

RESEARCH ARTICLE

Effect of Storage Time and Temperature on Alanine Aminotransferase Concentrations in Canine Serum

Arayaporn Macotpet¹, Sirikajon Tunkawatana², Aekachai Patarapanwichien²,
Karuna Kantaramongkol³, Thana Wichachai³

Abstract

Objective — To study the effect of storage time and temperature of sera on alanine aminotransferase (ALT) concentration in 4 dogs.

Materials and Methods — Blood samples were collected from 4 dogs, then centrifuged at 2,000xg for 10 minutes. Serum in each dog was then divided into two equal portions. One was kept at room temperature (25°C), and the other was kept in refrigerator (4°C). ALT was measured at 1, 24, 48, and 72 hours after collection. Random effect ANOVA was used for analysis to compare the mean ALT concentrations between temperature groups and time groups.

Results — There was no significant difference in alanine aminotransferase concentrations between 4°C and 25°C at 1, 24, 48, and 72 hours after collection. At the same storage temperature, alanine aminotransferase concentrations were significantly different between the serum stored for 1 hour and that for 24 or 48 hours ($p < 0.05$). However, The 24 and 48 hours of storage are not different. Alanine aminotransferase concentrations at 24 and 48 hours of storage were significantly different from those of 72 hours.

Conclusion — Although the statistical differences were found, the value differences were small and had no clinical significance. Therefore, storage of serum samples for alanine aminotransferase measurement at room temperature or refrigerator temperature is acceptable for up to 72 hours.

KKU Vet J. 2008;18(2):131-139

<http://vet.kku.ac.th/journal/>

Keywords: Alanine Aminotransferase; Dogs; Time; Temperature

¹ Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand, 40002.

² Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand, 40002.

³ Thana Animal Clinic, Kalasin, Thailand, 46000.

* **Corresponding author** E-mail: ekkpat@kku.ac.th

ผลของเวลาและอุณหภูมิในการเก็บชีร่่มของสุนัข ต่อค่าเอนไซม์อลานีน อมิโนทรานสเฟอเรส

อารยาพร มคชเพศ¹, สิริขจร ดังควัฒนา², เอกชัย ภัทรพันธ์วิเชียร², กรุณา กันทรมงคล³, ธนา วิชาชัย³

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลกระทบของเวลาและอุณหภูมิในการเก็บชีร่่มของสุนัข ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ อลานีนอามิโนทรานสเฟอเรส (เอแอลที)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ เก็บตัวอย่างเลือดจากสุนัขเพศผู้ จำนวน 4 ตัว แล้วนำมาปั่นตกตะกอนแยกชีร่่มในอัตราเร็ว 2,000 xg นาน 10 นาที นำชีร่่มแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ส่วนที่สองนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปตรวจวัดค่าเอนไซม์เอแอลที ภายหลังจากการเก็บเลือดที่เวลา 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นำค่าเฉลี่ยของเอนไซม์เอแอลทีที่ได้ มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Random effect ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเอนไซม์เอแอลที ตามระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้เก็บชีร่่ม

ผลการศึกษา ชีร่่มที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อทำการตรวจวัดค่าเอนไซม์จากชีร่่มในชั่วโมงที่ 1, 24, 48 และ 72 ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิที่ใช้เก็บชีร่่ม เมื่อวัดในระยะเวลาเดียวกัน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบเวลาที่ต่างกันพบว่า ชีร่่มที่ทำการตรวจวัดภายหลังจากการเก็บชีร่่ม 1 ชั่วโมง จะแตกต่างจากการเก็บที่ 24 และ 48 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่การเก็บที่ 24 และ 48 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างกัน และค่าของเอนไซม์อลานีนอามิโนทรานสเฟอเรส จากการเก็บที่ 24 และ 48 ชั่วโมง จะแตกต่างจากการเก็บที่ 72 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งการเก็บชีร่่มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น

ข้อสรุป แม้ว่าค่าเอนไซม์ดังกล่าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าเอนไซม์ที่วัดได้จากการทดลองมีความแตกต่างกันน้อยมาก และไม่มีผลต่อการแปลค่าทางคลินิก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการเก็บตัวอย่างชีร่่มของสุนัขสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิตู้เย็น โดยเก็บไว้ในระยะเวลาไม่เกิน 3 วันได้

