การประเมินเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเอวันซี อย่างง่าย ณ จุดดูแลผู้ป่วย เปรียบเทียบกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติการกลาง

นางสาวลาวัณย์ ปิยะสุวรรณยิ่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Evaluation of HbA1c Point of Care devices comparing with Central Laboratory analyzer

Miss Lawan Piyasuwanying

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medical Science
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเอวันซี อย่างง่าย ณ จุดดูแลผู้ป่วย เปรียบเทียบกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติการกลาง
โดย	นางสาวลาวัณย์ ปิยะสุวรรณยิ่ง
สาขาวิชา	
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.นริศร คงรัตนโชค
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิไล อโนมะศิริ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร.นริศร คงรัตนโชค)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์อมรพันธุ์ เสรีมาศพันธุ์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริสา เก่งตรง บดีรัฐ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ลาวัณย์ ปิยะสุวรรณยิ่ง : การประเมินเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเอวันซี อย่างง่าย ณ จุดดูแลผู้ป่วย เปรียบเทียบกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติการกลาง (Evaluation of HbA1c Point of Care devices comparing with Central Laboratory analyzer) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร.นริศร คงรัตนโชค, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. นพ.สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร, 57 หน้า.

ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างง่าย ณ จุดดูแลผู้ป่วย หรือ เครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างง่ายแบบ POC (Point of Care testing; POCT) ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจวัดค่าฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c) อย่างไรก็ตาม ค่า HbA1c ที่วัดได้อาจมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ หลักการตรวจวิเคราะห์ และ การรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ที่ใช้หลักการ Immunoassay (เครื่อง DCA Vantage และ เครื่อง Cobas b101) และ หลักการ boronate affinity (เครื่อง Quo-Test) โดยเปรียบเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติการกลางที่ใช้หลักการ enzymatic assay (เครื่อง Architect c8000) ผลการทดสอบพบว่าเครื่องวิเคราะห์แบบPOC ทั้งสามเครื่องผ่านการประเมินการทดสอบความแม่นยำ การทดสอบลิเนียลิตี้ และการทดสอบความถูกต้องตามเกณฑ์ของโครงการ NGSP เมื่อเปรียบเทียบค่าHbA1c ที่วัดได้ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ POC กับ เครื่อง Architect c8000 พบว่าเครื่อง DCA Vantage ให้ค่า HbA1cที่สอดคล้องและใกล้เคียงกับเครื่อง Architect c8000 มากที่สุด โดยมีค่า r เท่ากับ r = 0.991 และ Mean relative bias เท่ากับ 0.63% นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังได้ทดสอบผลกระทบของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆต่อการวัดค่า HbA1c ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผลการศึกษาพบว่าค่า HbA1c ที่วัดได้จากเครื่อง Cobas b101 มีค่าสูงปลอมในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Homozygous Hb E สำหรับความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิด Beta thalassemia/ Hb E จะรบกวนการวัดค่า HbA1c ด้วยเครื่อง Architect c8000 และ DCA Vantage ทำให้ได้ค่าต่ำปลอมในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานแต่ไม่พบการรบกวนในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน นอกจากนี้ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Homozygous Beta thalassemia จะให้ค่า HbA1c ที่สูงปลอมในทุกหลักการตรวจวิเคราะห์รวมทั้งในวิธีมาตรฐาน ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่มี Hb H จะให้ค่าต่ำปลอมเนื่องจากค่า HbA1c ที่ได้ไม่สอดคล้องกับระดับน้ำตาลในเลือดและอาการทางคลินิก สำหรับกลุ่มความผิดปกติชนิด Hb E trait, Beta thalassemia trait, Alpha thalassemia trait และ Hb E trait with Alpha thalassemia trait ไม่พบการรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c อย่างไรก็ตามแพทย์ควรระมัดระวังในการแปลผลค่า HbA1c ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน ทั้งนี้ควรมีการพิจารณาค่า cut off และ ค่าอ้างอิงสำหรับความผิดปกติแต่ละชนิดและเครื่องวิเคราะห์แต่ละเครื่องด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2560 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5774079930 : MAJOR MEDICAL SCIENCE
KEYWORDS: HBA1C LEVELS, POINT OF CARE DEVICES, POCT

LAWAN PIYASUWANYING: Evaluation of HbA1c Point of Care devices comparing with Central Laboratory analyzer. ADVISOR: NARISORN KONGRUTTANACHOK, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.SOMPONGSE SUWANWALAIKORN, M.D., 57 pp.

Point of care (POC) devices are widely utilized for measurement of Hemoglobin A1c (HbA1c). However, the difference of HbA1c level may result from analytical performance, method used and the interference of abnormal hemoglobin. This study aimed to evaluate analytical performance of three POC devices including Immunoassay (DCA Vantage and Cobas b101) and boronate affinity (Quo-Test) compared to Central laboratory analyzer using enzymatic assay (Architect c8000). All of three POC devices passed the criteria of precision study (CV < 4%), linearity study (R^2 ≥ 0.95) and accuracy study following NGSP criteria. However, The DCA Vantage showed strong correlation and very good agreement comparing to Architect c8000. (r = 0.991, Mean relative bias = 0.63%). In addition, the effect of abnormal hemoglobin on HbA1c measurement of all analyzers was examined both in Non DM and DM group. The Cobas b101 showed a falsely elevated HbA1c levels in patient with Homozygous Hb E. This study demonstrated the effect of Beta thalassemia/Hb E causing the false low of HbA1c levels using the Architect c8000 and DCA Vantage in DM group but not found in Non DM group. In addition, HbA1c levels of patients with Homozygous Beta thalassemia were falsely high in all methods including reference method (HPLC-ESI/MS) whereas HbA1c levels of patients with Hb H were falsely low because these levels were inconsistent with fasting plasma glucose and clinical symptom. In this study, there is no interference on HbA1c measurement in patients with Hb E trait, Beta thalassemia trait, Alpha thalassemia trait and Hb E trait with Alpha thalassemia trait. However, the clinician should be aware of HbA1c interpretation in patients with abnormal hemoglobin. The cut off and reference value of each abnormal hemoglobin and analyzer should be considered.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study: Medical Science
Academic Year: 2017

Student's Signature .....
Advisor's Signature .....
Co-Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.นริศร คงรัตนโชค อาจารย์ที่ปรึกษา และ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา และ ให้การช่วยเหลือในงานวิจัยรวมทั้งช่วยตรวจทานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วิไล อโนมะศิริ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์อมรพันธุ์ เสรีมาศพันธุ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นริสา เก่งตรง บดีรัฐ ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.พญ.ปราณี สุจริตจันทร์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และ พี่ๆน้องๆ เจ้าหน้าที่ทุกท่านในห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินในกลุ่มตัวอย่างที่ทดสอบในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ แพทย์ พยาบาล และ เจ้าหน้าที่ในคลินิคเบาหวาน คลินิคโรคเลือด รวมไปถึง พี่หัวหน้าชมรมเบาหวานของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้การช่วยเหลือในการประสานงานเก็บตัวอย่างผู้ป่วยเพื่อใช้ในงานวิจัย รวมไปถึงผู้ป่วยทุกท่านที่เข้าร่วมในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ นักเทคนิคการแพทย์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ เจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายเวชศาสตร์ชันสูตรที่เป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือในงานวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ และ พี่ๆน้องๆ ในห้อง AM lab ทุกท่านที่ให้การสนับสนุน ให้ความรู้ รวมถึงให้ยืมอุปกรณ์วิจัยต่างๆ

ขอขอบพระคุณ ทุนการศึกษาจากสภากาชาดไทย สำหรับสนับสนุนค่าเล่าเรียนในการศึกษาต่อในระดับปริญญาโท

ขอขอบพระคุณ ทุนโครงการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2559 สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (NRU59-001-HR) และ ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุดท้ายขอขอบคุณ บุคคลในครอบครัว และ เพื่อนๆที่เป็นกำลังใจ รวมถึงให้การสนับสนุนในด้านต่างๆ จนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสิ้นลงด้วยดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

คำถามงานวิจัย 4

วัตถุประสงค์การวิจัย 4

กรอบความคิดงานวิจัย 5

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้จากงานวิจัย และการประยุกต์ใช้ 6

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 7

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) 7

ฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A1c ; HbA1c) 8

เทคนิคและหลักการตรวจวัดฮีโมโกลบินเอวันซี 9

ปัจจัยรบกวนที่ส่งผลต่อการตรวจวัดฮีโมโกลบินเอวันซี 13

เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ Point of Care (POC device) สำหรับ 16

การตรวจฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c) 16

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 18

รูปแบบการวิจัย 18

ระเบียบวิธีวิจัย 18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

1. การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง 18
2. เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c ที่ใช้ในการศึกษา 21
3. การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1cทั้งแบบเครื่องตรวจวิเคราะห์ อัตโนมัติ และ เครื่องวิเคราะห์แบบ POC.....22
4. การทดสอบการรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ที่มีต่อการตรวจวัดค่า HbA1c โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติของห้องปฏิบัติการกลาง.23
5. การทดสอบเพื่อยืนยันว่าค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบPOC และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติได้ค่าตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง โดยเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ที่รับรองโดยองค์กร IFCC 23
ขนาดตัวอย่าง 24
การวิเคราะห์ข้อมูล 24
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....25
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย 43
รายการอ้างอิง 47
ภาคผนวก.....54
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 57

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูป

รูปที่ 1 แผนผังกรอบความคิดงานวิจัย 5

รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างและ ปฏิกิริยาการเกิดฮีโมโกลบินเอวันซี 9

รูปที่ 3 แสดงตำแหน่งการตัดของเอนไซม์ Endoproteinase บนสายฮีโมโกลบิน 10

รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการทำปฏิกิริยาของหลักการ Latex immunoagglutination inhibition assay 11

รูปที่ 5 แสดงขั้นตอนการทำปฏิกิริยาของหลักการ Boronate Affinity Fluorescence Quenching 12

รูปที่ 6 แสดงขั้นตอนการตรวจวัด HbA1c ของหลักการ Enzymatic 12

รูปที่ 7 แสดงแผนผังการแบ่งกลุ่มตัวอย่างของกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน 19

รูปที่ 8 แสดงแผนผังการแบ่งกลุ่มตัวอย่างของกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน 21

รูปที่ 9 การทดสอบลิเนียลิตี้แสดงผลด้วยกราฟเส้นตรงของเครื่องตรวจวิเคราะห์ A) เครื่อง Architect c8000, B) เครื่อง DCA Vantage, C) เครื่อง Cobas b101, D) เครื่อง Quo-Test ตามลำดับ 27

รูปที่ 10 กราฟ Relative bias (%) แสดงผลการเปรียบเทียบการวัดค่า HbA1c ระหว่างเครื่องวิเคราะห์แบบต่างๆกับค่าอ้างอิงจากโครงการ NGSP 28

รูปที่ 11 กราฟแสดงความสอดคล้องของการวัดค่า Hb1c ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ(Architect c8000) กับ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ได้แก่ DCA Vantage (A), Cobas b101 (B) และ Quo-Test (C) ตามลำดับ 30

รูปที่ 12 กราฟ Bland-Altman plot แสดงความแตกต่างของการวัดค่า HbA1c โดยเปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (Architect c8000) กับ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ได้แก่ DCA Vantage (A), Cobas b101 (B) และ Quo-Test (C) ตามลำดับ 31

รูปที่ 13 กราฟ dot plot แสดงการเปรียบเทียบค่าHbA1c (%) และ mean ± SD (Error Bar) ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดต่างๆ ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ (**A** : Normal Typing) และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ (**B** : Hb E trait, **C** : Homozygous Hb E, **D** : Beta thalassemia/Hb E, **E** : Beta thalassemia trait, **F** : Alpha thalassemia trait, **G** : Hb E trait with Alpha thalassemia trait, **H** : Homozygous Beta thalassemia, **I** : Hb H, **J** : Hb H with Hb Constant Spring และ **K**: Homozygous Hb Constant Spring) โดยใช้สถิติ t test และ Mann Whitney test (*, **, *** แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$, $P < 0.01$ และ $P < 0.001$ ตามลำดับ) 33

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 14 กราฟ dot plot แสดงการเปรียบเทียบค่าHbA1c (%) และ mean ± SD (Error Bar) ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดต่างๆ ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ (**A** : Normal Typing) และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ (**B** : Hb E trait, **C** : Homozygous Hb E, **D** : Beta thalassemia/Hb E, **E** : Beta thalassemia trait, **F** : Alpha thalassemia trait, **G** : Hb E trait with Alpha thalassemia trait , **H** : Homozygous Beta thalassemia และ **I** : Hb H) โดยใช้สถิติ t test และ Mann Whitney test (* แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติเมื่อ P < 0.05).....36

รูปที่ 15 กราฟ Box plot แสดงค่า Relative bias (%) โดยเปรียบเทียบระหว่างค่า HbA1c ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบต่างๆกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานจากองค์กร IFCC ของทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยจำแนกตามชนิดของฮีโมโกลบิน 42

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนโดยเปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (Architect c8000) และ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC (DCA Vantage, Cobas b101 และ Quo-Test).....26

ตารางที่ 2 สรุปผลการทดสอบlinearity โดยแสดงช่วงค่าที่รายงานได้ สมการเส้นตรง และ ค่า R^2 ของเครื่องตรวจวิเคราะห์.....27

ตารางที่ 3 ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose; FPG) และ ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) โดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ.....34

ตารางที่ 4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose; FPG) และ ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) โดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ.....37

ตารางที่ 5 ตารางแสดงค่า Mean relative bias (%) เปรียบเทียบระหว่างค่า HbA1c (%)ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบต่างๆกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานจากองค์กร IFCC ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานโดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ.....41

ตารางที่ 6 ตารางแสดงค่า Mean relative bias (%) เปรียบเทียบค่า HbA1c (%)ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบต่างๆกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานจากองค์กร IFCC ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ.....41

ตารางที่ 7 ตารางแสดงผลตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete Blood Count;CBC) ของกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) ที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ 55

ตารางที่ 8 ตารางแสดงผลตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete Blood Count;CBC) ของกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) ที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ.....56

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus; DM) เป็นโรคทางเมตาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติ สาเหตุเกิดจากการขาดการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินหรือร่างกายไม่สามารถนำอินซูลินไปใช้ได้ ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (1, 2) จากข้อมูลของสมาพันธ์เบาหวานนานาชาติ พบว่ามีผู้ป่วยโรคเบาหวาน จำนวน 425 ล้านคนทั่วโลก และประมาณการว่าจำนวนผู้ป่วยจะสูงถึง 629 ล้านคน ในปี ค.ศ. 2045 (3) ประเทศไทยก็เช่นกันมีแนวโน้มจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นทุกปี จากสถิติการสำรวจทั่วประเทศ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 ถึง 2558 ของสำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค พบว่าอัตราผู้ป่วยในด้วยโรคเบาหวาน 795 คนต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2550 และ 1,233 คนต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2558 หรือเพิ่มขึ้นประมาณ 55% ในระยะเวลา 8 ปี (4) การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวานจะมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องจากเป็นการรักษาระยะยาว ผู้ป่วยเบาหวานจำเป็นต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เพื่อป้องกันการเกิดภาวะโรคแทรกซ้อน เช่น microvascular complication หรือภาวะหลอดเลือดขนาดเล็กที่มีปัญหา ซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติที่จอประสาทตา (Retinopathy) เป็นต้น ในปัจจุบันมีการใช้ค่า Hemoglobin A1c (HbA1c) เพื่อติดตามผลการรักษาและควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน โดยค่า HbA1c แสดงถึงระดับน้ำตาลของผู้ป่วยได้ดี เพราะเป็นน้ำตาลกลูโคสที่เกาะกับสายฮีโมโกลบินภายในเม็ดเลือดแดง เนื่องจากเม็ดเลือดแดงจะมีอายุประมาณ 2-3 เดือน ดังนั้น ค่า HbA1c จึงเป็นค่าเฉลี่ยของน้ำตาลสะสม (5, 6) จากการศึกษาของ Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) และ United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) พบว่า ถ้าผู้ป่วยเบาหวานที่สามารถรักษาระดับของ HbA1c < 7% (53 mmol/mol) จะลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนแบบ microvascular complicationได้ และควรเปลี่ยนวิธีการรักษาผู้ป่วยเมื่อมีระดับ HbA1c > 8% (64 mmol/mol) (7, 8) สำหรับการวินิจฉัยโรคเบาหวานโดยการใช้ค่า HbA1c จะต้องตรวจวัดด้วยวิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานสากลจาก National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) (NGSP-certified method and standardize to DCCT assay) โดยองค์กร American Diabetes Association (ADA) กำหนดให้ระดับของ HbA1c ≥ 6.5 % (48 mmol/mol) เป็นหนึ่งในเกณฑ์การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน (9)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในปัจจุบัน หลักการตรวจวัด HbA1c มีหลายหลักการด้วยกัน จึงทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความแตกต่างกัน เพื่อเป็นการวางมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ในทุกหลักการของการตรวจวิเคราะห์ ให้ได้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ และได้ค่าที่สอดคล้องกับค่าอ้างอิงของ DCCT จึงทำให้เกิดโครงการ National Glycohemoglobin Standardization program (NGSP) เป็นโครงการตรวจประเมินวิธีวิเคราะห์ HbA1c และห้องปฏิบัติการเพื่อรับรองมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ HbA1c (10) นอกจากนี้องค์กร International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (Reference methods) 2 วิธีด้วยกัน คือ วิธี HPLC/mass spectrometry และ HPLC/capillary electrophoresis เป็นวิธีที่วิเคราะห์ค่า HbA1c ที่มีความถูกต้องมากที่สุด (2) แต่มีค่าใช้จ่ายสูงและมีขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ที่ซับซ้อน จึงไม่เหมาะสำหรับงานในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นบริษัทผู้ผลิตเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c จะต้องทำการ standardized วิธีการวิเคราะห์ที่ผลิตออกจำหน่าย โดยใช้สาร calibrators ที่ทาง IFCC ผลิตโดยใช้ค่าที่วัดได้จากวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน เพื่อให้บริษัทผู้ผลิตเครื่องตรวจวิเคราะห์และน้ำยา มีระบบการผลิตที่มีคุณภาพและวิเคราะห์ผลได้อย่างถูกต้องตรงตามค่าอ้างอิงของ DCCT โดยหลักการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ในปัจจุบัน แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ วิธีวิเคราะห์โดยอาศัยคุณสมบัติของประจุ เช่น ion-exchange HPLC และ capillary electrophoresis และ วิธีที่อาศัยคุณสมบัติของโครงสร้างฮีโมโกลบินเอวันซี เช่น immunoassay, boronate affinity และ enzymatic assay เป็นต้น (2, 6)

การใช้ค่า HbA1c เพื่อติดตามผลการรักษาของคนไข้ สามารถทำได้ทั้งในห้องปฏิบัติการกลาง (Central laboratory) ของโรงพยาบาล โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการ (Laboratory analyzer) และ การตรวจวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจ ณ จุดดูแลผู้ป่วย โดย แพทย์ พยาบาล หรือบุคลากรทางการแพทย์เป็นผู้ทำการตรวจวิเคราะห์ ที่ข้างเตียงหรือจุดดูแลผู้ป่วย เพื่อให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว หรือเรียกว่า Point of care testing (POCT) โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อย่างง่ายแบบ POC (POC device) ซึ่งมีขนาดเล็ก สะดวกต่อการเคลื่อนย้าย และให้ผลที่รวดเร็ว (5, 11) โดยหลักการที่นิยมใช้ในการตรวจวัด HbA1c ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ได้แก่ หลักการ Immunoassay หรือ Boronate affinity เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีอาจให้ผลการตรวจวัดค่า HbA1c ได้แตกต่างกัน จากงานวิจัยของ Erna Lenters-Westra และคณะพบเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC บางเครื่องไม่ผ่านเกณฑ์การประเมินประสิทธิภาพ (analytical performance) สำหรับการนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ HbA1c (12, 13) และ เมื่อเปรียบเทียบเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า analytical performance ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variants; CV) ต่อการตรวจวัดค่า HbA1c น้อย ซึ่งแสดงถึงค่าตรวจวัดที่ได้มีความแม่นยำมากกว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC (5, 14) รวมทั้งเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC บางเครื่องจะให้ค่า HbA1c สอดคล้องกันกับ

เครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่มีหลักการเดียวกันเท่านั้น เช่น เป็นเครื่องที่ใช้หลักการ Boronate affinity เหมือนกัน หรือ เครื่องที่ใช้หลักการ Immunoassay เหมือนกัน (12) แต่บางการศึกษาพบว่าถึงแม้จะเป็นหลักการเดียวกัน ค่าของการตรวจวัด HbA1c ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการก็ไม่สอดคล้องกัน (13) เนื่องจากประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์อย่างง่ายที่มีความหลากหลายมาก ทำให้เครื่องวิเคราะห์อย่างง่ายยังไม่ได้ถูกแนะนำสำหรับการนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเบาหวาน แต่สามารถนำมาตรวจวิเคราะห์หาค่า HbA1c ได้ อย่างไรก็ตามก่อนนำเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC มาใช้ควรจะมีการทดสอบและประเมินประสิทธิภาพของเครื่อง และ ถ้าผลการตรวจวัดมีค่าที่สอดคล้องกันระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการจะเป็นผลดีกับผู้ป่วย และแพทย์ในการติดตามผลการรักษา เพราะในบางครั้งแพทย์ต้องการจะทราบผลการตรวจทันทีเพื่อตัดสินใจในการรักษาคนไข้ ทำให้ไม่สามารถรอผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการกลางได้ หรือคนไข้ไม่สะดวกมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการกลาง ไม่ว่าจะทำการตรวจวัดแบบใดก็ควรให้ค่าที่ถูกต้องเช่นเดียวกัน ดังนั้นการทดสอบ analytical performance เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จึงมีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อยืนยันได้ว่าค่า HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีความน่าเชื่อถือและส่งผลให้การรักษามีประสิทธิภาพ

นอกเหนือจากหลักการเครื่องวิเคราะห์แต่ละหลักการ ที่อาจส่งผลให้ค่า HbA1c แตกต่างกันแล้ว ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) อาจส่งผลรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ได้ เนื่องจากการวัดค่า HbA1c เป็นการตรวจวัดน้ำตาลที่เกาะอยู่บนสายฮีโมโกลบิน ซึ่งการรบกวนดังกล่าวอาจทำให้ได้ค่า HbA1c สูง หรือ ต่ำกว่าความเป็นจริง ขึ้นอยู่กับชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติ และ หลักการตรวจวิเคราะห์ (15) สำหรับฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดบนสายเบต้าโกลบินที่พบได้บ่อยที่สุดทั่วโลก ได้แก่ Hb S Hb C Hb E และ Hb D ซึ่งงานวิจัยในต่างประเทศส่วนใหญ่จะศึกษาผลกระทบของฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ต่อการวัดค่า HbA1c สำหรับในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงในประเทศไทยมักพบความผิดปกติของ Hb E เป็นจำนวนมาก แต่ความผิดปกติชนิด Hb S Hb C และ Hb D น้อย นอกจากนี้ยังพบอุบัติการณ์ของพาหะโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียได้ทุกภาคของประเทศไทย เช่น อัลฟ่าธาลัสซีเมีย เบต้าธาลัสซีเมีย รวมถึง ฮีโมโกลบินเอ็ช (Hb H) และ ฮีโมโกลบินคอนสแตนด์สปริง (Hb CS) (16, 17) ความผิดปกติเหล่านี้อาจมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องเม็ดเลือดแดง เช่น อายุของเม็ดเลือดแดง และ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตกง่ายซึ่งอาจส่งผลต่อการตรวจวัดค่า HbA1c เช่นกัน

การวิจัยในครั้งนี้ต้องการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ที่ใช้หลักการ Boronate affinity และ Immunoassay เปรียบเทียบกับ เครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยที่ใช้หลักการ Enzymatic ซึ่งทาง

ห้องปฏิบัติการกลางได้ทำการประเมินเครื่องตรวจวิเคราะห์ก่อนนำมาใช้ในงานบริการ และงานวิจัยในครั้งนี้ต้องการศึกษาผลการรบกวนของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆที่มีผลต่อการตรวจวัด HbA1c ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC และ เครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง ซึ่งความผิดปกติของสายฮีโมโกลบินชนิดต่างๆที่เกิดความชุกในประเทศไทยจะมีผลต่อการวัด HbA1c ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่ใช้หลักการ Enzymatic หรือไม่อย่างไร จำเป็นจะต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้การแปลผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง และเป็นประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน

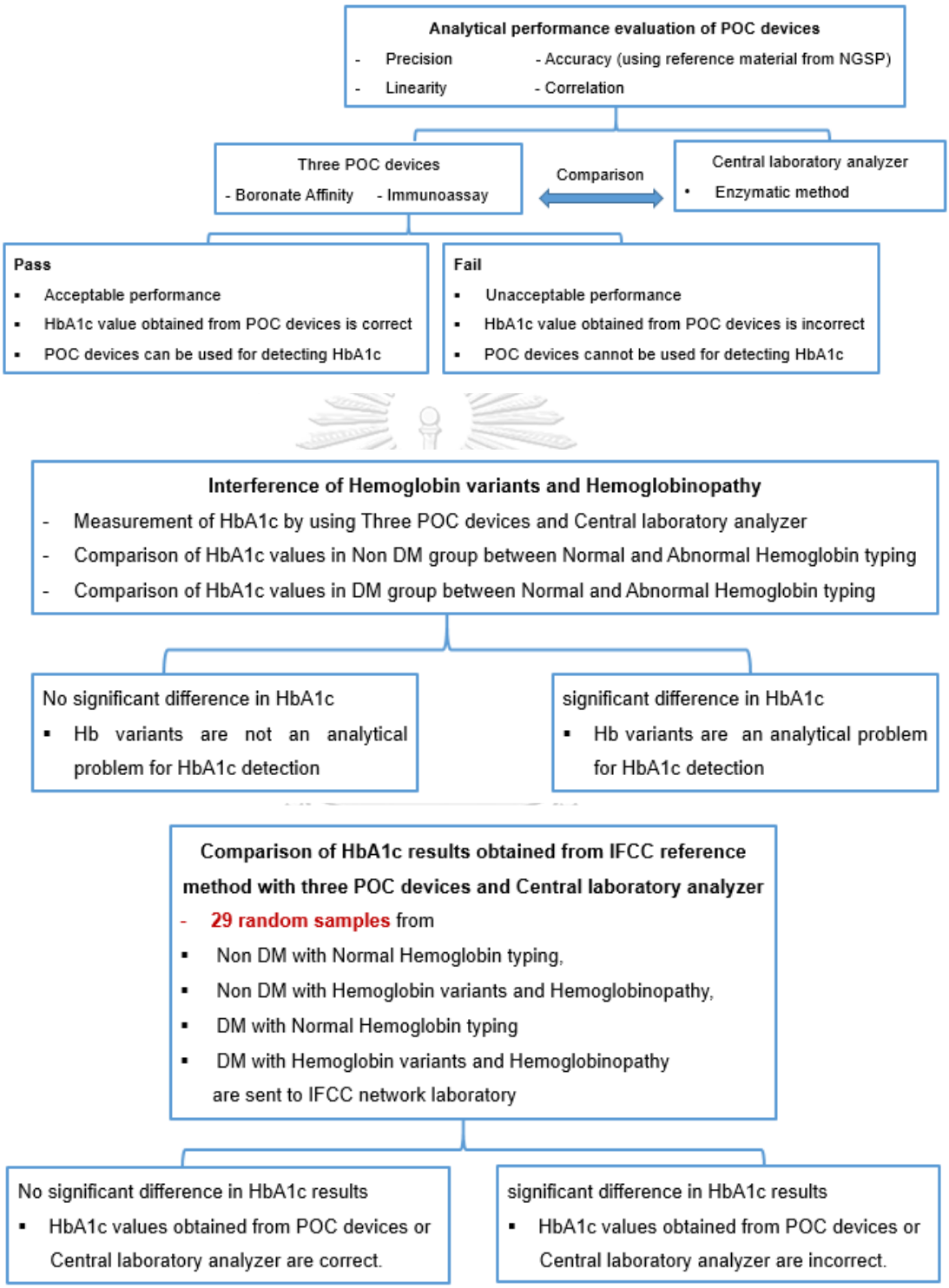
คำถามงานวิจัย

1. เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC สำหรับการตรวจวัด HbA1c เครื่องใดบ้างที่จะผ่านเกณฑ์การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์
2. ค่า HbA1c ที่วัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC และ เครื่องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง (Central Laboratory analyzer) มีความสอดคล้องกันหรือไม่
3. ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) รบกวนการตรวจวัด HbA1c ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC และ เครื่องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง (Central Laboratory analyzer) หรือไม่

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ได้แก่ การทดสอบความแม่นยำ (precision) ความถูกต้อง (accuracy) และ การศึกษาลิเนียลิตี (linearity) เพื่อหาเครื่องที่เหมาะสมและสามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ณ จุดดูแลผู้ป่วย
2. เพื่อศึกษาความสอดคล้องกันของค่า HbA1c ที่วัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC และเครื่องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง (Central Laboratory analyzer) เพื่อให้ทราบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC เครื่องใด และหลักการใดที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์จากเครื่องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง
3. เพื่อตรวจสอบผลการรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ที่มีผลต่อการตรวจวัด HbA1c ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC และ เครื่องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง (Central Laboratory analyzer)

กรอบความคิดงานวิจัย



รูปที่ 1 แผนผังกรอบความคิดงานวิจัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้จากงานวิจัย และการประยุกต์ใช้

1. ได้ข้อมูลที่แสดงถึงความสอดคล้องของเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง และมีประสิทธิภาพที่ดี สามารถเพิ่มความมั่นใจในการใช้งานเครื่อง POC สำหรับงานตรวจวิเคราะห์ HbA1c โดยเครื่องที่ผ่านการทดสอบสามารถนำไปใช้ตามหอผู้ป่วยต่างๆ หรือห้องตรวจผู้ป่วยภายในโรงพยาบาลได้ เป็นประโยชน์สำหรับแพทย์ในการติดตามและประเมินผลการรักษาของผู้ป่วยเบาหวาน

2. การศึกษาการรบกวนของHb variants ชนิดต่างๆของคนไทย ต่อการวัดHbA1c จะทำให้นักเทคนิคการแพทย์ และแพทย์ตระหนักถึงการวิเคราะห์และการแปลผลที่ถูกต้อง ซึ่งจะมีผลต่อการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน ชนิดและความชุกของ Hb variants ของคนไทยและคนผิวขาวมีความแตกต่างกัน การศึกษาในครั้งนี้จะทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญ และเป็นประโยชน์สำหรับนำไปใช้ในการแปลผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง เพื่อนำไปใช้ในการติดตามผลการรักษาอย่างถูกวิธี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus)

โรคเบาหวานจัดเป็นหนึ่งในโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่มีความชุกสูงทั่วโลก (3, 18) โรคเบาหวานมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติ ทำให้น้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) ในปัจจุบันสามารถแบ่งโรคเบาหวานได้เป็น 4 ชนิดตามสาเหตุของการเกิดโรค ได้แก่ (1, 9)

1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 Diabetes) เกิดจากเบต้าเซลล์ที่ตับอ่อนถูกทำลายจากภูมิคุ้มกันของร่างกายตนเอง (Autoantibodies) มักพบในวัยเด็ก
2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 Diabetes) เกิดจากเซลล์มีภาวะดื้ออินซูลิน (Insulin) ร่วมกับการหลั่งอินซูลินบกพร่อง เบาหวานชนิดนี้พบบ่อยที่สุด
3. โรคเบาหวานที่มีสาเหตุเฉพาะ (Other Specific Types) เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่นเกิดจากความผิดปกติของยีนที่มีผลต่อการทำงานของเบต้าเซลล์ ความผิดปกติของยีนที่มีผลต่อการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน หรือจากใช้ยารักษาโรค เป็นต้น
4. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (Gestational Diabetes Mellitus) เกิดจากภาวะดื้อต่ออินซูลินมากขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์อาจตรวจพบได้จากการทำ glucose tolerance test ระหว่างตั้งครรภ์ และอาการมักหายไปหลังคลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในปัจจุบันเกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวานจะพิจารณาจากระดับน้ำตาลในเลือด ได้แก่ (19)

1. ระดับน้ำตาลในพลาสมาหลังอดอาหารข้ามคืน (Fasting plasma glucose; FPG) ≥ 126 มก. /ดล. และต้องอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง
2. ระดับน้ำตาลในพลาสมา ≥ 200 มก. /ดล. หลังจากดื่มน้ำตาลปริมาณ 75 กรัมที่ 2 ชั่วโมง เป็นการตรวจความทนต่อกลูโคส (75 g Oral Glucose Tolerance Test, OGTT)
3. ระดับน้ำตาลในพลาสมา ≥ 200 มก. /ดล. โดยตรวจวัดในเวลาใดก็ได้ ไม่จำเป็นต้องอดอาหาร (Random plasma glucose) ให้การวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวาน ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการน้ำตาลในเลือดสูง ได้แก่ หิวน้ำบ่อย ปัสสาวะบ่อยและมาก น้ำหนักตัวลด

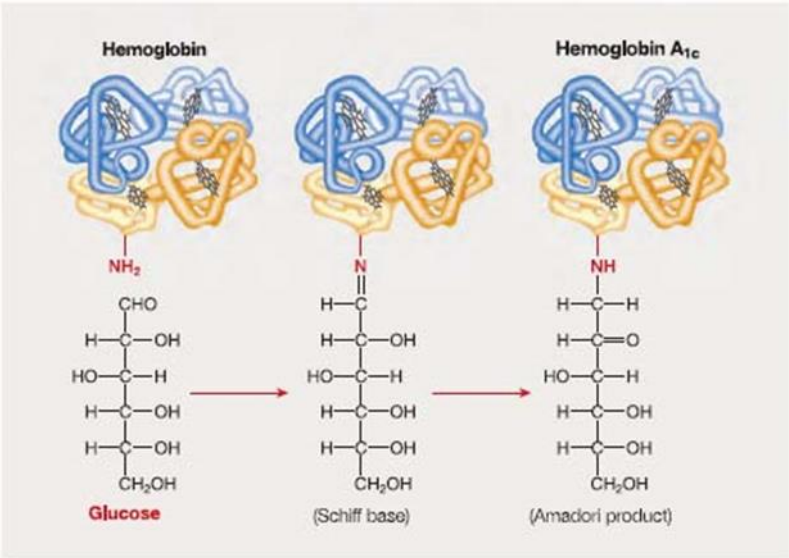
4. การวินิจฉัยโรคเบาหวานจากค่าฮีโมโกลบินที่มีหมู่น้ำตาลมาเกาะ (Hemoglobin A1c; HbA1c) ค่าเท่ากับหรือมากกว่า 6.5% ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน และต้องตรวจวัดในห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานสากลจาก National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)

ผู้ป่วยเบาหวานจำเป็นต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เพื่อป้องกันการเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนต่างๆ การเกิดภาวะโรคแทรกซ้อน แบ่งออกเป็น microvascular complication หรือภาวะหลอดเลือดขนาดเล็กที่มีปัญหา ซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติที่จอประสาทตา (Retinopathy) ไต (Nephropathy) และเส้นประสาท (Neuropathy) และ macrovascular complication หรือภาวะหลอดเลือดขนาดใหญ่ที่มีปัญหา ซึ่งทำให้เกิดโรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (20) ภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวสามารถเกิดในผู้ป่วยเบาหวานได้โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีอายุมากและเป็นเบาหวานระยะเวลานาน รวมทั้งการดูแลรักษาไม่มีประสิทธิภาพมากพอทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงอยู่ตลอด ซึ่งหากผู้ป่วยสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี ก็จะลดความเสี่ยงของการเกิดโรคแทรกซ้อนดังกล่าวได้

ฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A1c ; HbA1c)

ฮีโมโกลบินเป็นโปรตีนที่สำคัญในเม็ดเลือดแดง ซึ่งจะทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย แต่ละโมเลกุลของฮีโมโกลบินจะมีโกลบินรวม 4 สาย ซึ่งประกอบด้วยโกลบินอย่างน้อย 4 ชนิด ได้แก่ อัลฟ่าโกลบิน (α) เบต้าโกลบิน (β), แกมม่าโกลบิน (γ) และ เดลต้าโกลบิน (δ) โดยการปฏิสัมพันธ์ของโกลบินต่างชนิดกันอย่างละสองสายและเป็นตัวกำหนดชนิดของฮีโมโกลบินที่แตกต่างกันสำหรับผู้ใหญ่ปกติจะมีฮีโมโกลบิน 3 ชนิด ได้แก่ HbA ($\alpha_2\beta_2$) 97% HbA_2 ($\alpha_2\delta_2$) ประมาณ 2.5% และ HbF ($\alpha_2\gamma_2$) น้อยกว่า 1% (5) สำหรับ HbA จะมีประมาณ 6% ที่พบว่ามีหมู่น้ำตาลสามารถเข้ามาจับได้ เรียกว่า Glycated hemoglobin หรือ HbA1 ซึ่งมีอนุพันธ์ย่อยเป็น HbA1a HbA1b และ HbA1c แต่ละอนุพันธ์ย่อยจะมีหมู่น้ำตาลต่างชนิดกันมาจับ โดยHbA1c จะมีน้ำตาลกลูโคสมาจับและมีปริมาณสัดส่วนมากที่สุดใน HbA1 สำหรับฮีโมโกลบินที่ไม่มีหมู่น้ำตาลมาจับ เรียกว่า non glycated hemoglobin หรือ HbA0

ปฏิกิริยาของการเกิดฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c) จะเป็นแบบไม่อาศัยเอนไซม์ โดยน้ำตาลกลูโคสจะจับกับกรดอะมิโนชนิดวาลีน (Valine) ตรงบริเวณปลายของฮีโมโกลบินสายเบต้า (β chain) ได้โครงสร้างสุดท้ายที่เรียกว่า Amadori product และเป็นปฏิกิริยาที่ไม่สามารถผันกลับได้ (5, 21)



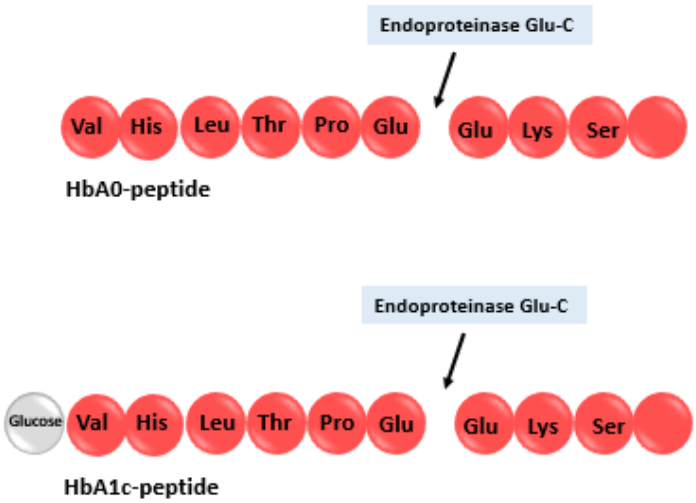
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างและ ปฏิกิริยาการเกิดฮีโมโกลบินเอวันซี (22)

