110 : 62-63
2. Gräsbeck R. Type of reference groups. Scand J Clin Lab Invest. 1972; 29 Supple 126 : 19.2
3. Sunderman FW Jr. Current concepts of "normal values", "reference values", and "discrimination values" in clinical chemistry. Clin Chem 1975 Dec; 21 (13) : 1873-1877
4. Wilding P, Bailey A. The normal range. In: William DL, Nunn RF, Marks V, eds. Scientific Foundations of Clinical Biochemistry. Vol I. Analytical Aspects. London : William Heinemann Medical Books, 1978. 451-459
5. Rosenthal RW, Blackburn A. High copper concentrations in serum than in plasma. Clin Chem 1974 Sep; 20 (9) : 1233-1234
6. Giegel JL. Stability of triglycerides in serum (letter to editor). Clin Chem 1974 Ju-; 20 (7) : 920
7. Juel R, Curry SN. Stability of gamma glutamyltransferase in serum. (letter to editor). Clin Chem 1974 Jul, 20 (7) : 914-915
8. Haymond RE, Knight JA. Venous serum, capillary serum, and capillary plasma compared for use in determination of lactate dehydrogenase and aspartate aminotransferase activities. Clin Chem 1975 Jul; 21 (7) : 896-897
9. Statland BE, Bokelund H, Winkel P. Factors contributing to intraindividual variation of serum constituents : 4. Effects of posture and tourniquet application on variation of serum constituents in healthy subjects. Clin Chem 1974 Dec; 20 (12) : 1513-1519
10. Winkel P, Statland BE, Bokelund H. Factors contributing to intraindividual variation of serum constituents : 5 short-term day-to-day and within-hour variation of serum constituents in healthy subjects. Clin Chem 1974 Dec; 20 (12) : 1520-1527
11. Gomez P Coca C, Vargas C, Acebillo J, Martinez A. Normal reference-intervals for 20 biochemical variables in healthy infants, children, and adolescents. Clin Chem 1984 Mar; 30 (3) : 407-412
12. McPhersom K, Healy MJR, Flynn FV, Piper KAJ, Garcia-Webb P. The effect of age, sex and other factors on blood chemistry in health. Clin Chem Acta 1978 Mar; 84 (3) : 373-397
13. Alvarez C, Orejas A, Gonzalez S, Diaz R, Colomo LF. Reference intervals for serum lipids, lipoproteins and apoproteins in the elderly. Chin Chem 1984 Mar; 30 (3) : 404-406
14. Viriyayudhakorn S, Mitarnun W, Pornpakul M, Jenjarsonthum R, Khoprasert B, Ruangrairatanaroje P, Musigavon P, Tiewpiyakul N,

Keowharnkar W. Reference intervals of twenty-one biochemical constituents of the population in Southern Thailand. J Med Assoc Thai 1983 Oct; 66 (10) : 579-589

15. Mainland D. Remarks on clinical "Norms". Clin Chem 1971 Apr; 17 (4) : 267-274
16. Massod MF. Nonparametric percentile estimate of clinical normal ranges. Am J Med Technol 1977 Mar; 43 (3) : 243-252
17. Galen RS. The normal range : a concept in transition. Arch Pathol Lab Med 1977 Nor; 101 (11) : 561-565
18. Mass D, Galen RS. The predictive value theory, redefines quality assurance. Am J Med Technol 1981 Dec; 47 (12) : 965-970
19. สมพงษ์ จินายน. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยโรคอย่างมีคุณประโยชน์. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2528 มิถุนายน ; 29(6) 727-734

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 4 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2529