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2551;18(2):131-139

<http://vet.kku.ac.th/journal/>

คำสำคัญ: อลานีนอามิโนทรานสเฟอเรส สุนัข เวลา อุณหภูมิ

¹ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ คลินิกชนาภิบาลสัตว์ อ.เมือง จ.กาฬสินธุ์

* ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ E-mail: ekkpat@kku.ac.th

บทนำ

อลานีนอามิโนทรานสเฟอเรส (alanine aminotransferase; ALT) หรือกลูตาเมตไพรูเวตทรานสมีเนส (glutamate pyruvate transaminase; GPT) เป็นเอนไซม์ที่พบมากในเซลล์ตับ นิยมใช้เป็นตัวบ่งชี้ภาวะการทำงานหรือความเสียหายของเซลล์ตับ [2] ทั้งนี้โดยการตรวจวัดจากซีรัม ควรตรวจวัดทันทีภายหลังจากแยกซีรัม ก่อนที่ค่าเอนไซม์เอแอลทีจะเกิดการเปลี่ยนแปลง [3] เอนไซม์ เอแอลทีมีอยู่ในเซลล์ตับ กล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อลาย และตับอ่อน [4] โดยระดับของเอนไซม์เอแอลทีที่มีในเนื้อเยื่อต่างๆ มีดังนี้คือ ตับ 32 ใอยูต่อกรัม หัวใจ 8.7 ใอยูต่อกรัม กล้ามเนื้อ 1.8 ใอยูต่อกรัม ไต 2.9 ใอยูต่อกรัม ลำไส้ 0.4 ใอยูต่อกรัม และตับอ่อน 1.5 ใอยูต่อกรัม [5] ซึ่งพบว่าเอนไซม์เอแอลทีมีความเข้มข้นสูงสุดในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ ดังนั้นจึงเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อตับ และนิยมตรวจวัดระดับเอนไซม์เอแอลที เพื่อบ่งชี้ว่าเซลล์ตับเกิดความเสียหายหรือไม่ [2] นอกจากนี้ยังพบว่าค่าเอนไซม์เอแอลทีในเซลล์มีค่าสูงกว่าในซีรัมปกติถึง 10,000 เท่า [6] โดยพบว่าระดับของเอนไซม์เอแอลทีที่สูงขึ้นมากในกรณีที่เกิดความเสียหายของเซลล์ตับ โดยเฉพาะกรณีตับอักเสบเฉียบพลัน มากกว่าการอุดตันของท่อน้ำดีภายในหรือภายนอกเหนือตับ ระดับเอนไซม์เอแอลทีที่สูงขึ้นชัดเจนกว่าและยังคงอยู่สูงนานกว่าเอนไซม์แอสพาเทต อามิโนทรานสเฟอเรส (aspartate aminotransferase; AST) ซึ่งเป็นทรานสมีเนส (transaminase) อีกชนิดหนึ่งในเซลล์ตับ [7] ซึ่งมีความเข้มข้นสูงสุดในเนื้อเยื่อตับ กล้ามเนื้อลาย และกล้ามเนื้อหัวใจ [2] นอกจากการเสียหายของเซลล์ตับจะทำให้ค่าเอนไซม์เอแอลทีสูงขึ้นในซีรัมแล้ว ยังอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงความ สามารถในการเลือกซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ และ/หรือการเปลี่ยนแปลงของเมตาบอลิซึมของเซลล์ [6] เนื่องจากค่าครึ่งชีวิตของเอนไซม์เอแอลทีในซีรัมเท่ากับ 2.5 วัน ซึ่งมากกว่าเอนไซม์เอเอสที ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 22 ชั่วโมง [8] ส่วนอีกรายงานหนึ่งกล่าวว่าค่าครึ่งชีวิตของเอนไซม์เอแอลทีมีค่าระหว่าง 3 ชั่วโมง - 4 วัน [6] ในกรณีที่เซลล์ตับเสียหาย การตรวจเอนไซม์เอแอลทีจากไซโตซอล (cytosol) จะตรวจพบได้ง่ายกว่าเอนไซม์เอเอสทีซึ่งอยู่ในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) กรณีการตรวจภาวะโรคตับในสุนัข การตรวจวัดระดับเอนไซม์เอเอสทีที่มีความไวมากกว่า แต่มีความจำเพาะน้อยกว่าการตรวจวัดระดับเอนไซม์เอแอลที [9] ดังนั้นในการตรวจวัดเอนไซม์เพื่อประเมินความเสียหายของเซลล์ตับ จึงควรวัดค่าเอนไซม์เอแอลทีควบคู่กับค่าเอนไซม์เอเอสที และ ครีเอทีน ไคเนส (creatin kinase) เพื่อช่วยในการแปลผลความผิดปกติที่เกิดขึ้น [10, 11]