HbA1c ถูกกำหนดให้ใช้เป็นเกณฑ์สำหรับการวินิจฉัยโรคเบาหวาน และยังสามารถนำมาใช้ในการติดตามผลการรักษาและประเมินความเสี่ยงในการเกิดภาวะโรคแทรกซ้อน ดังที่กล่าวข้างต้น คือ ถ้าผู้ป่วยเบาหวานที่สามารถรักษาระดับของ HbA1c < 7% (53 mmol/mol) จะลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนแบบ microvascular complicationได้ และควรเปลี่ยนวิธีการรักษาผู้ป่วยเมื่อมีระดับ HbA1c > 8% (64 mmol/mol) นอกจากนี้แล้ว HbA1c ยังมีข้อดีกว่าการวัดระดับน้ำตาล แบบ Fasting Plasma Glucose (FPG) คือ คนไข้ไม่จำเป็นต้องอดอาหาร สามารถทำการตรวจวัดในเวลาใดก็ได้ ลดเวลาเตรียมสิ่งส่งตรวจ เนื่องจากไม่ต้องปั่นแยกชั้นของพลาสมา (23) และไม่ถูกรบกวนด้วยปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (Glycolysis) ของเม็ดเลือดแดงในหลอดตัวอย่างซึ่งอาจทำให้การตรวจวัดกลูโคสในพลาสมาลดลง นอกจากนี้ HbA1c ยังสามารถสะท้อนระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยได้ ย้อนหลัง 2-3 เดือนตามอายุของเม็ดเลือดแดง (5)

เทคนิคและหลักการตรวจวัดฮีโมโกลบินเอวันซี

องค์กร International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) ได้พัฒนาวิธีมาตรฐาน (Reference method) ของการตรวจวัด HbA1c 2 วิธี คือ วิธี High performance liquid chromatography- electrospray ionization mass spectrometry (HPLC- ESI/ MS) และ HPLC/capillary electrophoresis (HPLC-CE) โดยขั้นตอนแรก Hemoglobin จะถูกตัดด้วยเอนไซม์Endoproteinase Glu-C ได้เป็นส่วนของ glycated hexapeptides และ non-glycated hexapeptides จากนั้นนำไปหาจำนวน HbA1c จากการวัดด้วยวิธี HPLC-ESI/MS หรือ HPLC-CE

with UV detection โดย คำนวณ %HbA1c ได้จาก สัดส่วนของ glycated ต่อ non-glycated β-N- terminal hexapeptides ของ ฮีโมโกลบิน (24)



รูปที่ 3 แสดงตำแหน่งการตัดของเอนไซม์ Endoproteinase บนสายฮีโมโกลบิน

วิธีมาตรฐานเป็นวิธีที่วิเคราะห์ค่า HbA1c ที่มีความถูกต้องมากที่สุด แต่มีค่าใช้จ่ายสูงและมีขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ที่ซับซ้อน ใช้เวลานาน จึงไม่เหมาะสำหรับงานในห้องปฏิบัติการ ในปัจจุบัน หลักการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ วิธีวิเคราะห์โดยอาศัยคุณสมบัติของประจุ และ คุณสมบัติของโครงสร้างฮีโมโกลบินเอวันซี (2)

1. วิธีวิเคราะห์โดยอาศัยคุณสมบัติของประจุ

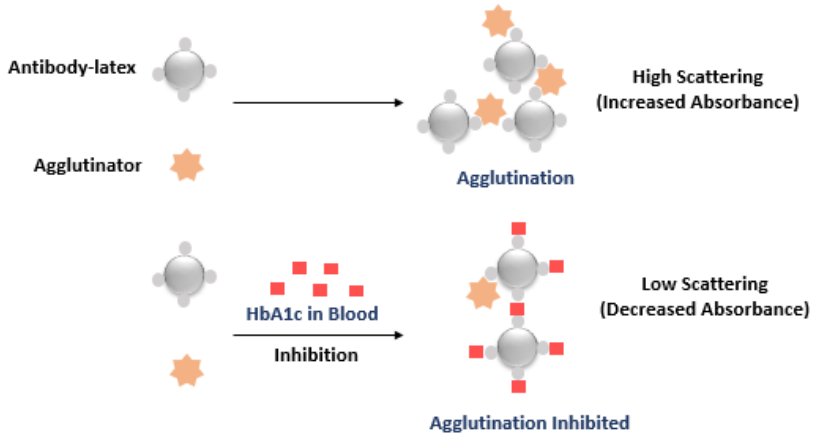
ได้แก่ Ion Exchange High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ Capillary Electrophoresis (CE) โดยแยกประเภทฮีโมโกลบินออกจากกันโดยใช้ความแตกต่างของประจุ เมื่อกลูโคสไปจับกับ N-terminal ของสายเบต้าโกลบิน จะทำให้โครงสร้างเป็นประจุลบมากขึ้น จึงทำให้สามารถแยก HbA1c ออกจาก HbA0 ได้

ข้อดีของวิธี HPLC และ CE คือ สามารถมองเห็นกราฟ Chromatogram ที่ผิดปกติจากชนิดของฮีโมโกลบินที่ผิดปกติได้ แต่มีข้อเสียในส่วนของตัวเครื่องที่มีขนาดใหญ่และไม่สามารถวัดรวมกับเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ใช้เวลาวัดค่อนข้างนาน ทำให้จำนวนรายของการวัด HbA1c ต่อ 1 ชม. หรือ Throughput ไม่สูงมาก (6)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. วิธีวิเคราะห์โดยอาศัยคุณสมบัติของโครงสร้าง

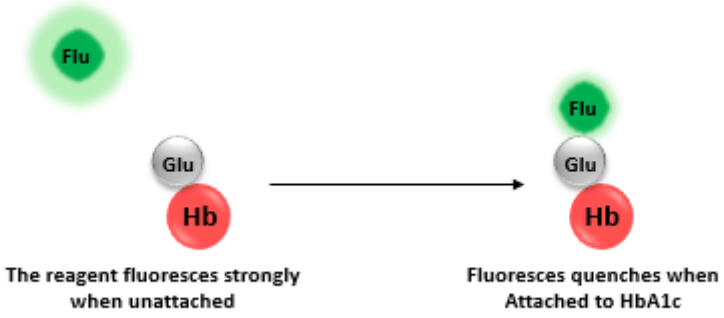
2.1 Immunoassay/Immunoturbidity assay อาศัยแอนติบอดี (Antibody-coated latex) ที่ออกแบบจำเพาะให้จับกับบริเวณกรดอะมิโน 4-6 ตัวแรกบนสายเบต้าโกลบิน จากนั้นตัว agglutinator/polyhapten จะเข้ามาแข่งขันกับ HbA1c แย่งจับกับ antibody การแย่งจับของ agglutinator กับ antibody จะทำให้เกิดความขุ่น ดังนั้นหากวัดความขุ่นได้มากจะมี HbA1c น้อย ในขณะที่ถ้าความขุ่นน้อย หมายถึงมีปริมาณ HbA1c อยู่มาก (6, 25)



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการทำปฏิกิริยาของหลักการ Latex immunoagglutination inhibition assay

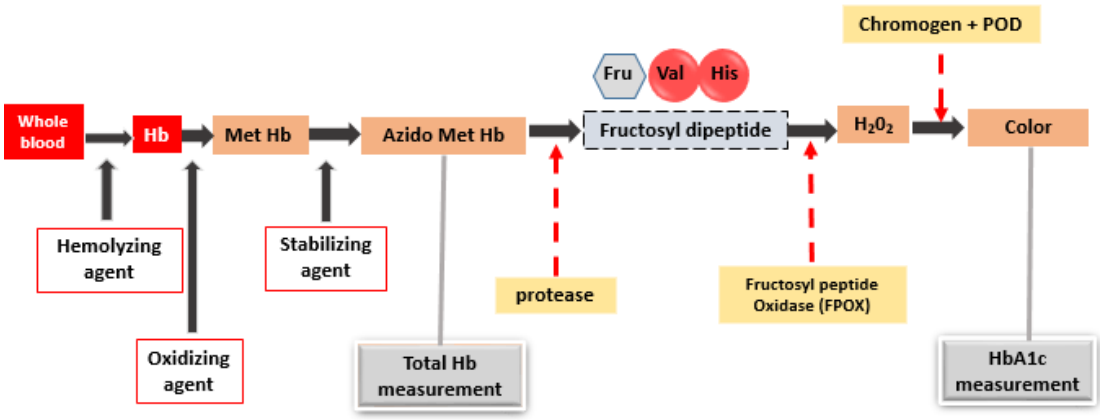
2.2 Boronate Affinity อาศัยคุณสมบัติของ aminophenyl boronic acid ที่เคลือบบนเรซิน (Resin) ซึ่งจะไปจับกับหมู่ cis-diol ของกลูโคส ดังนั้นฮีโมโกลบินที่ไม่มีน้ำตาลกลูโคสจะถูกชะออกมาจากคอลัมน์ หรือ ถูกวัดปฏิกิริยาก่อน ส่วนฮีโมโกลบินที่มีกลูโคสมาจับ จะถูกชะออกมาภายหลัง ในกรณีเครื่องวิเคราะห์แบบ POC อาจประยุกต์ใช้ Boronate affinity ร่วมกับ การวัดสัญญาณ fluorescence หรือ ที่เรียกว่า Boronate Affinity Fluorescence Quenching โดยขั้นตอนแรกจะมีการตรวจวัดสัญญาณเรืองแสงของเม็ดบีด (bead) ที่เคลือบด้วย fluorescent boronate หลังจากนั้นจะมีการปล่อยหยดเลือดและทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเพื่อวัด total hemoglobin ต่อมาเม็ดบีดที่มี fluorescent boronate จะไปจับกับหมู่ cis-diol ของกลูโคสที่อยู่บนฮีโมโกลบิน (Glycated hemoglobin) ทำให้การเรืองแสงของเม็ดบีดลดลง หลังจากนั้นจะทำการวัดสัญญาณเรืองแสงอีกครั้ง ถ้าปริมาณแสงที่ลดลงมาก หมายถึง ปริมาณ glycated Hb ในเลือดสูง ซึ่งโดยทั่วไปกลูโคสจะไปจับที่กรดอะมิโนวาลีน (Valine) บนสายเบต้าโกลบิน แต่เนื่องจากกลูโคสสามารถไปจับตรงตำแหน่งอื่นบนสายฮีโมโกลบินทั้งสายเบต้าและอัลฟ่าได้ด้วย เช่น ตำแหน่งไลซีน

(Lysine) ดังนั้นวิธีนี้จึงได้ค่าวิเคราะห์เป็น % Glycated Hemoglobin ทั้งหมด ไม่ใช่เฉพาะ HbA1c เพียงอย่างเดียว (6, 26)



รูปที่ 5 แสดงขั้นตอนการทำปฏิกิริยาของหลักการ Boronate Affinity Fluorescence Quenching

2.3 Enzymatic assay ขั้นตอนแรกเริ่มจากการทำให้เม็ดเลือดแดงแตกด้วย Hemolysing agent เพื่อปล่อย Hb ออกมา หลังจากนั้น Hb จะไปทำปฏิกิริยากับ Sodium nitrite กลายเป็น Methemoglobin และมีการเติม Sodium azide (Stabilizing agent) ลงไปทำปฏิกิริยากับ Methemoglobin กลายเป็น methemoglobin azide เพื่อวัดค่า Total Hemoglobin หลังจากนั้นจะมีการเติมเอนไซม์ Protease ไปย่อยด้าน N-terminal ของสายเบต้าโกลบิน ทำให้เกิด fructosyl dipeptide (fructosyl-VH) ซึ่งเป็น glycated โมเลกุลของฮีโมโกลบินเอวันซี ต่อมามีการเติมเอนไซม์ Fructosyl Peptide Oxidase (FPOX) ลงไปทำปฏิกิริยากับ fructosyl dipeptide ทำให้เกิดH_2O_2 ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ Peroxidase (POD) และทำให้สาร chromogenจากไม่มีสีเป็นสารที่มีสี และสามารถหาปริมาณ HbA1c จากการวัดสีที่เกิดขึ้น (27, 28)



รูปที่ 6 แสดงขั้นตอนการตรวจวัด HbA1c ของหลักการ Enzymatic

ข้อดีของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่ใช้หลักการ Immunoassay และ Enzymatic assay คือ ให้ผลการตรวจวัด HbA1c ที่รวดเร็ว และ สามารถวัดรวมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกได้ อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวอาจถูกรบกวนด้วย Hb variants บางชนิดที่มีความผิดปกติของกรดอะมิโน ตรงบริเวณที่จำเพาะกับตำแหน่งการจับของ antibody หรือ ตำแหน่งการตัดของเอนไซม์ นอกจากนี้ กรณีผู้ป่วยที่มี Hb F ปริมาณสูงๆ อาจทำให้ได้ค่า HbA1c ต่ำกว่าความเป็นจริง (5, 29) สำหรับหลักการ Boronate affinity เป็นการจับของ Boronic acid กับหมู่ cis-diol ของกลูโคส ดังนั้นจึงถูกรบกวนได้น้อยจาก Hb variants แต่เนื่องจากวิธีนี้เป็นการวัด total glycated Hb ไม่ใช่ค่า HbA1c อย่างเดียว จึงทำให้ค่า HbA1c ที่รายงานออกมาอาจมีค่าสูงเกินจริง (5) นอกจากนี้ เครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ใช้หลักการอาศัยคุณสมบัติของโครงสร้างจะไม่สามารถแสดงกราฟ Chromatogram ที่บอกชนิดของฮีโมโกลบินที่ผิดปกติได้

เนื่องจากหลักการการตรวจวัดHbA1c มีหลายหลักการ ดังนั้นบริษัทผู้ผลิตเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แต่ละหลักการ จะต้องทำการ standardized วิธีการวิเคราะห์ที่ผลิตออกจำหน่ายโดยใช้สาร calibrators ที่ทาง IFCC ผลิตโดยใช้ค่าที่วัดได้จากวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน เพื่อให้บริษัทผู้ผลิตเครื่องตรวจวิเคราะห์และน้ำยา มีระบบการผลิตที่มีคุณภาพและวิเคราะห์ผลได้อย่างถูกต้องตรงตามค่าอ้างอิงของ DCCT

ปัจจัยรบกวนที่ส่งผลต่อการตรวจวัดฮีโมโกลบินเอวันซี

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ HbA1c ได้แก่ การเกิด Carbamylated Hemoglobin (Hb) ปริมาณHbF ทีมีจำนวนมาก และ ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hb variants and Hemoglobinopathy) เป็นต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. **Carbamylated Hemoglobin** พบในคนไข้ที่มีภาวะโรคไตเรื้อรัง Carbamyl ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของยูเรียจะเข้าไปจับกับ N-terminal valine ของเบต้าโกลบินได้ เกิดเป็น Carbamyl Hb ซึ่งมี Isoelectric point เหมือน HbA1c ทำให้รบกวนการวิเคราะห์ด้วยหลักการที่แยกด้วย HPLC และ Electrophoresis เกิดค่า HbA1c สูงปลอมได้ (30, 31)

2. **Hb F หรือ Fetal Hemoglobin** เป็นการรวมกันของอัลฟ่าโกลบินรวมกับแกมม่าโกลบินอย่างละ 2 สาย ($\alpha_2\gamma_2$) โดยปกติจะพบในเด็กแรกเกิดประมาณ 60-95 % และ ลดลงเหลือประมาณ 1% ในผู้ใหญ่ ภาวะHb F สูง สามารถพบได้ผู้ที่มีภาวะซีดมาก หรือ ผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมอาจพบปริมาณสูงถึง 30% (15) ในผู้ป่วยที่มี Hb F สูง เมื่อวัดด้วยหลักการ Immunoassay อาจได้ค่า HbA1c ต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากการคำนวณ

%HbA1c มาจากสัดส่วนปริมาณ HbA1c กับปริมาณฮีโมโกลบินรวมซึ่งจะรวมปริมาณ Hb F ไปด้วย (32) สำหรับหลักการHPLC หรือ Capillary Electrophoresis สามารถเห็นกราฟผิดปกติของHb F แยกออกมา ซึ่งในอดีต Hb F Peak จะco-migrate กับHbA1c Peak ทำให้ได้ค่า HbA1c สูงปลอม แต่ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้สามารถแยกHb F ออกจาก Hb ชนิดอื่นๆได้ดีขึ้น ทำให้ค่า HbA1c มีความถูกต้องมากขึ้น (2, 32)

3. ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน

3.1 Hb variants หมายถึง การเปลี่ยนแปลงชนิดของ amino acid ในสาย polypeptide ทำให้เกิดเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ ชนิดที่เกิดบนสายเบต้าโกลบินและพบบ่อยทั่วโลก ได้แก่ Hb S Hb C Hb D และ Hb E โดย Hb S เกิดจาก Valine มาแทนที่ glutamic acid ที่ตำแหน่งที่ 6 ส่วน Hb C เกิดจากglutamic acid ถูกแทนที่ด้วย lysine ที่ตำแหน่งที่ 6 เช่นกัน สำหรับ Hb D เกิดจาก glutamine ไปแทนที่glutamic acid ที่ตำแหน่ง121 และ Hb E เกิดจาก lysine ไปแทนที่ glutamic acid ที่ตำแหน่ง26 (15) Hb S และ Hb C มักพบได้ในแถบแอฟริกา ตะวันออกกลาง และในประเทศสหรัฐอเมริกา Hb D พบได้ในอินเดีย สำหรับในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มักพบความผิดปกติของ Hb E รวมถึงในประเทศไทยที่มีความชุกของ Hb E จำนวนมากถึง 30-40% ของประชากรทั้งหมด โดยเฉพาะแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ (16, 17)

การเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินดังกล่าวจะเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติความเป็นประจุภายในโมเลกุลฮีโมโกลบิน ดังนั้นอาจรบกวนการตรวจวัดด้วยหลักการ Ion exchange HPLC ได้ (15) ในขณะที่การวัดด้วยหลักการ Boronate affinity จะได้รับผลกระทบค่อนข้างน้อย เนื่องจากเป็นการวัด glycated Hb (5) ข้อมูลจากงานวิจัยที่ผ่านมายังพบว่าการเกิด Hb S และ Hb C ซึ่งทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 6 ของเบต้าโกลบินนั้น อาจส่งผลต่อการจับกันของ antibody ในเครื่องวิเคราะห์ที่ใช้หลักการ Immunoassay ได้ (15) สำหรับ Hb E พบว่ามีผลกระทบต่อการวัดค่า HbA1c ได้แตกต่างกัน รายงานวิจัยของ Nadzimah Mohd Nasir และคณะ พบค่า HbA1c ของผู้ที่เป็น Hb E trait เมื่อวัดด้วยวิธี ion-exchange HPLC จะได้ค่า HbA1c ต่ำกว่าหลักการ Immunoassay (33) ต่างจากงานของคุณปราณิต ประวัติเมืองและคณะ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันเมื่อวัดด้วย HPLC หรือ Immunoassay แต่ในรายที่เป็น Homozygous Hb E จะพบค่า HbA1c จากเครื่อง HPLC จะสูงกว่า 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Immunoassay (34) ในขณะที่งานวิจัยของ Pavai Sthaneshwar และคณะพบค่า HbA1c ที่วัดด้วยหลักการ HPLC สูงกว่าหลักการ Boronate affinity ถึง 10% (35)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากตารางข้อมูลสรุปผลการรบกวนของHb variants ของ Randie Little และคณะ พบว่าผลการรบกวนเหล่านี้จะส่งผลกระทบต่อค่าHbA1c แตกต่างกันทั้งในเครื่องวิเคราะห์ต่างหลักการและ หลักการเดียวกันแต่ต่างบริษัทเครื่องวิเคราะห์ (15) นอกจาก Hb variants 4 ชนิดที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมี Hb variants ชนิดอื่นอีกกว่า 300 ชนิดที่เกิดบนสายเบต้าโกลบิน แม้ว่าการศึกษาผล Hb variants ทุกชนิดกับเครื่องวิเคราะห์ทุกหลักการจะเป็นเรื่องยาก แต่ในปัจจุบันก็เริ่มมีการศึกษาเพิ่มขึ้นเช่น งานวิจัยของ Randie Little ที่มีการศึกษาผลของ Hb variants ที่พบน้อยจำนวน 49 ชนิด ต่อการวัดค่าHbA1c จากการวิเคราะห์ทั้งหมด 8 หลักการ (36) สำหรับในประเทศไทยมีข้อมูลของอาจารย์สุพรรณ ฟู่เจริญและคณะ แสดงความชุกของ Hb Hope และ Hb Tak ในประชากรไทยประมาณ 19% และ 14% ตามลำดับซึ่งแม้จะพบได้น้อยกว่า HbE แต่อาจมีความสำคัญและรบกวนการวัดค่า HbA1c ได้ (37)