ดังนั้นเมื่อมีความผิดปกติของเซลล์ตับ เช่น การตายเฉพาะส่วนของตับ (hepatic necrosis) เนื้องอกตับ (hepatic neoplasm) ตับอักเสบ (hepatitis) ฯลฯ จะทำให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อของตับเสื่อมสลาย และปล่อยเอนไซม์ออกมา ทำให้ระดับของเอนไซม์เอแอลทีในซีรัมหรือพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น และโดยทั่วไประดับเอนไซม์เอแอลทีที่สูงขึ้น มักมีความสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ตับที่เกิดความเสียหาย [11] นอกจากนี้ยังพบว่าภายในเม็ดเลือดแดงและกล้ามเนื้อโครงร่าง จะมีเอนไซม์เอแอลทีในระดับต่ำ ดังนั้นถ้ามีการแตกของเม็ดเลือดแดงหรือมีการเสียหายของกล้ามเนื้อ อาจทำให้ค่าเอนไซม์เอแอลทีสูงขึ้นกว่าปกติได้ [12] ส่วนค่าเอนไซม์เอแอลทีที่ต่ำกว่าระดับปกติ จะไม่มีนัยสำคัญทางคลินิก [13]

จากการที่ค่าเอนไซม์เอแอลที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ หากไม่ได้ตรวจทันทีภายหลังจากเก็บซีรัม จึงมีการแนะนำให้ตรวจทันทีภายหลังจากเก็บซีรัม แต่ในบางครั้งห้องปฏิบัติการหรืออุปกรณ์อาจไม่พร้อมสำหรับการตรวจวัดได้ในทันที หรือมีความจำเป็นต้องเก็บซีรัมไว้เป็นระยะเวลาต่างๆ จากปัญหาดังกล่าวจึงเป็นที่มาของการศึกษาว่าซีรัมที่จะทำการตรวจวัดควรมีวิธีการเก็บอย่างไร หรือเก็บได้นานเท่าใด โดยไม่ทำให้ค่าของเอนไซม์เอแอลที่เปลี่ยนแปลงผิดไปจากความเป็นจริง

การทดลองนี้จึงได้ศึกษาความแตกต่างของเอนไซม์เอแอลที่ในซีรัมที่เก็บ ณ อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) รวมทั้งระยะเวลาที่เก็บรักษาต่างๆ กัน เพื่อพิจารณาว่าอุณหภูมิใดเหมาะสมในการเก็บซีรัม รวมทั้งเวลาในการเก็บซีรัมที่จะไม่ทำให้ค่าของเอนไซม์เอแอลที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อไม่สามารถตรวจค่าเอนไซม์จากซีรัมได้ในทันที

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

สัตว์ทดลองและวิธีการเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากหลอดเลือดดำในส่วนของขาหน้า (cephalic vein) จากสุนัขพันธุ์ผสม เพศผู้ อายุระหว่าง 1-2 ปี จำนวน 4 ตัว จำนวนตัวละ 15 มิลลิลิตร ซึ่งสุนัขดังกล่าวเป็นสุนัขที่เลี้ยงอยู่รวมกันภายในบ้านพัก และได้รับการตรวจร่างกายเบื้องต้นก่อนที่จะทำการเก็บเลือด โดยพบว่าไม่มีร่างกายแข็งแรงดี รวมทั้งไม่มีประวัติของการเจ็บป่วยใดๆ ในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา ซึ่งการเจาะเก็บเลือดสุนัขดังกล่าว ได้ปฏิบัติตามแนวทางการใช้สัตว์เพื่อการทดลอง สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

การตรวจวัดค่าเอนไซม์เอแอลที

จากนั้นนำมาใส่ไว้ในหลอดทดลองที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นตกตะกอน ด้วยอัตราเร็ว 2,000xg เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกซีรัม จากนั้นนำซีรัมที่ได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน แต่ละส่วนจะแบ่งใส่หลอดทดลองจำนวน 4 หลอด ในส่วนแรกจะตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และส่วนที่ 2 นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปตรวจวัดค่าเอนไซม์เอแอลที โดยใช้เครื่องตรวจค่าเคมีเลือดอัตโนมัติ (Hycel[®] LISA-BIO, Belgium) บันทึกค่าเอนไซม์ที่ได้ของสุนัขทั้ง 4 ตัว

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้วิธี Random Effect ANOVA เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเอนไซม์ตามระยะเวลา และอุณหภูมิที่ใช้เก็บซีรัม โดยให้สุนัขทั้ง 4 ตัวเป็นปัจจัยสุ่ม (random factor) เพื่อควบคุมผลที่เกิดจากการทำการวัดซ้ำๆ (repeated measures) ในตัวอย่างจากสุนัขแต่ละตัว

ผลการศึกษา

เมื่อนำผลของค่าเอนไซม์เอแอลที่ที่ตรวจวัดได้ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (Table 1) พบว่าไม่มี ความแตกต่างกันของค่าเอนไซม์เอแอลที่ของซีรัมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อเทียบจากการเก็บในเวลาเดียวกัน ทำให้สรุปได้ว่าอุณหภูมิระหว่างอุณหภูมิตู้เย็นและอุณหภูมิห้อง ไม่มีผลต่อการตรวจค่าเอนไซม์ ภายในเวลา 3 วัน ที่ได้ทำการทดลอง

ส่วนเวลาจะมีผลทำให้ค่าเอนไซม์เอแอลที่แตกต่างกันทั้งสองอุณหภูมิ คือ ซีรัมที่ตรวจวัด ภายหลังจากการเก็บซีรัม 1 ชั่วโมง จะแตกต่างจากการเก็บที่ 24 และ 48 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ แต่การเก็บที่ 24 และ 48 ชั่วโมงจะไม่มี ความแตกต่างกัน และการเก็บที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ค่าเอนไซม์เอแอลที่ที่ได้จะต่างจากการเก็บที่ 72 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่าเมื่อเวลาของการ เก็บซีรัมมากขึ้นจะทำให้ค่าของเอนไซม์ลดลง โดยเริ่มตั้งแต่ 1 วันแรกที่ทำกรเก็บซีรัมทั้งอุณหภูมิ ห้องและอุณหภูมิตู้เย็น

Table 1. Effects of storage time and temperature on alanine aminotransferase concentration in canine serum. When levels of the enzyme in canine serum were compared at the same storage time, there was not significantly different between the levels of the enzyme at refrigerature temperature (4°C) and those at room temperature (25°C). Within "Time" column, ^{a, b, c} different superscripts in each cell indicated a significant difference at $p < 0.05$.

Time (hours)	Temperature (°C)	N	Mean + SD (IU/L)
1 ^a	4	4	18.75 ± 3.77
1 ^a	25	4	18.50 ± 3.31
24 ^b	4	4	17.75 ± 4.50
24 ^b	25	4	16.75 ± 3.86
48 ^b	4	4	17.75 ± 4.50
48 ^b	25	4	16.50 ± 3.10
72 ^c	4	4	16.50 ± 4.04
72 ^c	25	4	15.75 ± 3.77

วิจารณ์

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง พบว่าซีรัมที่จะใช้ในการตรวจวัดเอนไซม์ จะสามารถเก็บที่ อุณหภูมิใดก็ได้ระหว่างอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) โดยไม่ได้ทำให้ค่า

เปลี่ยนแปลงมากจนมีผลต่อการวินิจฉัยโรค แต่ความเป็นจริงแล้วการทำงานของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นหนึ่งเท่าตัว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส จะทำให้เอนไซม์ทำงานเร็วขึ้น แต่ก็มีผลทำให้เสื่อมสภาพ (denature) ได้เร็วขึ้นด้วย ดังนั้นผู้วิจัยแนะนำว่าควรเก็บซีรัมในตู้เย็นหรือแช่ในน้ำแข็ง จะเหมาะสมกว่า เพื่อชะลอการทำงานของเอนไซม์และยืดอายุของเอนไซม์ในซีรัมให้ยาวนานขึ้น