3.2 ธาลัสซีเมีย เป็นโรคโลหิตจางที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal recessive สามารถพบได้เป็นจำนวนมากในประชากรไทยเช่นกัน(17) โดยธาลัสซีเมียเกิดจากยีนที่ผิดปกติมีผลทำให้เกิดการลด หรือไม่มีการสร้างสายโกลบิน แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายใน โดยทั่วไปในคนปกติจะมียีนแอลฟ่าทั้งหมด 4 ยีน ($\alpha\alpha$ /$\alpha\alpha$) ทำหน้าที่ในการสร้างแอลฟ่าโกลบิน และ ยีนเบต้า 2 ยีน (β/β) ทำหน้าที่สร้างเบต้าโกลบิน โดยแอลฟ่าโกลบินและเบต้าโกลบินอย่างละ 2 สาย ($\alpha_2\beta_2$) จะปฏิสัมพันธ์กันเป็นโครงสร้างของฮีโมโกลบินเอ (HbA) หากมีความผิดปกติที่ยีน α ก็จะเรียก α-Thalassemia ถ้าผิดปกติที่β ก็จะเรียก β-Thalassemia ผู้ป่วยบางรายอาจมีทั้งฮีโมโกลบินผิดปกติร่วมกับยีนที่ผิดปกติ เช่น β-thalassemia / Hb E และ ผู้ป่วย Hemoglobin H (Hb H) ซึ่งอยู่ในกลุ่มโรคแอลฟ่าธาลัสซีเมีย ความผิดปกติเหล่านี้จะทำให้เกิดความไม่สมดุลในการสร้างสายโกลบิน ได้ฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียร ทำให้เม็ดเลือดแดงอายุสั้นลง และ แตกง่าย ส่งผลให้ค่า HbA1c ต่ำกว่าความเป็นจริง (21) หรือ บางกรณีความผิดปกติเหล่านี้ก็จะส่งผลต่อการตรวจวัด HbA1c ในหลายๆหลักการด้วย (33, 34, 38, 39) ดังนั้นนักเทคนิคการแพทย์ หรือ บุคลากรที่ใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ HbA1c ทั้งแบบอัตโนมัติและ แบบ POC จำเป็นต้องรู้ถึงข้อจำกัดและข้อดีข้อเสียในการใช้เครื่องนั้นๆ รวมไปถึงแพทย์ที่ต้องมีความระมัดระวังในการใช้ค่า HbA1c เพื่อวินิจฉัย และ ควบคุมระดับน้ำตาลของผู้ป่วยเบาหวานที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติร่วมด้วย

เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ Point of Care (POC device) สำหรับการตรวจฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c)

Point of care testing (POCT) คือ การตรวจวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจ ณ จุดดูแลผู้ป่วย โดยแพทย์ พยาบาล หรือบุคลากรทางการแพทย์เป็นผู้ทำการตรวจวิเคราะห์ ที่ข้างเตียงหรือจุดดูแลผู้ป่วย (11) ปัจจุบันแนวโน้มการใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ในการทดสอบชนิดต่างๆ รวมไปถึงการวิเคราะห์ค่า HbA1c เริ่มมีมากขึ้น เนื่องจากมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ อุปกรณ์ที่ใช้มีขนาดเล็กกว่าเครื่องอัตโนมัติในห้องปฏิบัติการ ให้ผลที่รวดเร็ว ทำให้รักษาคนไข้ได้ทันท่วงที หลักการของเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ที่นิยมใช้ในท้องตลาด คือ วิธี Immunoassay และ Boronate Affinity ส่วนหลักการ HPLC และ Capillary Electrophoresis ไม่เหมาะกับอุปกรณ์เล็กๆที่เคลื่อนย้ายได้ (5) อย่างไรก็ตามแม้ว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC จะมีข้อดีมากมาย แต่ค่า HbA1c ที่วัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC จะใช้ในการติดตามระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานเท่านั้น ไม่แนะนำให้ใช้สำหรับวินิจฉัยโรคเบาหวาน เนื่องมาจากความหลากหลายของประสิทธิภาพเครื่องวิเคราะห์ (40)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่าประสิทธิภาพการวิเคราะห์ (analytical performance) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จะดีกว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC โดยทั่วไป เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ที่จำหน่ายในท้องตลาดจะต้องผ่านการรับรอง และผ่านมาตรฐานของ NGSP-DCCT แล้ว แต่จากการวิจัยของ Erna Lenters-Westra และคณะ ได้ทดสอบเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ทั้งหมด 8 ยี่ห้อ พบว่า แต่ละเครื่องมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variants; CV) ที่หลากหลาย และมีเพียง 2 เครื่องที่ผ่านเกณฑ์ของ NGSP โดยมีค่า CV < 3% เมื่อใช้ lot น้ำยาต่างกัน (12) เช่นเดียวกับการทดสอบเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ที่ใช้หลักการ Boronate affinity ในงานวิจัยของ Mark Shephard และ Malcolm Whiting ที่พบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC ที่ทดสอบมีค่า CV สูงถึง 7% (41) โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำที่ดีควรมีค่า CV < 2% (42) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ทำการเปรียบเทียบเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เช่น งานวิจัยของ Wan Mohd Zin (43) และงานวิจัยของ Petersen และคณะ (44) ทำการวัดค่า HbA1c ของคนปกติด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC พบว่าค่าที่วัดได้สอดคล้องกับค่าที่ได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยหลักการ HPLC ในขณะที่เครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC บางเครื่องจะให้ค่า HbA1c สอดคล้องกัน

กับเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ที่มีหลักการเดียวกันเท่านั้น เช่น เป็นเครื่องที่ใช้หลักการ boronate affinity เหมือนกัน หรือ เครื่องที่ใช้หลักการ Immunoassay เหมือนกัน (12) ดังนั้น การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์แบบ POC กับเครื่องวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการนั้นๆ จึงมีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อให้แน่ใจว่าค่า HbA1c มีความน่าเชื่อถือมากพอ และ สอดคล้องกับค่า HbA1c ที่ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง เพื่อให้การติดตามการรักษาผู้ป่วยเบาหวานมีประสิทธิภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

รูปแบบการวิจัย

งานวิจัยแบบ Analytical study

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมการวิจัยในคน จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (IRB No. 144/59) ในการศึกษาวิจัยนี้ได้คัดเลือกกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน และ กลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน อายุ 18 – 75 ปี ผู้ป่วยได้ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมงานวิจัยก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย

1.1 กลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) เป็นกลุ่มประชากรที่เข้ามารับการตรวจสุขภาพประจำปี และกลุ่มประชากรที่มารักษาที่คลินิกโรคเลือด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยและผ่านการทำแบบสอบถาม และ ตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ โดยใช้เกณฑ์การคัดเข้า ดังนี้

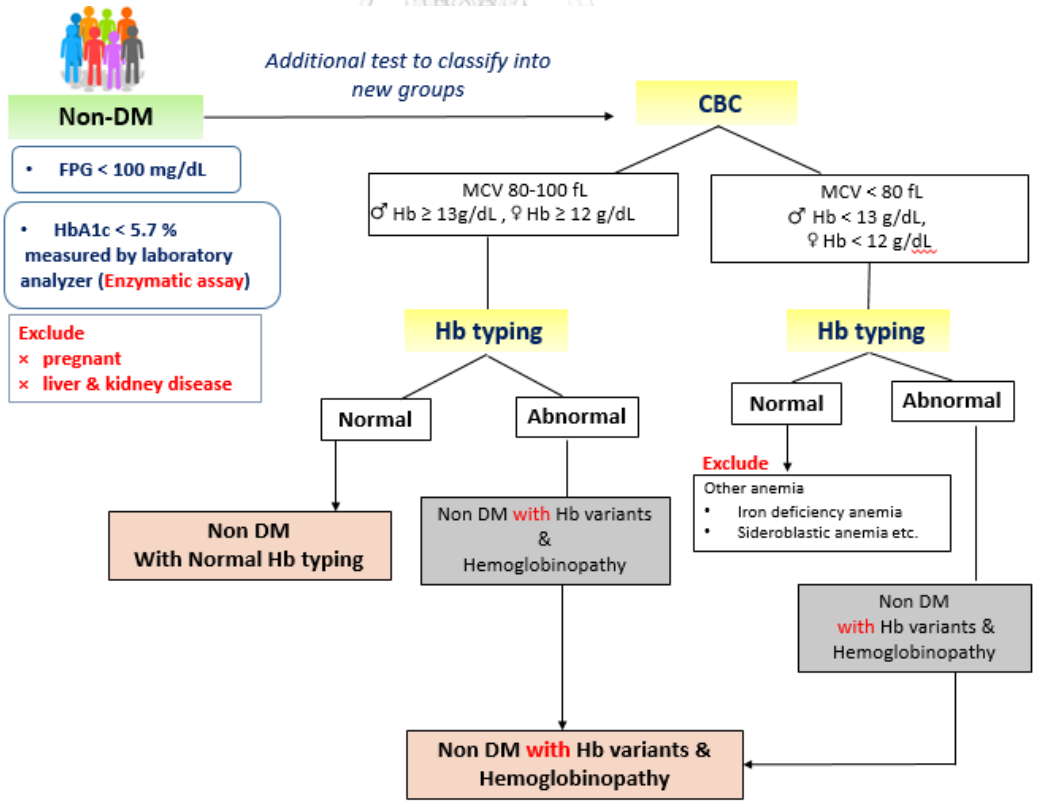
- ไม่ตั้งครรภ์
- ไม่เป็นโรคตับ และ โรคไต
- ตรวจหาค่าน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร (Fasting Plasma Glucose; FPG) โดยใช้พลาสมาที่มี Potassium oxalate NaF เป็นสารกันเลือดแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติกลาง Architect c8000 (Abbott Laboratories) คัดเลือกเฉพาะรายที่มีค่าน้ำตาลในเลือด < 100 mg/dL
- ตรวจหาค่าน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) โดยใช้ whole blood ที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติกลาง (Abbott ARCHITECT c8000) คัดเลือกเฉพาะรายที่มีค่าน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) < 5.7% ซึ่งเป็นค่าปกติของ HbA1c ที่กำหนดโดยองค์กร ADA (19)

จากนั้นนำ whole blood ที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง มาตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count; CBC) ด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ Mindray BC-6800 (Mindray Bio-Medical Electronics) ในห้องปฏิบัติการกลาง และ วิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน

(Hemoglobin typing) โดยหลักการ gel electrophoresis และหลักการ HPLC ด้วยเครื่อง Bio-Rad Variant II ที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาอายุรศาสตร์ สาขาโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ้าค่า MCV 80-100 fL และ Hb ≥ 13 g/dL ในเพศชาย หรือ Hb ≥ 12 g/dLในเพศหญิง แสดงว่ามีความปกติของเม็ดเลือดแดง และไม่มีภาวะซีด รวมถึงผลของ Hemoglobin typing ปกติ จะจัดเป็น กลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินปกติ (Non DM with Normal Hb typing) แต่ถ้ามีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน จะจัดเป็นกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Non DM with Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy)

ถ้าค่า MCV < 80 fL และ Hb < 13 g/dL ในเพศชาย หรือ Hb < 12 g/dL ในเพศหญิง แสดงว่ามีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงและมีภาวะซีด รวมถึงมีความผิดปกติของ Hemoglobin typing จัดเป็นกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Non DM with Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ส่วนกลุ่มที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติแต่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงจากภาวะซีดอื่นๆ จะไม่นำมาใช้ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้



รูปที่ 7 แสดงแผนผังการแบ่งกลุ่มตัวอย่างของกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน

1.2 กลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน

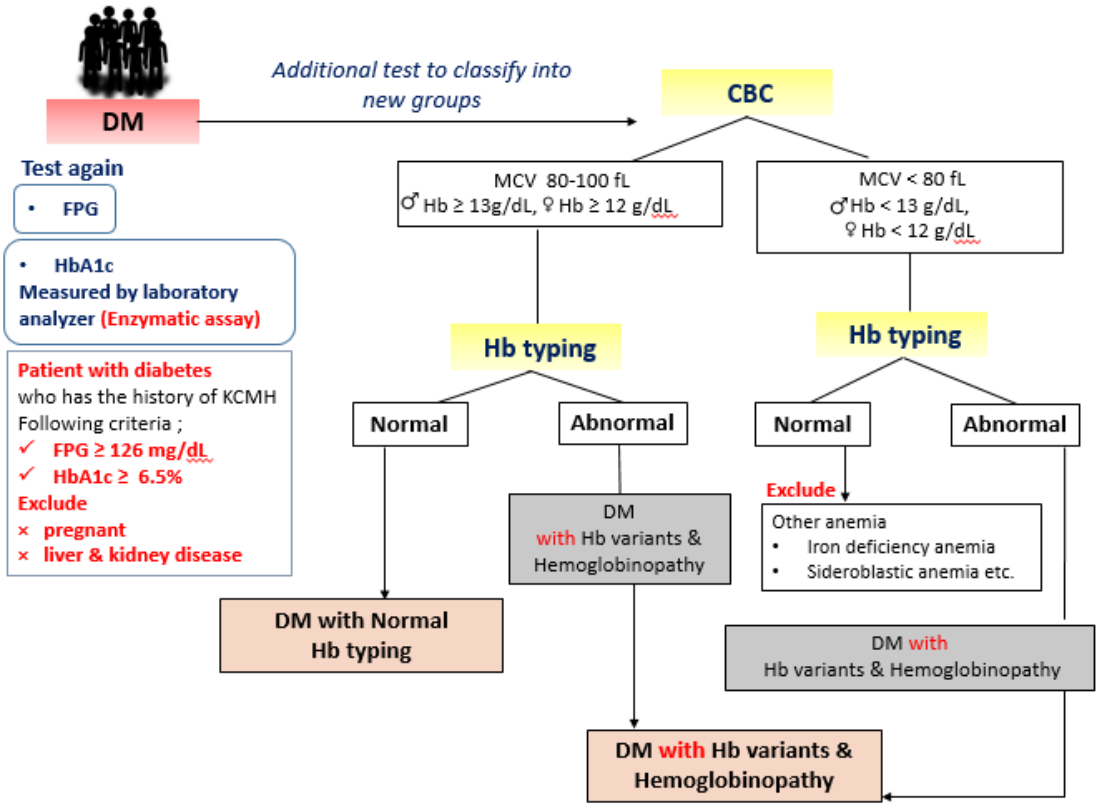
คัดเลือกจากผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานและมีประวัติการตรวจรักษาของแผนกต่อมไร้ท่อและคลินิกเบาหวาน ที่ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยกลุ่มผู้ป่วยมีการทำแบบสอบถาม และ มีประวัติผลการตรวจได้แก่ ค่าน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร (Fasting Plasma Glucose) ≥ 126 mg/dL และ ค่าน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) ≥ 6.5% กลุ่มตัวอย่างต้องไม่ตั้งครรภ์ และไม่เป็นโรคตับและโรคไต

หลังจากคัดเลือกผู้ป่วยแล้ว กลุ่มตัวอย่างจะถูกตรวจหาค่าน้ำตาลในเลือด Fasting blood glucose และตรวจวิเคราะห์ HbA1c จากนั้นนำ whole blood ที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ที่เหลือจากการทำ HbA1c มาตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด และ วิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน

ถ้า MCV 80-100 fL และ Hb ≥ 13 g/dL ในเพศชาย หรือ Hb ≥ 12 g/dLในเพศหญิง แสดงมีความปกติของเม็ดเลือดแดง และไม่มีภาวะซีด ร่วมถึงผลของ Hemoglobin typingปกติ จะจัดเป็นกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินปกติ (DM with Normal Hb typing) แต่ถ้ามีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน จะจัดเป็นกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (DM with Hemoglobin variant and Hemoglobinopathy)

ถ้า MCV < 80 fL และ Hb < 13 g/dL ในเพศชาย หรือ Hb < 12 g/dL ในเพศหญิง แสดงความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงและมีภาวะซีด ร่วมถึงมีความผิดปกติของ Hemoglobin typing จัดเป็น กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (DM with Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ส่วนกลุ่มที่มีฮีโมโกลบินปกติแต่รูปร่างเม็ดเลือดแดงผิดปกติจากภาวะซีดอื่นๆ จะไม่นำมาใช้ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้

Chulalongkorn University



รูปที่ 8 แสดงแผนผังการแบ่งกลุ่มตัวอย่างของกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน

2. เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c ที่ใช้ในการศึกษา

2.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ได้แก่ **เครื่อง Architect c8000** (Abbott Laboratories) เป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติของห้องปฏิบัติการกลาง โรงพยาบาลจุฬาฯ ใช้หลักการ Enzymatic assay ซึ่งเครื่องตรวจวิเคราะห์นี้ได้ผ่านการประเมินประสิทธิภาพเรียบร้อยแล้ว ก่อนนำมาติดตั้งให้บริการ

2.2 เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC

- **เครื่อง DCA Vantage** (Siemens Healthcare Diagnostics) ใช้หลักการ Latex immunoagglutination inhibition
- **เครื่อง Cobas b101** (Roche Diagnostics) ใช้หลักการ Latex immunoagglutination inhibition assay
- **เครื่อง Quo-Test** (Quotient Diagnostics) ใช้หลักการ Boronate Affinity Fluorescence Quenching

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1cทั้งแบบเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ และ เครื่องวิเคราะห์แบบ POC

3.1 การทดสอบความแม่นยำ (Precision study)

ทำการทดสอบทั้งแบบ within run precision คือการทำการทดสอบ 20 ครั้งภายในเวลาเดียวกัน และแบบ between run precision คือการทำการทดสอบ 20 ครั้ง ในช่วงเวลา 10 วัน (ทดสอบวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 10 วัน) โดยใช้สารควบคุมคุณภาพ (quality control samples) และตัวอย่างเลือดคนไข้ที่มีค่า HbA1c ต่ำ และสูง โดยการประยุกต์ระเบียบวิธีปฏิบัติจาก Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A3 (45) และสมาคมพยาธิวิทยาคลินิก (46)

3.2 การทดสอบลิเนียลิตี้ (Linearity study)

เป็นวิธีการทดสอบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ สามารถตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ในช่วงความเข้มข้นต่างๆได้โดยทดสอบจากชุดทดสอบลิเนียลิตี้แบบสำเร็จรูป (Linearity kit) หรือ ใช้สิ่งส่งตรวจที่มีค่า HbA1c ต่ำ มาผสมกับสิ่งส่งตรวจที่มี HbA1c สูงตามอัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ 4:0, 3:1, 2:2, 1:3 และ 0:4 ตามลำดับ แล้ววิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ครั้ง ตามขั้นตอนของ CLSI EP6 (47)

3.3 การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy study)

เพื่อประเมินเครื่องตรวจวิเคราะห์ แบบ POC มีความถูกต้องในการตรวจวิเคราะห์ผลHbA1c โดยใช้ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากโครงการ NGSP ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ทราบค่าHbA1c (Reference value) จำนวนทั้งหมด 40 ตัวอย่าง

3.4 การทดสอบความสอดคล้องของค่า HbA1c (Correlation study) ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบบPOC เทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c อัตโนมัติของห้องปฏิบัติการ

ตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ใน <u>กลุ่มตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินปกติ</u> ทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวาน (Non DM) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน (DM) รวมกันอย่างน้อย 100 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดต้องผ่านการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ และเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบบPOC โดยวิเคราะห์ตัวอย่าง ให้เสร็จทุกเครื่องภายในวันเดียวกันเปรียบเทียบความสอดคล้องกันของค่า HbA1c ของแต่ละตัวอย่างที่ได้จากเครื่อง POC กับ เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ

4. การทดสอบการรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ที่มีต่อการตรวจวัดค่า HbA1c โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติของห้องปฏิบัติการกลาง

- ตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวาน (Non DM) ที่มีฮีโมโกลบินปกติ และมีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ และเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบบ POC และเปรียบเทียบค่า HbA1c จากทั้งสองกลุ่มของแต่ละเครื่องตรวจวิเคราะห์ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ หากไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่าความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ไม่ได้รบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ถ้ามีความแตกต่างกัน แสดงว่า ความผิดปกติของฮีโมโกลบินสามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c
- ตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบบ POC และเปรียบเทียบค่า HbA1c จากทั้งสองกลุ่มของแต่ละเครื่องตรวจวิเคราะห์ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ หากไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่าความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ไม่ได้รบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ถ้ามีความแตกต่างกัน แสดงว่า ความผิดปกติของฮีโมโกลบินสามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c

5. การทดสอบเพื่อยืนยันว่าค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบPOC และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติได้ค่าตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง โดยเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ที่รับรองโดยองค์กร IFCC

ผู้วิจัยได้คัดเลือกตัวอย่างสิ่งตรวจแบบสุ่มทั้งหมด 29 ตัวอย่าง ทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินปกติ กลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน โดยเก็บตัวอย่างเลือดแต่ละรายประมาณ 500 ไมโครลิตร ไว้ที่อุณหภูมิ -70ºC เพื่อส่งไปทำการวิเคราะห์ HbA1c ด้วยวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน(HPLC-ESI/MS) ณ ประเทศญี่ปุ่น และเปรียบเทียบค่า HbA1c ระหว่างวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน กับค่าที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบPOC และเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกลาง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขนาดตัวอย่าง

- คัดเลือก กลุ่มตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินปกติ ทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน และกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานอย่างน้อย 100 ตัวอย่าง เพื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพเครื่องวิเคราะห์ และ หาค่าความสอดคล้องของค่า HbA1c ระหว่างเครื่องวิเคราะห์

- คัดเลือก กลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน และกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน ที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน สำหรับการทดสอบการรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variant and Hemoglobinopathy) ที่มีต่อการตรวจวัดค่า HbA1c เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถคำนวณขนาดตัวอย่างประชากรและชนิดของความผิดปกติของฮีโมโกลบินได้ จึงใช้วิธีการสำรวจสถิติโดยใช้ฐานข้อมูลคนไข้ของ รพ. จุฬาลงกรณ์ในผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb typing) ในช่วงปี พ.ศ. 2555 – 2558 พบว่า Hb E trait มีจำนวนมากที่สุด ประมาณ 30% ซึ่งผลการสำรวจสอดคล้องกับการศึกษาความชุกของอาจารย์สุทัศน์ ฟู่เจริญและคณะ รองลงมา คือ Homozygous HbE , Beta thalassemia trait , Beta thalassemia/ HbE และ other abnormal Hb ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้การศึกษาในครั้งนี้จะแบ่งกลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติ เป็นอย่างน้อย 5 กลุ่มย่อยตามผลการสำรวจ พร้อมทั้งความผิดปกติที่เลือกมานี้จะส่วนใหญ่มีความผิดปกติที่สายเบต้า ซึ่งน้ำตาลกลูโคสจะจับตรงบริเวณปลายของฮีโมโกลบินสายเบต้า นอกจากนั้นผลการสำรวจข้อมูลในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินร่วมด้วยในรพ. จุฬาฯ มีจำนวนค่อนข้างน้อยประมาณ 10% ของผู้ป่วย ดังนั้นในการศึกษานี้ จะคัดเลือกกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งหมดอย่างน้อย 100 คน และ กลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติอีกอย่างน้อย 100 คน โดยกำหนดให้แต่ละกลุ่มของฮีโมโกลบินผิดปกติ มีจำนวนอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 22 คำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) ในการทดสอบความแม่นยำของเครื่องตรวจวิเคราะห์ และ คำนวณหาค่าPearson linear correlation coefficient (r) ในการทดสอบความสอดคล้องกันของค่า HbA1c ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ สำหรับการเปรียบเทียบค่าHbA1c (%) ระหว่างกลุ่มที่มีฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและเป็นโรคเบาหวานจะใช้สถิติ t test หากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ และ ใช้สถิติ Mann Whitney test หากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ

บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1cทั้งแบบเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ และ เครื่องวิเคราะห์แบบ POC

1.1 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Precision study)

การทดสอบความแม่นยำจะทำทั้ง within run และ between run ดังกล่าวข้างต้น โดยเกณฑ์มาตรฐานในการประเมินความแม่นยำของการทดสอบ HbA1c จะใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%CV) ซึ่งค่า %CV ต้องน้อยกว่า 2% ในทั้งสองการทดสอบโดยใช้เกณฑ์ตามข้อกำหนดร่วมกันขององค์กร Australasian Association of Clinical Biochemists (AACB), Australian Diabetes Society (ADS), Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA), Endocrine Society of Australia (ESA) และ Australian Diabetes Educators Association(ADEA) (48) จึงจะถือว่าผ่านเกณฑ์การประเมิน โดยเกณฑ์การประเมินนี้จะใช้สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติเท่านั้น ผลการทดสอบพบว่าเครื่อง Architect c8000 ซึ่งเป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ผ่านเกณฑ์การประเมิน เนื่องจากค่า%CV ของการทดสอบwithin runอยู่ในช่วง 0.0 – 0.81 และ between run อยู่ในช่วง 0.0-0.99 (ตารางที่1) ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 2% ตามเกณฑ์มาตรฐาน

สำหรับเกณฑ์การประเมินของเครื่องวิเคราะห์แบบ POC จะใช้เกณฑ์มาตรฐานของ American Diabetes Association (ADA) (42, 49) โดยเกณฑ์การยอมรับ คือ %CV ต้องน้อยกว่า 4 % ซึ่งเกณฑ์ที่ใช้จะมีค่าที่สูงกว่าเกณฑ์ของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ เนื่องจากเครื่องวิเคราะห์แบบ POC มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนที่สูงกว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ จากผลการทดสอบ within run พบว่าเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ทั้งสามเครื่อง ได้แก่ เครื่อง DCA Vantage, เครื่อง Cobas b101 และ เครื่อง Quo-Test ผ่านเกณฑ์การประเมินของ ADA โดยมีค่า %CV อยู่ในช่วง 1.43-1.99, 1.58-3.41 และ 0.66-1.48 ตามลำดับ สำหรับผลการทดสอบ between run พบว่าค่า %CV ของเครื่อง DCA Vantage, เครื่อง Cobas b101 และ เครื่อง Quo-Test อยู่ในช่วง 1.93-3.31, 1.72-3.89 และ 1.35-2.92 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การประเมินเช่นกัน (ตารางที่1) โดยเครื่อง Quo-Test มีค่า %CV น้อยกว่า 3% ในทุกตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ ทั้งแบบ within run และ between run แสดงถึงเครื่อง Quo-Test มีความแม่นยำมากกว่า เครื่อง DCA Vantage และเครื่องCobas b101 และยังพบว่า %CV ของเครื่อง Cobas b101 มีค่ามากกว่า 3% ในการทดสอบ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ด้วยสารควบคุมคุณภาพทั้งในค่าต่ำและค่าสูง แสดงให้เห็นว่าเครื่อง POC นี้มีความแม่นยำน้อยสุดเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องวิเคราะห์แบบ POC อีกสองเครื่อง

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนโดยเปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (Architect c8000) และ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC (DCA Vantage, Cobas b101 และ Quo-Test)

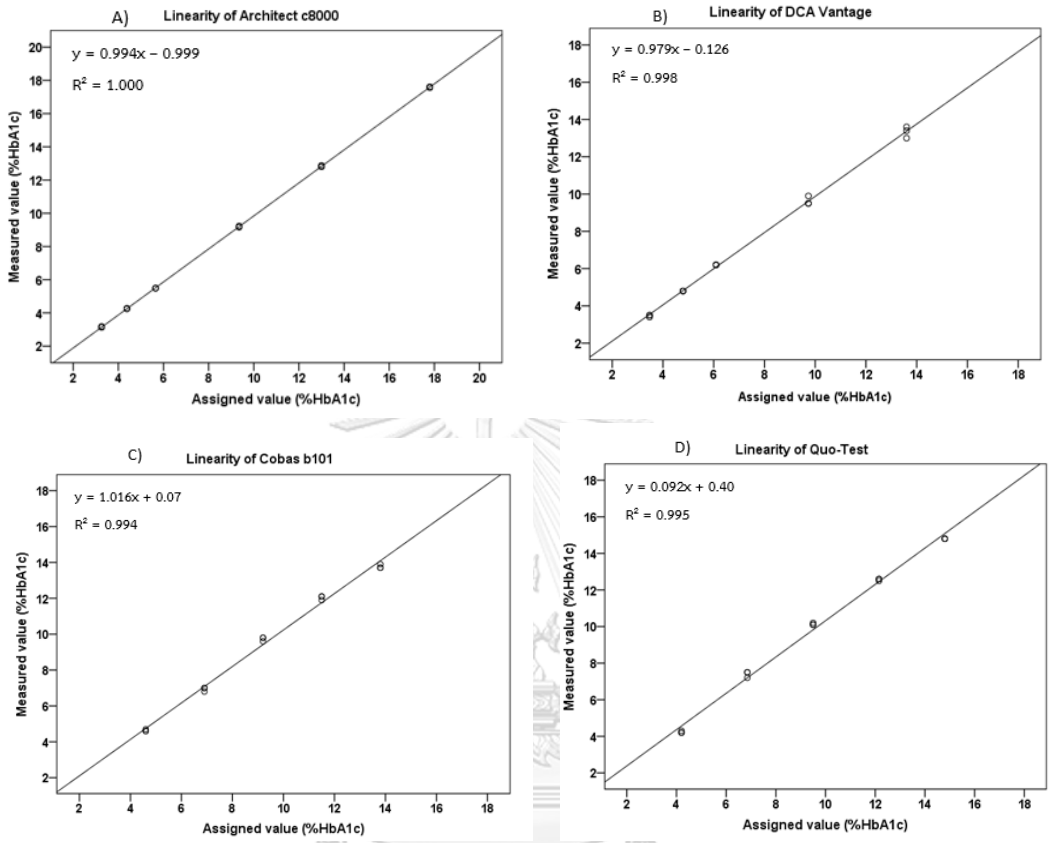
Precision	Architect c8000	DCA Vantage	Cobas b101	Quo-Test
	Mean (%CV)	Mean (%CV)	Mean (%CV)	Mean (%CV)
Within run (n=20)				
control level low	5.2 (0.43)	5.7 (1.54)	5.3 (3.41)	6.6 (0.83)
control level High	9.5 (0.00)	9.7 (1.43)	9.7 (2.30)	11.4 (0.66)
patient sample 1	5.5 (0.81)	5.2 (1.99)	5.4 (1.58)	5.2 (1.31)
patient sample 2	10.8 (0.76)	9.4 (1.65)	9.7 (1.65)	9.3 (1.48)
Between run (n=20)				
control level low	5.1 (0.99)	5.5 (2.22)	5.4 (3.89)	6.5 (1.69)
control level High	9.5 (0.00)	9.7 (2.63)	10.4 (3.03)	11.4 (2.92)
patient sample 1	5.5 (0.59)	5.2 (1.93)	5.3 (2.15)	5.3 (2.56)
patient sample 2	10.8 (0.21)	9.3 (3.31)	9.7 (1.72)	9.3 (1.35)

1.2 ผลการทดสอบลิเนียลิตี้ (Linearity study)

การทดสอบนี้เพื่อตรวจสอบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์สามารถรายงานผลตรวจวิเคราะห์ได้ตามช่วงค่าที่เครื่องวิเคราะห์กำหนด (Reportable range) ซึ่งแต่ละเครื่องตรวจวิเคราะห์จะมีช่วงค่ารายงานผลที่แตกต่างกัน สำหรับเครื่องArchitect c8000 และ เครื่อง DCA Vantage สามารถทดสอบได้โดยใช้ชุดทดสอบลิเนียลิตี้แบบสำเร็จรูป (Linearity Kit) ซึ่งชุดการทดสอบนี้จะกำหนดช่วงค่าความเข้มข้นของ HbA1c แบบเฉพาะเจาะจงของเครื่องตรวจวิเคราะห์ในแต่ละเครื่อง โดยมีทั้งหมด 6 ค่าซึ่งจะครอบคลุมอยู่ในช่วงค่ารายงานผลของเครื่องตรวจวิเคราะห์นั้นๆ แต่สำหรับเครื่อง Cobas b101 และ Quo-Test ไม่สามารถทดสอบโดยใช้ชุดทดสอบลิเนียลิตี้แบบสำเร็จรูปได้ เนื่องจากชุดทดสอบนี้ไม่มีการกำหนดช่วงค่ารายงานสำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์สองเครื่องนี้ ดังนั้นจึงต้องใช้เกณฑ์มาตรฐานของ CLSI EP6 มาทำการทดสอบแทน โดยใช้ตัวอย่างคนไข้มาผสมในอัตราส่วนต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้นในบทที่ 3 หัวข้อการทดสอบลิเนียลิตี้

ผลการทดสอบลิเนียลิตี้ พบว่า เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Architect c8000 ทดสอบแล้วได้ช่วงค่าการทดสอบ(Test range) คือ 3.2 – 17.6 % ซึ่งครอบคลุมช่วงค่าที่รายงานได้ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ (Reportable range) โดยมีค่า R^2 = 1.000 (รูปที่ 9A) สำหรับกลุ่มเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC พบว่า มีค่า R^2 ใกล้เคียงกัน คือ 0.999, 0.997 และ 0.997 ของเครื่อง DCA

Vantage, Cobas b101 และ Quo-Test ตามลำดับ (รูปที่ 9B, 9C และ 9D) ซึ่งแสดงว่าทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์สามารถรายงานค่าการทดสอบได้ครอบคลุมช่วงค่าที่เครื่องสามารถรายงานได้ (ตารางที่ 2)



รูปที่ 9 การทดสอบลิเนียลิตี้แสดงผลด้วยกราฟเส้นตรงของเครื่องตรวจวิเคราะห์ A) เครื่อง Architect c8000, B) เครื่อง DCA Vantage, C) เครื่อง Cobas b101, D) เครื่อง Quo-Test ตามลำดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2 สรุปผลการทดสอบlinearity โดยแสดงช่วงค่าที่รายงานได้ สมการเส้นตรง และ ค่า R^2 ของเครื่องตรวจวิเคราะห์

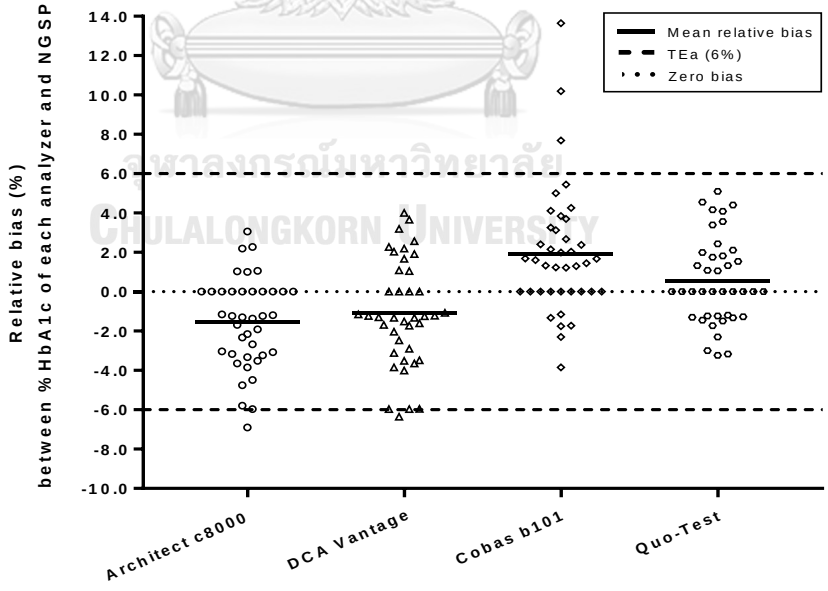
Instrument	Reportable Range (%HbA1c)	Test Range (%HbA1c)	Equation	r	R^2
Architect c8000	4.0 -15.0	3.2 – 17.6	y = 0.994x – 0.099	1.000	1.000
DCA Vantage	2.5 – 14.0	3.5 – 13.4	y = 0.979x + 0.126	0.999	0.998
Cobas b101	4.0 – 14.0	4.6 – 13.8	y = 1.016x + 0.07	0.997	0.994
Quo-Test	4.0 – 15.0	4.2 – 14.8	y = 0.992x + 0.40	0.997	0.995

Reportable range คือ ช่วงค่าที่รายงานได้ของแต่ละเครื่องตรวจวิเคราะห์ อ้างอิงจากใบแนบน้ำยาของเครื่องตรวจวิเคราะห์

Test range คือ ช่วงค่าที่ทดสอบได้ในการทดสอบ linearity

1.3 ผลการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy study)

การประเมินความถูกต้องในการตรวจวิเคราะห์ผล HbA1c โดยใช้ตัวอย่างจาก โครงการ NGSP ซึ่งเป็น สารมาตรฐานที่ทราบค่าHbA1c และใช้เป็นค่าอ้างอิง (reference value) จำนวนทั้งหมด 40 ตัวอย่าง สำหรับเกณฑ์การทดสอบความถูกต้องจะใช้เกณฑ์มาตรฐานของโครงการ NGSP โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์จะต้องตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ที่มีความคลาดเคลื่อน (relative bias หรือ %bias) ไม่เกิน ± 6% ของค่าอ้างอิง และต้องผ่านเกณฑ์อย่างน้อย 37 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 40 ตัวอย่าง (50) จากการทดสอบ พบว่า เครื่องวิเคราะห์ทั้ง 4 เครื่อง ผ่านเกณฑ์การประเมินตามโครงการ NGSP จากรูปที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของ % bias (Mean relative bias) ของแต่ละเครื่องตรวจวิเคราะห์ ถ้าค่า Mean relative bias เท่ากับ 0 หมายถึงค่าที่วัดได้มีค่าเท่ากับค่าอ้างอิง แต่หากค่าน้อยกว่าหรือมากกว่า 0 หมายถึงค่าที่วัดได้มีค่าน้อยกว่าหรือมากกว่าค่าอ้างอิง โดยพบว่าเครื่องArchitect c8000 และ DCA Vantage มีค่า Mean relative bias อยู่ที่-1.56 % และ -1.10% ตามลำดับ แสดงว่าเครื่องทั้งสองตัวนี้จะวัดค่า HbA1c ได้ค่าที่ต่ำกว่าค่าอ้างอิง สำหรับเครื่อง Cobas b101 และ Quo-Test จะวัดค่า HbA1c ได้ค่าที่สูงกว่าค่าอ้างอิง เนื่องจากมีค่า Mean relative bias อยู่ที่1.93% และ 0.54% ตามลำดับ



รูปที่ 10 กราฟ Relative bias (%) แสดงผลการเปรียบเทียบการวัดค่า HbA1c ระหว่างเครื่องวิเคราะห์แบบต่างๆกับค่าอ้างอิงจากโครงการ NGSP