ส่วนเวลาในการเก็บซีรัมทั้งสองอุณหภูมิ ไม่ควรจะเก็บนานเกิน 24 ชั่วโมง เพราะเป็นช่วงที่ น่าจะให้ผลถูกต้องมากที่สุด แต่ที่ 24-72 ชั่วโมง ค่าของเอนไซม์ก็ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แม้ว่าการวิเคราะห์สถิติพบว่าค่าเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และสาเหตุที่ค่าเอนไซม์ลดลงเนื่องจากระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างซีรัมมีผลต่อเสถียรภาพของเอนไซม์เอแอลที [14, 15] นอกจากนี้มีรายงาน ว่าสามารถเก็บซีรัมหรือพลาสมาสำหรับตรวจเอแอลทีในตู้เย็นได้นาน 24 ชั่วโมง เก็บที่ 68 องศาฟาเรนไฮต์ (20 องศาเซลเซียส) ได้นาน 2 วัน หรือเก็บที่อุณหภูมิระหว่าง 32-39 องศาฟาเรนไฮต์ (0-3.89 องศาเซลเซียส) ได้นาน 1 สัปดาห์ แต่ไม่ควรเก็บซีรัมหรือพลาสมาในอุณหภูมิเยือกแข็ง [4] ส่วนอีกรายงานหนึ่งแนะนำว่าควรเก็บซีรัมไว้ที่ 22 องศาเซลเซียส ได้ไม่เกิน 1 วัน และที่ 4 องศาเซลเซียส ได้ไม่เกิน 7 วัน ทั้งนี้เพื่อให้ค่าเอนไซม์เอแอลทีมีเสถียรภาพมากที่สุด [16] เอนไซม์ในซีรัมจะ เสถียรภาพได้นานหลายวัน ถ้าไม่ได้สัมผัสความร้อนที่สูงเกินไปจากการทดลองนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ แน่หนอนว่า อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิตู้เย็นสามารถเก็บซีรัมของสุนัขเพื่อตรวจเอนไซม์เอแอลทีได้นาน ที่สุดเท่าใด เนื่องจากระยะเวลาการทดลองสั้นไป หรืออาจเป็นเพราะค่าครึ่งชีวิตของเอนไซม์เอแอลที อยู่ในช่วง 2-3 วัน [6]

อีกทั้งได้มีศึกษาการตรวจค่าเอนไซม์เอแอลทีในเลือด ระหว่างอุณหภูมิ 4 และ 24 องศาเซลเซียส พบว่าสุนัขจำนวน 8 ตัว ใน 24 ตัว ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามการเก็บ ตัวอย่างเพื่อตรวจเอนไซม์เอแอลที ควรเก็บในรูปแบบของซีรัมหรือพลาสมา ซึ่งจะมีการเสถียรภาพ ของเอนไซม์เอแอลทีดีกว่าการเก็บเลือดที่ไม่ได้แยกพลาสมาหรือซีรัมออก [14]

ส่วนการศึกษาในคนพบว่า ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บซีรัมเพื่อตรวจ เอนไซม์เอแอลทีได้นาน 2 วัน ส่วนที่อุณหภูมิตู้เย็น (0-4 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บได้นาน 5 วัน แต่ไม่แนะนำให้ทำการแช่แข็งซีรัมที่จะเก็บไว้ตรวจหาเอนไซม์เอแอลที เนื่องจากเอนไซม์ เอแอลที จะไม่สามารถทนต่อการละลายภายหลังจากการแช่แข็งได้ [17] และพบว่าเอนไซม์จะคงสภาพในซีรัม ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 3 วัน [1] และที่อุณหภูมิห้องสามารถเก็บซีรัมได้นาน 48 ชั่วโมง และที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 1 สัปดาห์ [7] และมีการศึกษาเกี่ยวกับการเก็บพลาสมา พบว่า เมื่อเก็บพลาสมาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จะมีค่าเอนไซม์เอแอลทีเปลี่ยนแปลง (ทั้งเพิ่มขึ้น และลดลง) ไม่เกินร้อยละ 4 แต่ถ้าเก็บพลาสมาไว้ที่ 4 และ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะมีค่าเอนไซม์เอแอลทีเปลี่ยนแปลงไม่เกินร้อยละ 2 [18]

การตรวจหาเอนไซม์เอแอลทีไม่นิยมใช้พลาสมาในการตรวจวัด เนื่องจากสารกันเลือดแข็ง อาจจะมีผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ [17] และไม่ควรเก็บเลือดนานโดยไม่ปั่นแยกซีรัมก่อน ซึ่งการ ทำงานของเอนไซม์อาจเปลี่ยนแปลงได้ เนื่องจากเอนไซม์อาจแพร่ออกนอกเซลล์หรือเมตาบอลิสม มีการเปลี่ยนแปลงไป