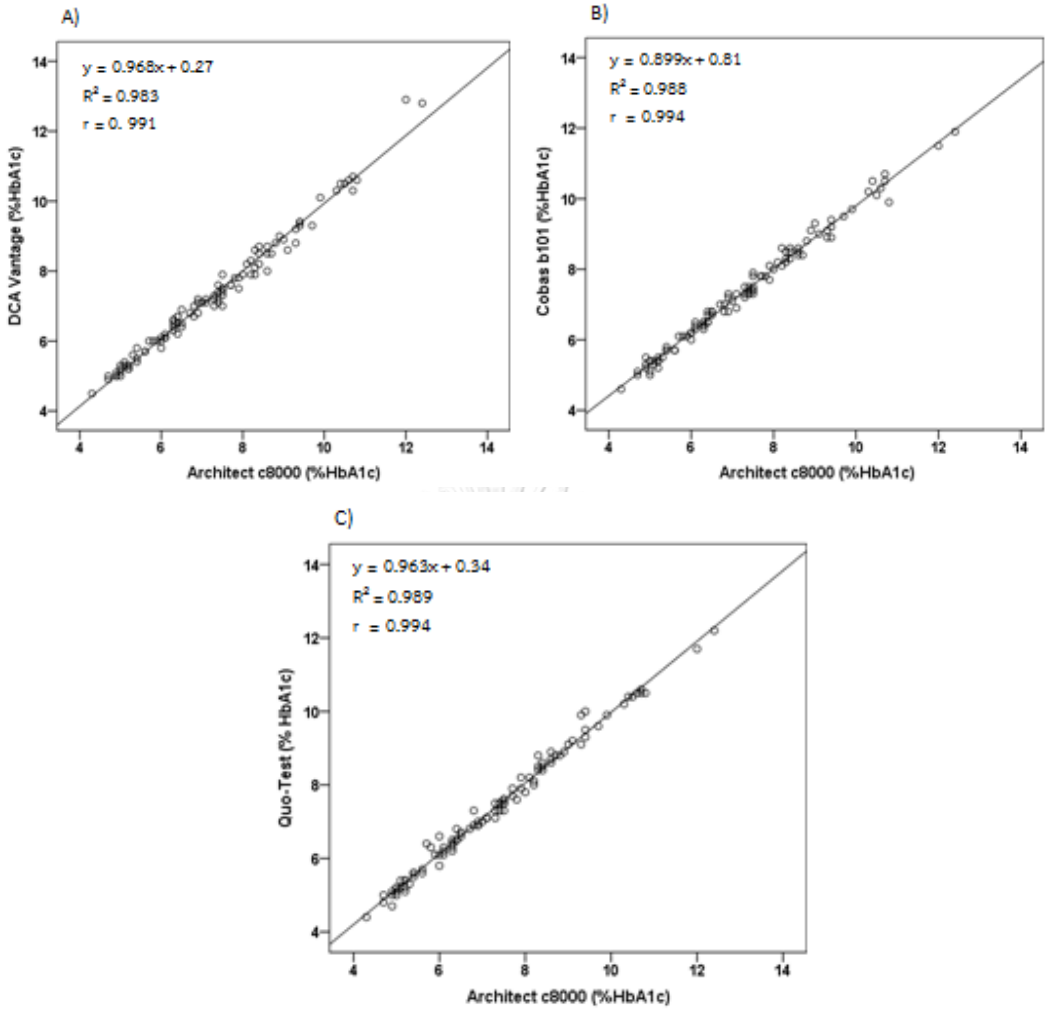
Relative bias หรือ % bias คำนวณได้จาก $\left(\frac{\text{HbA1c}(\%)_{\text{เครื่องวิเคราะห์}} - \text{HbA1c}(\%)\text{NGSP}}{\text{HbA1c}\ (\%)\text{NGSP}}\right) \times 100$

1.4 ผลการทดสอบความสอดคล้องของค่า HbA1c (Correlation study) ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบบPOC เทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c อัตโนมัติของห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความสอดคล้องของค่า HbA1c ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ กับเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ทั้งสามเครื่อง โดยใช้ตัวอย่างเลือดทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) และเป็นโรคเบาหวาน (DM) ที่มีฮีโมโกลบินปกติ รวมทั้งหมด 104 ตัวอย่าง โดยช่วงค่า HbA1c ที่นำมาทดสอบจะอยู่ระหว่าง 4.3% – 12.4% จากการทดสอบพบว่าความสอดคล้องของค่า HbA1c ระหว่างเครื่อง Architect c8000 กับเครื่อง DCA Vantage, Cobas b101 และ Quo-Test มีค่า Pearson correlation coefficient หรือ r เท่ากับ 0.991 (P<0.001), 0.994 (P<0.001), และ 0.994 (P<0.001) ตามลำดับ (รูปที่ 11) แสดงว่าเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ทั้งสามเครื่องสามารถวัดค่า HbA1c โดยมีความสอดคล้องไปในทางเดียวกันกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่า r ≥ 0.975 ตามเกณฑ์มาตรฐาน (46) แต่ค่า r ไม่สามารถบอกได้ว่าค่าที่วัดได้ของเครื่องวิเคราะห์แบบ POC จะได้ค่าเหมือนหรือแตกต่างกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติอย่างไร

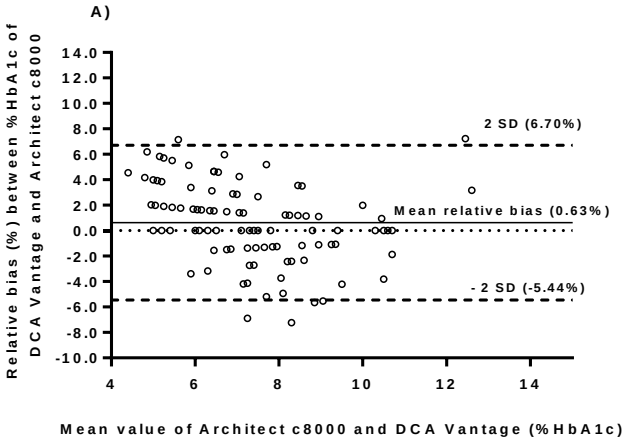
ดังนั้น กราฟ Bland- Altman plot จะแสดงให้เห็นว่าเครื่องวิเคราะห์แบบ POC เครื่องใดที่สามารถวัดค่า %HbA1c ใกล้เคียงกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติมากที่สุด หากค่าเฉลี่ยของ % bias (Mean relative bias) มีค่าเข้าใกล้ศูนย์และมีช่วง ±2 SD ของค่าเฉลี่ยของ % bias ที่แคบ หมายความว่าเครื่องวิเคราะห์แบบ POC จะวัดค่า HbA1c ได้ใกล้เคียงกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ จากผลการทดสอบพบว่าค่า Mean relative bias ระหว่างเครื่อง Architect c8000 กับ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC (รูปที่12) จากรูปที่ 12A พบว่าเครื่อง DCA Vantage มีค่า Mean relative bias ที่ต่ำที่สุด (0.63%) และ ช่วง ±2 SD ของ Mean relative bias ที่แคบที่สุด (-5.44% ถึง 6.70%) เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่อง Cobas b101 (รูปที่12B) และ เครื่อง Quo-Test (รูปที่12C) ซึ่งมีค่าMean relative bias (±2SD) เท่ากับ 1.61% (-5.21% ถึง 8.44%) และ 1.29% (-4.08% ถึง 6.65%) ตามลำดับ แสดงว่าค่า HbA1c ที่วัดได้จากเครื่อง DCA Vantage และ Architect c8000 มีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด ส่วนเครื่อง Cobas b101 จะมีค่า HbA1c แตกต่างกับเครื่อง Architect c8000 มากที่สุด

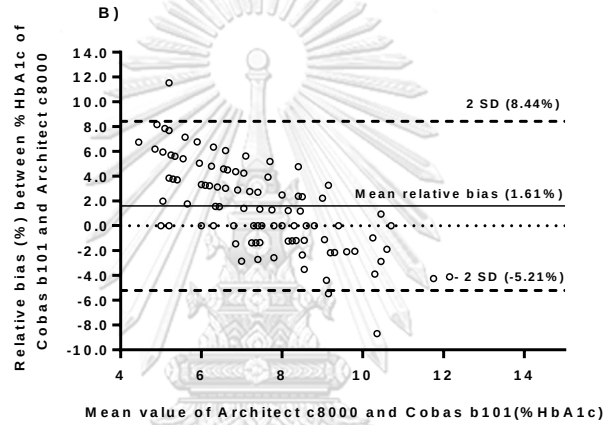
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

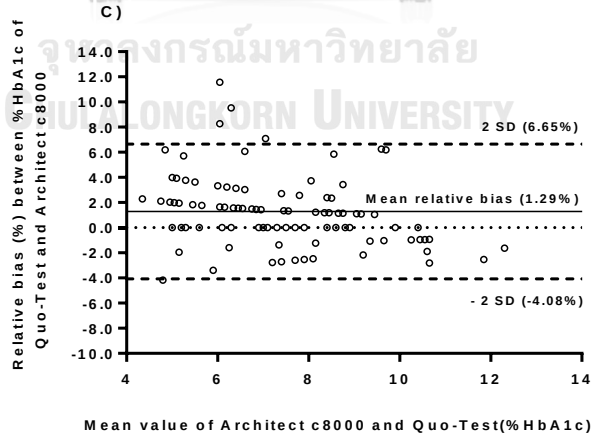


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 11 กราฟแสดงความสอดคล้องของการวัดค่า Hb1c ระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (Architect c8000) กับ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ได้แก่ DCA Vantage (A), Cobas b101 (B) และ Quo-Test (C) ตามลำดับ







จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 12 กราฟ Bland-Altman plot แสดงความแตกต่างของการวัดค่า HbA1c โดยเปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (Architect c8000) กับ เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ได้แก่ DCA Vantage (A), Cobas b101 (B) และ Quo-Test (C) ตามลำดับ

2. ผลการทดสอบการรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ที่มีต่อการตรวจวัดค่า HbA1c โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติของห้องปฏิบัติการกลาง

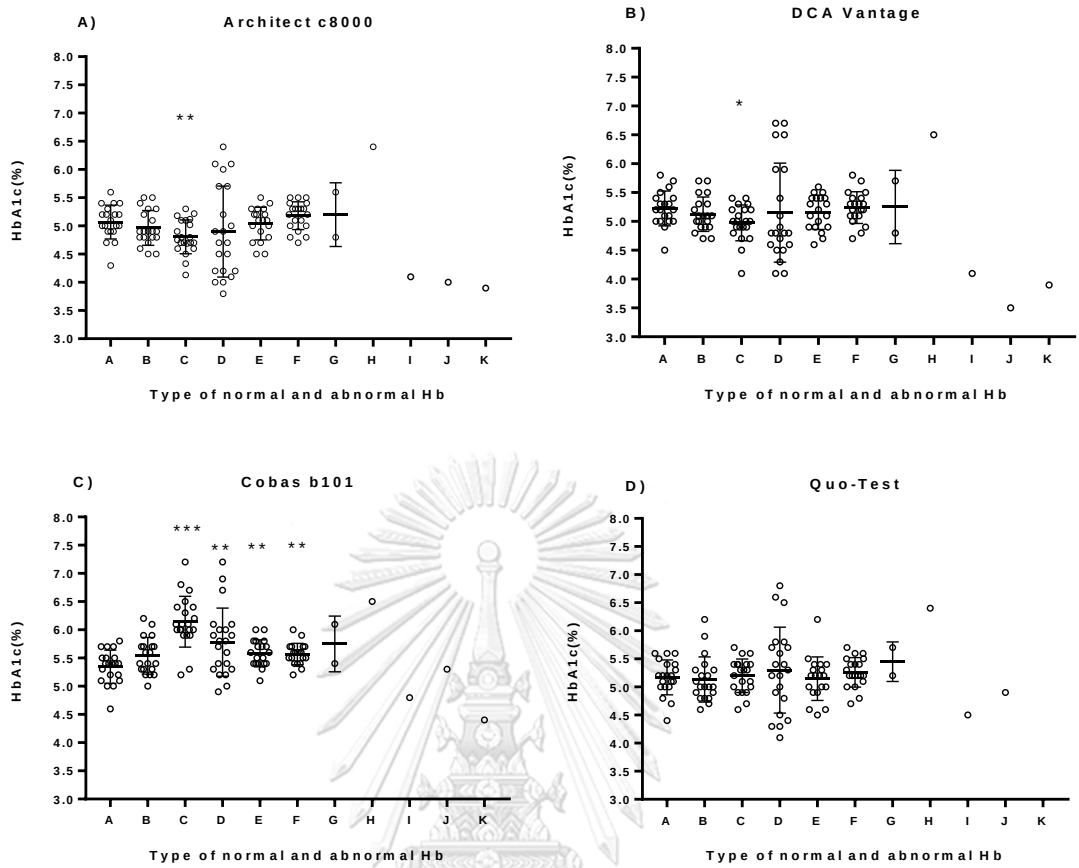
2.1 การเปรียบเทียบค่า HbA1c ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นเบาหวาน (Non DM) ระหว่างผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติกับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เครื่องตรวจวิเคราะห์ Architect c8000 และ DCA Vantage วัดค่า HbA1c ได้ค่าต่ำในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Homozygous Hb E เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.01$ และ $P< 0.05$ ตามลำดับ) (รูปที่ 13A และ 13B) สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดอื่นๆ จะให้ค่า HbA1c ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติโดยการตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองตัวนี้

สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์ Cobas b101 พบว่าค่า HbA1c ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ ได้แก่ Homozygous Hb E ($P< 0.001$), Beta thalassemia/Hb E ($P< 0.01$), Beta thalassemia trait ($P< 0.01$) และ Alpha thalassemia trait ($P< 0.01$) มีค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 13C) จากผลการศึกษาพบว่าความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆมีผลต่อการตรวจวัดค่า HbA1c ด้วยหลักการ Latex Agglutination Inhibition Immunoassay และผลการตรวจวัดที่ได้มีแนวโน้มไปทางค่าสูง ซึ่งจะส่งผลต่อการตรวจวินิจฉัยโรคเบาหวานที่ไม่ถูกต้องได้ ถึงแม้เครื่องDCA Vantage และ Cobas b101 จะเป็นหลักการเดียวกันแต่ให้ผลการวัดที่แตกต่างกัน

สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์ Quo-Test ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ แสดงว่าหลักการ Boronate Affinity Fluorescence Quenching ของเครื่องQuo-Test ไม่ได้ถูกรบกวนด้วยความผิดปกติของฮีโมโกลบิน (รูปที่ 13D)

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose; FPG) และ ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) โดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ ได้แก่ Hb E trait with Alpha thalassemia trait, Homozygous Beta thalassemia, Hb H, Hb H with Hb Constant Spring และ Homozygous Hb Constant Spring มีจำนวนตัวอย่างที่น้อยเกินไปจึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติได้



รูปที่ 13 กราฟ dot plot แสดงการเปรียบเทียบค่าHbA1c (%) และ mean ± SD (Error Bar) ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดต่างๆ ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ (**A** : Normal Typing) และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ (**B** : Hb E trait, **C** : Homozygous Hb E, **D** : Beta thalassemia/Hb E, **E** : Beta thalassemia trait, **F** : Alpha thalassemia trait, **G** : Hb E trait with Alpha thalassemia trait, **H** : Homozygous Beta thalassemia, **I** : Hb H, **J** : Hb H with Hb Constant Spring และ **K**: Homozygous Hb Constant Spring) โดยใช้สถิติ t test และ Mann Whitney test (*, **, *** แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$, $P < 0.01$ และ $P < 0.001$ ตามลำดับ)

ตารางที่ 3 ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose; FPG) และ ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) โดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ

Type of Normal and Abnormal Hb in Non-DM group	n	Mean of FPG (mg/dL) ± SD	Mean of HbA1c (%) ± SD			
			Architect c8000	DCA Vantage	Cobas b101	Quo-Test
Normal typing	20	87±8.3	5.1±0.3	5.2±0.3	5.3±0.3	5.2±0.3
Hb E trait	20	89±7.9	5.0±0.3	5.1±0.3	5.5±0.3	5.1±0.4
Homozygous Hb E	21	94±8.8	4.8±0.3	5.0±0.3	6.1±0.4	5.2±0.3
Beta thalassemia/Hb E	21	91±7.6	5.0±0.8	5.2±0.9	5.8±0.6	5.4±0.8
Beta thalassemia trait	19	92±6.2	5.0±0.3	5.2±0.3	5.6±0.2	5.1±0.4
Alpha thalassemia trait	20	93±6.0	5.2±0.2	5.2±0.3	5.6±0.2	5.3±0.3
Hb E trait with Alpha Thalassemia trait	2	94±1.4	5.2±0.6	5.3±0.6	5.8±0.5	5.5±0.4
Homozygous Beta thalassemia	1	97	6.4	6.5	6.5	6.4
Hb H	1	89	4.1	4.1	4.8	4.5
Hb H with Constant Spring (Hb H-CS)	1	86	4.0	3.5	5.3	4.9
Homozygous Hb Constant Spring	1	79	3.9	3.9	4.4	< 4.0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2 การเปรียบเทียบค่า HbA1c ใน<u>กลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM)</u> ระหว่างผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติกับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ

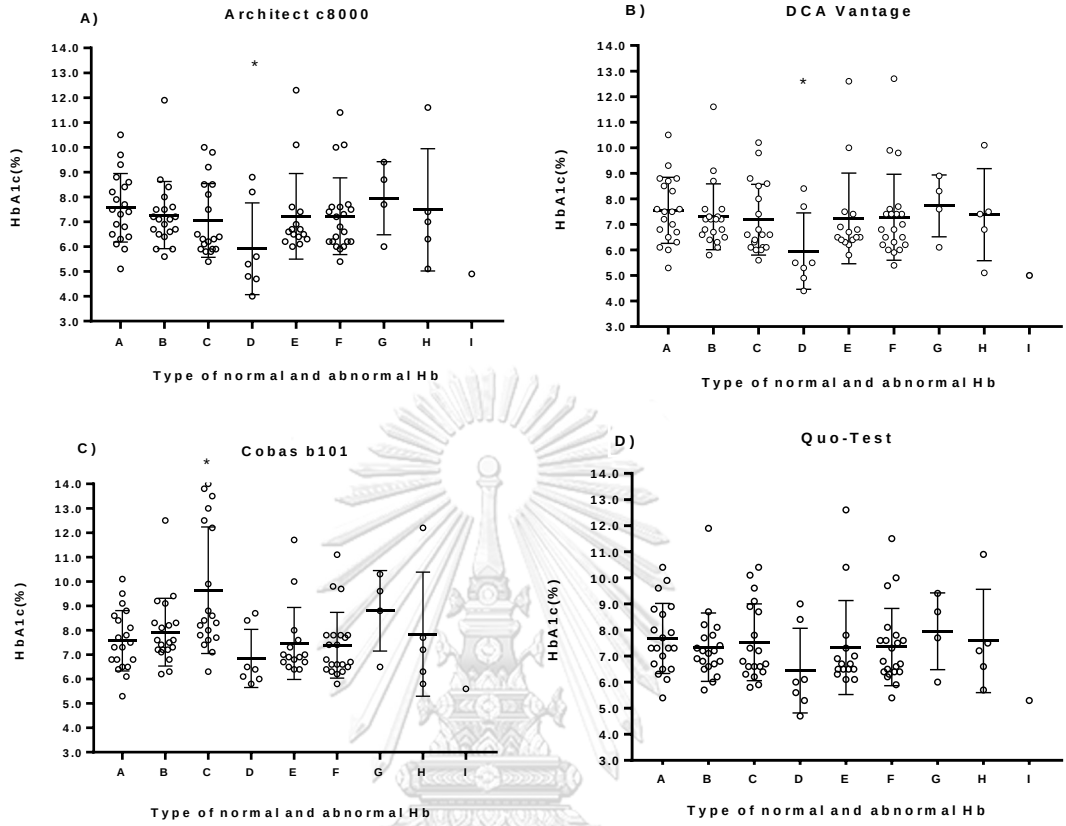
จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิด Beta thalassemia/Hb E เมื่อตรวจวัดค่าHbA1c จะได้ค่าต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติในทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์ แต่สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์ Architect c8000 และ DCA Vantage จะได้ค่าที่ต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) **(**รูปที่ 14A และ 14B ตามลำดับ**)** สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดอื่นๆ จะให้ค่า HbA1c ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติโดยการตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองตัวนี้

สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์ Cobas b101 พบว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มี Homozygous Hb E เมื่อตรวจวัดค่า HbA1c จะได้ค่าที่สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) (รูปที่ 14C) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (รูปที่ 13C) จากผลการทดลองนี้จึงสรุปว่า Homozygous Hb E สามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ด้วยหลักการ Latex Agglutination Inhibition Immunoassay ของเครื่อง Cobas b101

สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์ Quo-Test ค่า HbA1c ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติกับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินให้ค่าที่แตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญสถิติ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose; FPG) และ ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) โดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ ได้แก่ Hb E trait with Alpha thalassemia trait, Homozygous Beta thalassemia และ Hb H มีจำนวนตัวอย่างที่น้อย จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติได้ อย่างไรก็ตามจากตารางที่ 4 จะเห็นว่าค่า HbA1c ของผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มี Hb H จะมีค่า HbA1c ต่ำในทุกหลักการ โดยค่า HbA1c อยู่ในช่วงค่าปกติ และ ไม่สอดคล้องกับค่าน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 14 กราฟ dot plot แสดงการเปรียบเทียบค่าHbA1c (%) และ mean ± SD (Error Bar) ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ชนิดต่างๆ ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ (**A** : Normal Typing) และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ (**B** : Hb E trait, **C** : Homozygous Hb E, **D** : Beta thalassemia/Hb E, **E** : Beta thalassemia trait, **F** : Alpha thalassemia trait, **G** : Hb E trait with Alpha thalassemia trait , **H** : Homozygous Beta thalassemia และ **I** : Hb H) โดยใช้สถิติ t test และ Mann Whitney test (* แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$)

ตารางที่ 4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting Plasma Glucose; FPG) และ ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) โดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ

Type of Normal and Abnormal Hb in DM group	n	Mean of FPG (mg/dL) ± SD	Mean of HbA1c (%) ± SD			
			Architect c8000	DCA Vantage	Cobas b101	Quo-Test
Normal typing	20	155±44.0	7.6±1.4	7.6±1.3	7.6±1.2	7.7±1.3
Hb E trait	20	149±35.6	7.3±1.4	7.3±1.3	7.9±1.4	7.3±1.3
Homozygous Hb E	19	177±78.8	7.1±1.5	7.2±1.4	9.6±2.6	7.5±1.5
Beta thalassemia/Hb E	7	135±55.1	5.9±1.8	6.0±1.5	6.8±1.2	6.4±1.6
Beta thalassemia trait	15	138±30.0	7.2±1.7	7.2±1.8	7.5±1.5	7.3±1.8
Alpha thalassemia trait	21	144±39.4	7.2±1.5	7.3±1.7	7.4±1.4	7.3±1.5
Hb E trait with Alpha Thalassemia trait	4	144±39.4	8.0±1.5	7.7±1.2	8.8±1.7	8.0±1.5
Homozygous Beta thalassemia	5	145±44.6	7.5±2.5	7.4±1.8	7.8±2.5	7.6±2.0
Hb H	1	128	4.9	5.0	5.6	5.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. ผลการทดสอบเพื่อยืนยันว่าค่า HbA1c ที่ตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบPOC และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติได้ค่าตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง โดยเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ที่รับรองโดยองค์กร IFCC ณ ประเทศญี่ปุ่น

การศึกษาในครั้งนี้ได้คัดเลือกตัวอย่างเลือดประมาณ 29 ตัวอย่างทั้งผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติและผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆโดยส่งไปทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (HPLC-ESI/MS) ที่รับรองโดยองค์กร IFCC ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน ดังแสดงในตารางที่ 5 และ 6 ตามลำดับ

ผลการศึกษาพบว่าค่า HbA1c ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติที่วัดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC ได้ค่าที่แตกต่างกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน โดยค่า Mean relative bias แตกต่างกันไม่เกิน ±6% ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (ตารางที่ 5 และ 6 ตามลำดับ) และจากกราฟ Box plot แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยของทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์ (รูปที่ 15) ซึ่งหากใช้ค่า HbA1c ที่วัดด้วยวิธีวิเคราะห์มาตรฐานเป็นค่าอ้างอิงและใช้เกณฑ์จากโครงการ NGSP แสดงว่าค่าHbA1c ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ต้องแตกต่างไม่เกิน ±6% ของวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ก็จะถือว่าเครื่องวิเคราะห์นั้นให้ผลถูกต้องน่าเชื่อถือ

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินทั้งชนิด Hb E trait และ Homozygous Hb E เมื่อวัดค่า HbA1c ด้วยเครื่อง Cobas b101จะมีค่าที่สูงกว่าวิธีมาตรฐาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิด Homozygous Hb E จะได้ค่า HbA1c สูงกว่าวิธีมาตรฐานและมีค่า Mean relative bias ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานอยู่ที่ 17.6% (ตารางที่ 5) และในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานอยู่ที่ 26.8% (ตารางที่ 6) ซึ่งจะเห็นได้ชัดจากกราฟ Box plot ในกลุ่ม Homozygous Hb E (รูปที่ 15) ผลการทดลองนี้ให้ผลเช่นเดียวกันกับผลการเปรียบเทียบค่า HbA1c ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานระหว่างผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติกับผู้ป่วยที่มี Homozygous Hb E ดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว นอกจากนั้นยังพบว่าผู้ป่วยที่มี Hb E trait with alpha thalassemia trait ก็ให้ค่าHbA1c ที่สูงเช่นเดียวกัน (รูปที่ 15) จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า Hb E น่าจะรบกวนต่อการวัดค่า HbA1c ด้วยหลักการ Latex Agglutination Inhibition Immunoassay ของเครื่อง Cobas b101

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิด Beta thalassemia/HbE พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน เมื่อตรวจวัดค่าHbA1c ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ Architect c8000,

DCA Vantage และ Quo-Test จะได้ค่าต่ำกว่าวิธีมาตรฐานยกเว้น เครื่อง Cobas b101 ที่วัดค่า HbA1c ได้สูงกว่าวิธีมาตรฐาน (ตารางที่ 5) และสอดคล้องกับผลการเปรียบเทียบค่า HbA1c ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia/HbE จะมีค่า HbA1c สูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ แสดงว่า Beta thalassemia/HbE น่าจะรบกวนการตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c ของเครื่อง Cobas b101 แต่ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน พบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ทุกเครื่องวัดค่า HbA1c ได้ค่าต่ำกว่าวิธีมาตรฐาน โดยเฉพาะเครื่อง Architect c8000 และเครื่อง DCA Vantage ให้ค่าต่ำกว่าวิธีมาตรฐานค่อนข้างมาก โดยมีค่า Mean relative bias เท่ากับ -25.0% และ -25.5% ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับผลการการเปรียบเทียบค่า HbA1c ในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia/Hb E เมื่อตรวจวัดค่าHbA1c จะได้ค่าต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ แสดงว่า Beta thalassemia/Hb E น่าจะรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ของเครื่อง Architect c8000 และ เครื่อง DCA Vantage ซึ่งจะเห็นได้ชัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิด Beta thalassemia trait และ Alpha thalassemia trait พบว่าค่า HbA1c ที่วัดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทุกเครื่องได้ค่าที่แตกต่างกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน โดยมีค่า Mean relative bias แตกต่างกันไม่เกิน ±6% ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (ตารางที่ 5 และ 6) หากใช้เกณฑ์ของโครงการ NGSP ดังที่กล่าวข้างต้นแล้ว แสดงว่าเครื่องวิเคราะห์ทุกเครื่องให้ผลไม่แตกต่างกันมาก แต่อย่างไรก็ตาม จากผลการเปรียบเทียบค่า HbA1c ในผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia trait และ Alpha thalassemia trait เมื่อตรวจวัดค่าHbA1c ด้วยเครื่อง Cobas b101จะได้ค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ ดังนั้นหากใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์นี้ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia trait และ Alpha thalassemia trait อาจทำให้ได้ค่า HbA1c ที่สูงปลอม

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิด Homozygous Beta thalassemia พบว่าทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์จะให้ผลการวัดที่ต่ำกว่าวิธีวิเคราะห์มาตรฐานค่อนข้างมาก จากผลการทดสอบพบว่าแต่ละเครื่องวิเคราะห์ให้ค่า Mean relative bias ตั้งแต่ -16.7 ถึง -17.9% ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (ตารางที่ 5) และ ให้ค่า Mean relative bias ตั้งแต่ -27.3% ถึง -30.0% ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (ตารางที่ 6) เมื่อย้อนกลับไปดูผลข้อมูลดิบในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานพบว่าวิธีวิเคราะห์มาตรฐานวัดค่า HbA1c ได้ 7.8% ได้ค่าที่สูงกว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ทุกเครื่องที่วัดค่า HbA1c ได้ตั้งแต่ 6.4-6.5% ซึ่งทุกค่ามีค่าสูงกว่าช่วงค่าอ้างอิงของกลุ่มคนที่ไม่ได้เป็น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โรคเบาหวาน (4.0%-5.6%) แสดงถึงผลที่ได้เป็นค่าสูงปลอม และในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานพบว่าวิธีวิเคราะห์มาตรฐานให้ค่าเฉลี่ยของHbA1c สูงถึง 11.9% ซึ่งสูงกว่าค่าที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ทุกเครื่องโดยมีค่าHbA1c ตั้งแต่ 8.3% ถึง 8.7% จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า Homozygous Beta thalassemia สามารถรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ของทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์รวมทั้งวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน Hb H จากกราฟ Box plot พบว่าเครื่อง Architect c8000 และ DCA Vantage ให้ค่า Mean relative bias ไปทางลบ แต่ให้ผลตรงกันข้ามกับเครื่อง Cobas b101 และ Quo-Test ที่ให้ค่า Mean relative bias ไปทางบวก เมื่อพิจารณาข้อมูลในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานพบว่าวิธีมาตรฐานวัดค่า HbA1c ได้ 4.1% สอดคล้องกับข้อมูลของทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่วัดค่า HbA1c อยู่ในช่วงค่าอ้างอิงของกลุ่มคนที่ไม่ได้เป็นโรคเบาหวาน (4.0%-5.6%) ดังแสดงในตารางที่ 3 และ ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานพบว่าวิธีมาตรฐานวัดค่า HbA1c ได้ 4.9% และให้ผลเช่นเดียวกับเครื่องวิเคราะห์อื่นๆ โดยมีค่าHbA1c ตั้งแต่ 4.9% ถึง 5.6% ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งค่าที่ได้จะต่ำกว่าความเป็นจริงเมื่อเปรียบเทียบกับระดับน้ำตาลในเลือด (128 mg/dL) แสดงว่า Hb H สามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ในทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์และให้ผลต่ำปลอม ซึ่งจะมีผลกระทบอย่างยิ่งต่อแพทย์ในการแปลผลเพื่อการวินิจฉัยและติดตามผลการรักษาของผู้ป่วยโรคเบาหวาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

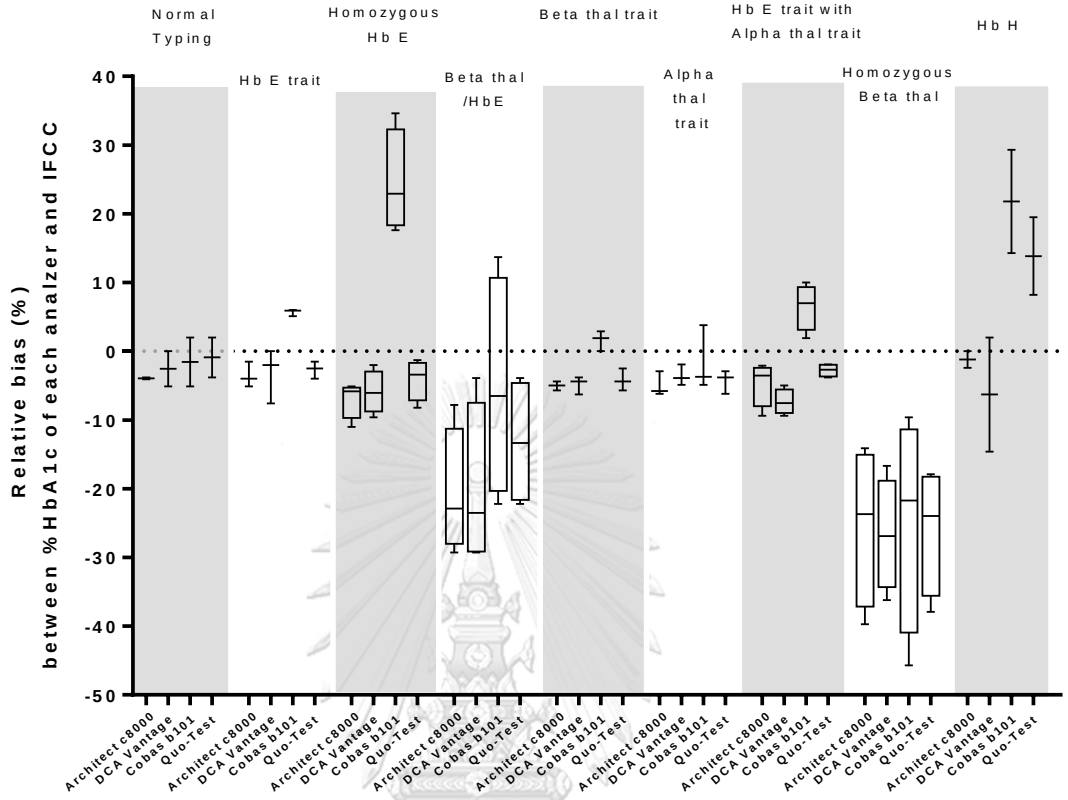
ตารางที่ 5 ตารางแสดงค่า Mean relative bias (%) เปรียบเทียบระหว่างค่า HbA1c (%)ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบต่างๆกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานจากองค์กร IFCC ในกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานโดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ

Type of Abnormal Hb in Non DM group	n	Mean Relative bias (%)			
		Architect c8000	DCA Vantage	Cobas b101	Quo-Test
Normal typing	1	-4.1	0.0	2.0	2.0
Hb E trait	1	-4.0	-2.0	6.0	-4.0
Homozygous Hb E	1	-5.9	-2.0	17.6	-3.9
Beta thalassemia/Hb E	1	-7.8	-3.9	13.7	-3.9
Beta thalassemia trait	1	-5.7	-3.8	1.9	-5.7
Alpha thalassemia trait	1	-5.8	-1.9	3.8	-3.8
Hb E trait with Alpha Thalassemia trait	1	-9.4	-9.4	1.9	-1.9
Homozygous Beta thalassemia	1	-17.9	-16.7	-16.7	-17.9
Hb H	1	-2.4	-14.6	29.3	19.5

ตารางที่ 6 ตารางแสดงค่า Mean relative bias (%) เปรียบเทียบค่า HbA1c (%)ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบต่างๆกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานจากองค์กร IFCC ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยจำแนกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ กลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ

Type of Abnormal Hb in DM group	n	Mean Relative bias (%)			
		Architect c8000	DCA Vantage	Cobas b101	Quo-Test
Normal typing	1	-3.8	-5.1	-5.1	-3.8
Hb E trait	2	-3.3	-3.8	5.5	-2.0
Homozygous Hb E	3	-7.3	-7.2	26.8	-4.1
Beta thalassemia/Hb E	3	-25.0	-25.5	-11.7	-16.3
Beta thalassemia trait	2	-4.7	-5.3	1.5	-3.5
Alpha thalassemia trait	2	-4.5	-4.4	-4.3	-4.5
Hb E trait with Alpha Thalassemia trait	3	-3.1	-6.7	8.0	-3.1
Homozygous Beta thalassemia	3	-27.8	-30.0	-27.3	-28.6
Hb H	1	0.0	2.0	14.3	8.2

CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 15 กราฟ Box plot แสดงค่า Relative bias (%) โดยเปรียบเทียบระหว่างค่า HbA1c ที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบต่างๆกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานจากองค์กร IFCC ของทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและผู้ป่วยโรคเบาหวานโดยจำแนกตามชนิดของฮีโมโกลบิน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและเครื่องวิเคราะห์แบบ POC พบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Architect c8000 ที่ใช้หลักการ Enzymatic มีความแม่นยำสูงมาก เนื่องจากมีค่า %CV < 2% ซึ่งผลดังกล่าวใกล้เคียงกับผลของ Teodoro-Morrison และคณะ (28) ในขณะที่เครื่องวิเคราะห์แบบ POC ทั้ง 3 เครื่อง ได้แก่ เครื่อง DCA Vantage , Cobas b101 และ Quo-Test มี %CV ที่สูงกว่าเครื่อง Architect c8000 แสดงถึงความแม่นยำที่น้อยกว่าเครื่อง Architect c8000 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มเครื่องวิเคราะห์แบบ POC จะพบว่าเครื่อง Quo-Test มีความแม่นยำมากที่สุดโดยมีค่า %CV < 3% เช่นเดียวกับผลของ Lenters-Westra และ Slingerland (13) สำหรับผลทดสอบความถูกต้องโดยการเปรียบเทียบค่า HbA1c ที่วัดได้จากเครื่องวิเคราะห์กับค่าอ้างอิงจาก NGSP พบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ทุกเครื่องที่ใช้ในงานวิจัยนี้ผ่านเกณฑ์การประเมินของ NGSP โดยมีค่า %bias ไม่เกิน ± 6% ของค่าอ้างอิง ไม่น้อยกว่า 37 ตัวอย่างจาก 40 ตัวอย่าง แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าเครื่องวิเคราะห์แต่ละเครื่องจะให้ค่า Mean relative bias ไปในทิศทางที่ต่างกัน โดยเครื่อง Architect c8000 และ DCA Vantage ให้ค่า Mean relative bias ติดลบ แสดงว่าเครื่องทั้งสองตัวนี้จะวัดค่า HbA1c ได้ค่าที่ต่ำกว่าค่าอ้างอิง สำหรับเครื่อง Cobas b101 และ Quo-Test จะวัดค่า HbA1c ได้ค่าที่สูงกว่าค่าอ้างอิง เนื่องจากมีค่า Mean relative bias เป็นบวก จากผลดังกล่าวพบว่าเครื่องวิเคราะห์ DCA Vantage และ Cobas b101 ซึ่งเป็นหลักการ Latex immunoagglutination inhibition assay เหมือนกัน แต่ให้ค่า Mean relative bias ไปในทิศทางที่แตกต่างกัน สำหรับการทดสอบ linearity ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดพบว่าช่วงค่าต่ำและสูงในการทดสอบมีความเป็นเส้นตรงโดยมีคา R^2 เข้าใกล้ 1 และ ช่วงค่าที่ทดสอบอยู่ในช่วงค่าที่อ้างอิง (reportable range) สำหรับการทดสอบความสอดคล้องของค่าHbA1c จากกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ โดยเปรียบเทียบ ค่า HbA1c ที่วัดด้วยเครื่องวิเคราะห์หลักในห้องปฏิบัติการกับเครื่องวิเคราะห์แบบ POC จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ป่วยเนื่องจากไม่ว่าจะตรวจวัดค่า HbA1c ด้วยเครื่องวิเคราะห์แบบ POC หรือ เครื่องวิเคราะห์หลักในห้องปฏิบัติกลางจะให้ผลที่ใกล้เคียงกัน ทำให้เป็นประโยชน์ในการติดตามการรักษา ซึ่งจากการทดสอบพบว่าเครื่อง DCA Vantage มีค่า Mean relative bias ต่ำที่สุดแสดงถึงค่า HbA1c ที่วัดได้จากเครื่อง DCA Vantage และ Architect c8000 มีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุดแม้จะเป็นเครื่องวิเคราะห์ที่มีหลักการต่างกัน จากรายงานวิจัยของ Jean Szymezak และคณะ ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ DCA Vantage พบว่าได้ค่า %CV < 4.0% สำหรับการทดสอบ within run precision และ between run

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

precision ซึ่งใกล้เคียงกับผลการทดสอบในงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ยังพบว่าค่า HbA1c ที่วัดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ DCA Vantage ยังสอดคล้องกันดีกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติที่ใช้หลักการ HPLC (51) รวมไปถึง หลักการ Boronate affinity และ Immunoassay ด้วย (13)