ในขั้นตอนของการทดลองจะมีการปั่นตกตะกอนภายหลังแยกซีรัมออกมาได้ ก็เพื่อขจัดเม็ดเลือดแดงที่หลงเหลืออยู่ในซีรัม ซึ่งจะทำให้ค่าเอนไซม์ที่ได้ผิดไปจากความเป็นจริง เนื่องจากเอนไซม์เอแอลทีจะพบในเม็ดเลือดแดงด้วย ซึ่งการที่มีเม็ดเลือดแดงในซีรัมจะทำให้ค่าของเอนไซม์เอแอลทีเพิ่มขึ้น 5-8 เท่าได้ [19] เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาดังกล่าว จึงได้ปั่นตกตะกอนเม็ดเลือดแดงที่หลงเหลืออยู่ก่อนที่ที่จะนำซีรัมไปทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป และซีรัมควรปราศจากการสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ซึ่งอาจมีผลทำให้ค่าเอนไซม์เอแอลทีเปลี่ยนแปลงได้ [20] และควรจะแยกจากก้อนเลือดใน 2 ชั่วโมง หรือในทันทีที่เลือดเกิดการแข็งตัว เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงของค่าเอนไซม์ในเลือด [21] นอกจากนี้ไม่ควรตรวจวัดค่าเอนไซม์เอแอลทีในรายที่เกิดภาวะเลือดมีไขมัน (lipemia) และมีการสลายของเม็ดเลือดแดง เนื่องจากภาวะเลือดมีไขมันและการสลายของเม็ดเลือดแดงนั้นจะมีผลทำให้ค่าเอนไซม์เอแอลทีสูงขึ้นได้ ดังนั้นจึงควรอดอาหารสุนัขก่อนเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจเอนไซม์เอแอลที เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง เนื่องจากภาวะเลือดมีไขมันจะเกิดขึ้นภายหลังการกินอาหารประมาณ 4-6 ชั่วโมง [12] ส่วนการเกิดภาวะดีซ่านจะไม่มีผลต่อค่าเอนไซม์เอแอลที [22]

การทดลองนี้จะเลือกสุนัขที่อายุ 1 ปีขึ้นไป เนื่องจากเป็นอายุที่ตับเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ซึ่งถ้าเลือกสุนัขที่ตับยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่อาจมีผลต่อค่าเอนไซม์ที่จะนำไปสู่การแปรผลที่ผิดพลาดได้

นอกจากนี้ค่าเอนไซม์เอแอลทีที่ได้ในจากการตรวจที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกันจากการทดลองดังกล่าว เมื่อนำมาพิจารณาในทางคลินิก เพื่อแปลผลว่าค่าเอนไซม์ดังกล่าวสามารถทำให้การวินิจฉัยโรคผิดพลาดได้หรือไม่ พบว่าค่าเอนไซม์เอแอลทีที่ได้จากการทดลองทั้งหมดยังอยู่ใน ช่วงของค่าปกติในสุนัข ซึ่งหากพิจารณาในทางคลินิกอาจพบว่ายังไม่มีผลกระทบต่อการวินิจฉัย โรค ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมต่อไปว่าหากทำการทดลองโดยการเก็บซีรัมของสุนัขที่มีค่าเอนไซม์เอแอลทีสูงกว่าค่าปกติที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิต่ำเย็น ในระยะเวลาที่แตกต่างกันนั้น ค่าของเอนไซม์เอแอลทีจะเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่อย่างไร และมีผลทำให้การวินิจฉัยโรคคลาดเคลื่อนได้หรือไม่ รวมทั้งในทางสัตวแพทย์นั้น ยังมีข้อมูลน้อยมากที่ตีพิมพ์เกี่ยวกับความเสถียรภาพของเลือด และค่าซีรัมเคมีต่างๆ ในเลือด [21]

การตรวจค่าเอนไซม์เอนไซม์เอแอลที ควรพิจารณาตรวจจากซีรัมที่ไม่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง และไม่เกิดภาวะเลือดมีไขมัน รวมทั้งควรส่งซีรัมตรวจให้เร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ เพื่อไม่ให้ค่าเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปจากความเป็นจริง แต่ถ้าไม่สามารถตรวจได้ในทันที ควรจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิที่เย็นที่สุดที่ไม่ทำให้เกิดการแข็งตัวของซีรัม เพื่อให้อุณหภูมิชะลอการเสื่อมสภาพของเอนไซม์โดยสามารถเก็บไว้ได้นาน 3 วัน

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาในครั้งนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากคณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ขวัญเกศ กนิษฐานนท์ ที่ช่วยให้คำปรึกษา การเขียนรายงานการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. วิบูล วีรานุกัตต์ และ กนกนาค ชูปัญญา. เคมีคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: กรุงเทพฯเวชสาร; 2525.
2. Cooper J, Webster CRL. The diagnostic approach to a symptomatic dogs with elevated liver enzyme activities. *Vet Med*. 2006;101(5):279-287.
3. Sirois M. Clinical chemistry and serology. In: Sirois M, ed. Principles and Practice of Veterinary Technology. 2nd ed. Missouri: Mosby; 2004. p. 227-247.
4. Jack CM, Watson PM, Donovan MS. *Veterinary Technicians Daily Reference Guide: Canine and Feline*. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
5. Meyer DJ, Coles EH, Rich LJ. *Veterinary Laboratory Medicine (interpretation & diagnostic)*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1992.
6. Hall EJ, German AJ. Laboratory evaluation of hepatic disease. In: Villievs E, Blackword L, eds. *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. 2nd ed. Gloucester: BSAVA; 2005. p. 184-206.
7. Bishop ML, Duben-Von Laufen JL, Fody EP. *Clinical Chemistry*. 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott company; 1992.
8. Center SA, Slater MR, Manwarren T, Prymak K. Diagnostic efficacy of serum alkaline phosphatase and gamma-glutamyltransferase in dogs with histologically confirmed hepatobiliary disease: 270 cases (1980-1990). *J Am Vet Med Assoc*. 1992;201(8):1258-1264.
9. GeigerTL, Hosgoog G, Taboada J, Wolfsheimer KJ, Mueller PB. Thyroid function and serum hepatic enzyme activity in dogs after Phenobarbital administration. *J Vet Intern Med*. 2000;14(3):277-281.
10. Duncan J. Clinical Biochemistry. In: Davidson MG, Else RW, Lumsden JH, eds. *BSAVA Manual of Small Animal Clinical Pathology*. Cheltenham: BSAVA; 1998. p. 61-85.
11. Johnson SE, Sherding RG. Diseases of the liver and biliary tract. In: Birchard SJ, Sherding RG, eds. *Saunders Manual of Small Animal Practice*. 3rd ed. Missouri: Saunders; 2006. p. 747-809.
12. Roth-Johnson L. Laboratory Test. In: Cote E, ed. *Clinical Veterinary Advisor; Dogs and Cats*. Missouri: Mosby; 2007. p. 1426-1427.
13. Knottenbelt C. Practical laboratory techniques. In: Mullineaux E, Jones M, eds. *BSAVA Manual of Practical Veterinary Nursing*. Gloucester: BSAVA; 2007. p. 205-228.
14. Thoresen SI, Havre GN, Morberg H, Mowinckel P. Effects of storage time on chemistry: results from canine whole blood, heparinized whole blood, serum and heparinized plasma. *Vet Clin Path*. 1992;24(3):88-94.
15. Thoresen SI, Tverdal A, Havre GN, Morberg H. Effects of storage time and freezing temperature on chemical parameter from canine serum and heparinized plasma. *Vet Clin Path*. 1995;24(4):129-133.
16. Willard MD. Gastrointestinal, Pancreatic and hepatic disorders. In: Wilard MD, Tredten H, Turnwald GH. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1989. p. 189-228.
17. Kaplan LA, Pesce AJ. *Clinical Chemistry*. 2nd ed. St. Louis: Mosby; 1989.
18. Clark S, Youngman LD, Palmer A, Parish S, Peto R, Collins R. Stability of plasma analytes after delayed separation of whole blood: Implications for epidemiological studies. *Inter J Epidemiol*. 2003;32:125-130.

19. Calbreath DF. Clinical Chemistry. Philadelphia: W.B. Saunders; 1992.
20. Wilson DD. McGraw-Hill's Manual of Laboratory & Diagnostic tests. New York: McGraw-Hill Medical; 2008.
21. Ehsani A, Afshari A, Bahadori H, Mohri M, Seifi HA. Serum constituents analyses in dairy cow: Effects of duration and temperature of the storage of clotted blood. *Res Vet Sci.* 2008;85(3):473-475.
22. Archer J. Interpretation of laboratory data. In: Villievs E, Blackword L, editors. BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology. 2nd ed. Gloucester: BSAVA; 2005. p. 11-22.