นอกเหนือจากหลักการของการตรวจวิเคราะห์ HbA1c และประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่มีผลต่อการวัดค่า HbA1c ยังมีความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ (Hemoglobin variants and Hemoglobinopathy) ที่อาจจะรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c และทำให้ได้ค่า HbA1c สูง หรือ ต่ำกว่าความเป็นจริง การศึกษาในครั้งนี้ได้ทดสอบการรบกวนของความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆที่มีผลต่อการตรวจวัด HbA1c ของเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบ POC และ เครื่องวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ พบว่าความผิดปกติของ Hb E trait ไม่รบกวนต่อการวัดค่า HbA1c ของทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์เนื่องจากค่า HbA1c ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติ ซึ่งผลการทดสอบนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (52) แม้ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่อง Cobas b101 วัดค่า HbA1c ได้แนวโน้มไปทางค่าสูงกว่ากลุ่มที่มีฮีโมโกลบินปกติแต่ ค่าที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และ ค่าที่วัดได้สูงกว่าวิธีมาตรฐานแต่ ไม่เกิน 6% ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์ยอมรับของ NGSP โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการแปลผลเพื่อการวินิจฉัยโรคเบาหวาน เพราะค่าที่ได้สำหรับคนที่ไม่เป็นโรคเบาหวานยังอยู่ในช่วงค่าปกติ และสำหรับคนที่เป็นโรคเบาหวาน ค่าที่ได้จะอยู่ในช่วงเกินค่าปกติและสอดคล้องกับค่าน้ำตาลในเลือด ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้แตกต่างกับงานวิจัยของ Lenters-Westra และ Slingerland (13) ที่พบว่าค่า HbA1c ในกลุ่ม Hb E trait ที่วัดได้จากเครื่อง Cobas b101 ให้ค่าสูงปลอมถึง 17.1 % ซึ่งส่งผลต่อการวินิจฉัยโรคเบาหวานและมีผลทำให้เกิดการรักษาที่เกินความจำเป็น

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มี Homozygous Hb E พบว่า Homozygous Hb E ไม่รบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ของเครื่อง Quo-Test ที่ใช้หลักการ Boronate Affinity แต่สามารถรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ของเครื่อง Architect c8000 และ DCA Vantage ทำให้ได้ค่าต่ำเล็กน้อย สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งแสดงผลกระทบของ Homozygous Hb E ต่อการวัด HbA1c ทำให้ได้ค่าต่ำเมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Immunoassay (53) แต่ค่า HbA1c ที่ต่ำลงเล็กน้อยไม่ส่งผลกระทบต่อการแปลผลเพื่อการวินิจฉัยโรคเบาหวาน เพราะค่าที่ได้สำหรับคนที่ไม่เป็นโรคเบาหวานยังอยู่ในช่วงค่าปกติ และสำหรับคนที่เป็นโรคเบาหวาน ค่าที่ได้จะอยู่ในช่วงเกินค่าปกติและสอดคล้องกับค่าน้ำตาลในเลือด ในขณะที่ Homozygous Hb E ส่งผลรบกวนต่อการวัดค่า HbA1c ของเครื่อง Cobas b101 ทำให้ได้ค่าสูงเกินความจริง ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคเบาหวานและผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน แม้ว่าเครื่อง DCA Vantage กับ Cobas b101 ใช้หลักการ Immunoassay เหมือนกัน แต่ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ที่แตกต่างกันมากโดยเฉพาะในกลุ่มผู้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ที่มี Homozygous Hb E ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากความจำเพาะของ antibody ที่แตกต่างกันของเครื่องวิเคราะห์ ดังนั้นเครื่อง Cobas b101 จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในพื้นที่ที่มีประชากรที่มีความชุกของ Hb E trait และ Homozygous Hb E เพราะจะส่งผลต่อการติดตามการรักษาของผู้ป่วยโรคเบาหวานได้

ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia/Hb E พบว่าความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดนี้จะรบกวนการวัดค่า HbA1c ได้ในหลายๆหลักการ แต่พบว่า Beta thalassemia / Hb E รบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ของ เครื่อง Architect c8000 และ DCA Vantage มากกว่าเครื่องอื่นๆ ทำให้เกิดค่าต่ำปลอมค่อนข้างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยโรคเบาหวาน เนื่องจากค่า HbA1c จะต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินปกติและไม่สัมพันธ์กับระดับน้ำตาลในเลือด โดยทั่วไปแล้วผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia/Hb E จะเกิดสภาวะซีด (54, 55) เนื่องจากมีการทำลายของเม็ดเลือดแดง ทำให้อายุเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงสั้น ส่งผลให้ค่า HbA1c ต่ำ (21) ดังนั้นผู้ป่วยในกลุ่มนี้ควรมีค่า HbA1c ต่ำกว่าความเป็นจริงทั้งในผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคเบาหวานและผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบค่า HbA1c ต่ำกว่าความเป็นจริงในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคเบาหวาน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มี Beta thalassemia / Hb E มีจำนวนค่อนข้างน้อย จึงควรทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มีจำนวนมากขึ้น รวมไปถึงการศึกษาปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดค่า HbA1c ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคเบาหวาน และกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานที่มี Beta thalassemia/ Hb E ได้แตกต่างกัน

สำหรับความผิดปกติของ Homozygous Beta thalassemia พบว่าสามารถรบกวนการตรวจวัดค่า HbA1c ของทุกเครื่องตรวจวิเคราะห์รวมทั้งวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ทำให้เกิดค่าสูงปลอมทั้งกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน โดยค่า HbA1c ไม่สอดคล้องกับระดับน้ำตาลในเลือด เนื่องจากผู้ป่วยในกลุ่มนี้จะมีสภาวะซีดจากการทำลายเม็ดเลือดแดง (56) ดังนั้นค่า HbA1c ควรจะต่ำกว่าเป็นจริง แต่การศึกษาในครั้งนี้พบว่าค่า HbA1c สูงเกินกว่าความเป็นจริงทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวานและผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่า HbA1c ไม่ควรนำมาใช้ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Homozygous Beta thalassemia อย่างไรก็ตามเนื่องจากจำนวนตัวอย่างมีค่อนข้างน้อย จึงควรมีการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นเพื่อยืนยันผลการทดสอบ รวมทั้งการศึกษา RBC survival (57) ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia / Hb E และ Homozygous Beta thalassemia ก่อนนำมาทดสอบค่า HbA1c ในการศึกษาครั้งถัดไป

สำหรับผู้ป่วยที่มี Hb H ซึ่งเป็นความผิดปกติของสายแอลฟ่า จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า Hb H สามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ HPLC ทำให้ได้ค่า HbA1c ที่สูงปลอมได้ เนื่องมาจากกราฟของ Hb H กับ HbA1c มีการซ้อนทับกัน (38) แต่ในการศึกษานี้พบว่า Hb H มี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลทำให้ค่า HbA1c ต่ำปลอมในทุกหลักการรวมทั้งวิธีมาตรฐาน และไม่สอดคล้องกับระดับน้ำตาลในเลือด ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคเบาหวานและผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน ซึ่งผลดังกล่าวอาจเกิดจากการที่ผู้ป่วยมียีนแอลฟ่าเพียงหนึ่งยีน ทำให้มีปริมาณแอลฟ่าโกลบินลดลง และ เบต้าโกลบินที่มีปริมาณมากสามารถจับกันเป็นโครงสร้าง tetramer (β_4) ซึ่งไม่สามารถขนส่งออกซิเจนได้ นอกจากนี้ เม็ดเลือดแดงที่มี Hb H จะไวต่อการเกิด Oxidative stress จึงทำให้เม็ดเลือดแดงไม่เสถียร เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงได้ง่าย (56, 58) ส่งผลให้อายุของเม็ดเลือดแดงสั้นลง เพราะฉะนั้นไม่ควรนำค่า HbA1c มาใช้ในการวินิจฉัยหรือติดตามผลการรักษาของผู้ป่วยโรคเบาหวานในผู้ป่วยกลุ่มนี้ อย่างไรก็ตาม ควรทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้นเพื่อยืนยันผลการทดสอบ เช่นเดียวกับกลุ่มผู้ป่วยที่มี Beta thalassemia / Hb E และ Homozygous Beta thalassemia นอกจากนี้ ในการศึกษาครั้งหน้าควรมีการทดสอบในหลักการ HPLC และ/หรือ Capillary Electrophoresis ร่วมด้วย เนื่องจากจะทำให้สามารถเห็นกราฟของฮีโมโกลบินผิดปกติได้ (6)

จากการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ มีการแนะนำให้ดูผลของการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยเพื่อช่วยคัดกรองความผิดปกติของฮีโมโกลบินก่อนที่จะนำเลือดผู้ป่วยไปตรวจวิเคราะห์ค่า HbA1c เนื่องจากความผิดปกติของฮีโมโกลบินบางชนิด มีผลต่อการวัดค่า HbA1c ได้ทั้งค่าที่สูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริงซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดความผิดปกติของฮีโมโกลบิน หลักการของการตรวจวิเคราะห์ HbA1c และ ประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ ดังนั้น ผู้ป่วยที่มีค่า MCV < 80 fL และ/หรือ MCH < 27 pg จากผลการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง ผู้ป่วยกลุ่มนี้ควรได้รับการตรวจวินิจฉัยพาหะของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ(17) เพื่อเป็นประโยชน์แก่ผู้ป่วย และ แพทย์ในการใช้ค่า HbA1c เพื่อวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคเบาหวาน

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี Hb E trait, Beta thalassemia trait, Alpha thalassemia trait และ Hb E trait with Alpha Thalassemia trait สามารถใช้ค่า HbA1c ในการตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามการรักษาผู้ป่วยเบาหวานได้ แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการพิจารณาค่าอ้างอิง และ ค่า cut off ของฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิด และ แต่ละเครื่องวิเคราะห์หากสามารถทำได้ เนื่องจากค่า HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ได้มีความแตกต่างระหว่างเครื่องวิเคราะห์ถึงแม้จะหลักการเดียวกันก็ตาม ในกรณีที่ผู้ป่วยมีฮีโมโกลบินผิดปกติที่มีผลทำให้อายุของเม็ดเลือดแดงสั้นลง อาจพิจารณาใช้ค่า fructosamine, 1,5-anhydroglucitrol (1,5-AG) หรือ continuous glucose monitoring (CGM) ในการตรวจติดตามรักษาโรคเบาหวานแทนการใช้ค่า HbA1c (58)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. WHO IDF. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. Report of a WHO/IDF consultation. 2006:50.
2. Weykamp C. HbA1c: a review of analytical and clinical aspects. Annals of laboratory medicine. 2013;33(6):393-400.
3. International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas 8th edition 2017. [updated 2017; cited 2018 May 1]. Available from: http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html.
4. สำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค. จำนวนและอัตราผู้ป่วยในโรคไม่ติดต่อ ประจำปีปฏิทิน พ.ศ. 2558- 2559. [เข้าถึงเมื่อ 5 พ.ค. 2561]. เข้าถึงได้จาก: http: / / thaincd. com/ 2016/ mission/ documents. php?tid= 32&gid= 1-020&searchText=จำนวนและอัตราผู้ป่วยในโรคไม่ติดต่อ.
5. Ang SH, Thevarajah M, Alias Y, Khor SM. Current aspects in hemoglobin A1c detection: a review. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2015;439:202-11.
6. Weykamp C, John WG, Mosca A. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c. Journal of diabetes science and technology. 2009;3(3):439-45.
7. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin- dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The New England journal of medicine. 1993;329(14):977-86.
8. Group UKPDS. Intensive blood- glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). The Lancet. 1998;352(9131):837-53.
9. Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2010;33(Suppl 1):S62-S9.
10. NGSP. Certified Methods and Laboratories 2018 [cited 2018 May 7]. Available from: http://www.ngsp.org/certified.asp.
11. National Institute of Biomedical I, Bioengineering/ National Heart L, Blood Institute/ National Science Foundation Workshop F, Price CP, Kricka LJ.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Improving healthcare accessibility through point-of-care technologies. Clinical chemistry. 2007;53(9):1665-75.

12. Lenters-Westra E, Slingerland RJ. Six of eight hemoglobin A1c point-of-care instruments do not meet the general accepted analytical performance criteria. Clinical chemistry. 2010;56(1):44-52.
13. Lenters-Westra E, Slingerland RJ. Three of 7 hemoglobin A1c point-of-care instruments do not meet generally accepted analytical performance criteria. Clinical chemistry. 2014;60(8):1062-72.
14. Grant DA, Dunseath GJ, Churm R, Luzio SD. Comparison of a point-of-care analyser for the determination of HbA1c with HPLC method. Practical Laboratory Medicine. 2017;8:26-9.
15. Little RR, Roberts WL. A review of variant hemoglobins interfering with hemoglobin A1c measurement. Journal of diabetes science and technology. 2009;3(3):446-51.
16. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. Hemoglobin. 1987;11(1):65-88.
17. สุทัศน์ ฟู่เจริญ. บรรณาธิการ. แนวทางการวินิจฉัยและการรักษาโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย. บริษัท พี.เอ.ลีฟวิ่งจำกัด. 2557.
18. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes research and clinical practice. 2014;103(2):137-49.
19. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care. 2017;40(Supplement 1):S11.
20. Fowler MJ. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. Clinical Diabetes. 2008;26(2):77-82.
21. Hinzmann R, Schlaeger C, Tran CT. What Do We Need beyond Hemoglobin A1c to Get the Complete Picture of Glycemia in People with Diabetes? International Journal of Medical Sciences. 2012;9(8):665-81.
22. Marchetti P. Advanced glycation end products (AGEs) and their receptors (RAGEs) in diabetic vascular disease. Medicographia. 2009;31(3):257-65.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

23. Gomez-Perez FJ, Aguilar-Salinas CA, Almeda-Valdes P, Cuevas-Ramos D, Lerman Garber I, Rull JA. HbA1c for the Diagnosis of Diabetes Mellitus in a Developing Country. A Position Article. Archives of Medical Research. 2010;41(4):302-8.

24. Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clinical chemistry and laboratory medicine. 2002;40(1):78-89.

25. Hawkins R. Comparison of four point-of-care HbA1c analytical systems against central laboratory analysis. Singapore Med J. 2003;44(1):008-11.

26. Research NIfH. Point-of-care HbA1c tests - diagnosis of diabetes 2016 [cited 2018 May 21].
Available from: https://www.community.healthcare.mic.nihr.ac.uk/reports-and-resources/ horizon- scanning- reports/ point- of- care- hba1c- tests- diagnosis- of-diabetes.

27. Ajubi NE, Kross-Brion J, Newton CJ. Performance characteristics of the enzymatic Abbott Architect HbA1c whole blood assay. Clinical chemistry and laboratory medicine. 2014;52(12):e283-5.

28. Teodoro-Morrison T, Janssen MJ, Mols J, Hendrickx BH, Velmans MH, Lotz J, et al. Evaluation of a next generation direct whole blood enzymatic assay for hemoglobin A1c on the ARCHITECT c8000 chemistry system. Clinical chemistry and laboratory medicine. 2015;53(1):125-32.

29. Nitta T, Yamashiro Y, Hattori Y, Ezumi T, Nishioka M, Nakamura J. The interference by HbF on HbA1c (BM Test HbA1c) measurement in enzymatic method. Annals of clinical biochemistry. 2015;52(Pt 5):569-75.

30. Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, Hanson SE, Connolly S, Higgins T, et al. MEASUREMENT OF HbA(1c) IN PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2013;418:73-6.

31. Weykamp CW, Penders TJ, Siebelder CW, Muskiet FA, van der Slik W. Interference of carbamylated and acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by HPLC, electrophoresis, affinity chromatography, and enzyme immunoassay. Clinical chemistry. 1993;39(1):138-42.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

32. Adekanmbi J, Higgins T, Rodriguez-Capote K, Thomas D, Winterstein J, Dixon T, et al. Erroneous HbA1c results in a patient with elevated HbC and HbF. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2016;462:153-7.

33. Nasir NM, Thevarajah M, Yean CY. Hemoglobin variants detected by hemoglobin A1c (HbA1c) analysis and the effects on HbA1c measurements. International journal of diabetes in developing countries. 2010;30(2):86-90.

34. Pravatmuang P, Sae-Ngow B, Whanpuch T, Leowattana W. Effect of HbE and HbH on HbA1C level by ionic exchange HPLC comparing to immunoturbidimetry. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2001;313(1-2):171-8.

35. Sthaneshwar P, Shanmugam H, Swan VG, Nasurdin N, Tanggaiah K. Effect of HbE heterozygosity on the measurement of HbA1c. Pathology. 2013;45(4):417-9.

36. Little RR, La'ulu SL, Hanson SE, Rohlfing CL, Schmidt RL. Effects of 49 Different Rare Hb Variants on HbA1c Measurement in Eight Methods. Journal of diabetes science and technology. 2015;9(4):849-56.

37. Srivorakun H, Singha K, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A Large Cohort of Hemoglobin Variants in Thailand: Molecular Epidemiological Study and Diagnostic Consideration. PLoS ONE. 2014;9(9):e108365.

38. Agilli M, Yaman H, Aydin FN, Cakir E, Cayci T, Kurt YG, et al. Hb H Interference on Measurement Of HbA1c With Ion-Exchange HPLC. Acta Informatica Medica. 2013;21(3):216-8.

39. Roberts WL. Hemoglobin constant spring can interfere with glycated hemoglobin measurements by boronate affinity chromatography. Clinical chemistry. 2007;53(1):142-3.

40. Schnell O, Crocker JB, Weng J. Impact of HbA1c Testing at Point of Care on Diabetes Management. Journal of diabetes science and technology. 2017;11(3):611-7.

41. Shephard M, Whiting M. Assessment of the practicability and analytical performance of a point-of-care affinity chromatography haemoglobin A1c analyser for use in the non-laboratory setting. Annals of clinical biochemistry. 2006;43(Pt 6):513-5.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

42. Whitley HP, Yong EV, Rasinen C. Selecting an A1C Point-of-Care Instrument. Diabetes Spectrum : A Publication of the American Diabetes Association. 2015;28(3):201-8.

43. Wan Mohd Zin RM, Ahmad Kamil ZI, Tuan Soh TR, Embong M, Wan Mohamud WN. Haemoglobin A1c: comparing performance of two point of care devices with laboratory analyser. BMC research notes. 2013;6:540.

44. Petersen JR, Omoruyi FO, Mohammad AA, Shea TJ, Okorodudu AO, Ju H. Hemoglobin A1c: assessment of three POC analyzers relative to a central laboratory method. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2010;411(23-24):2062-6.

45. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; approved guideline-Third edition: CLSI document EP5-A3; 2014.

46. นวพรรณ จารุรักษ์. การทำ Method Validation. บริษัท ฐานการพิมพ์ จำกัด: สมาคมพยาธิวิทยาคลินิกไทย (สพคท.); 2552.

47. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; approved guideline: CLSI document EP6-A; 2003.

48. Goodall I, Colman PG, Schneider HG, McLean M, Barker G. Desirable performance standards for HbA(1c) analysis - precision, accuracy and standardisation: consensus statement of the Australasian Association of Clinical Biochemists (AACB), the Australian Diabetes Society (ADS), the Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA), Endocrine Society of Australia (ESA), and the Australian Diabetes Educators Association (ADEA). Clinical chemistry and laboratory medicine. 2007;45(8):1083-97.

49. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2011;34(6):e61-e99.

50. NGSP. Obtaining Certification 2018 [cited 2018 Jun 5]. Available from: http://www.ngsp.org/critsumm.asp.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

51. Szymezak J, Leroy N, Lavalard E, Gillery P. Evaluation of the DCA Vantage analyzer for HbA 1c assay. Clinical chemistry and laboratory medicine. 2008;46(8):1195-8.

52. Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, Siebelder C, Higgins T, Molinaro R, et al. Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. Clinica Chimica Acta. 2016;455:80-3.

53. Paisooksantivatana K, Kongsomgan A, Banyatsuppasin W, Khupulsup K. Influence of hemoglobin E on measurement of hemoglobin A1c by immunoassays. Diabetes research and clinical practice. 2009;83(3):e84-e5.

54. Banerjee S. HbA1c result, does it depend upon the testing methods? The Journal of the Association of Physicians of India. 2014;62(1):9-12.

55. Olivieri NF, Pakbaz Z, Vichinsky E. Hb E/beta-thalassaemia: a common & clinically diverse disorder. Indian J Med Res. 2011;134:522-31.

56. Wahed A, Dasgupta A. Chapter 4 - Hemoglobinopathies and Thalassemias. In: Wahed A, Dasgupta A, editors. Hematology and Coagulation. San Diego: Elsevier; 2015. p. 55-80.

57. Willett AB, Grantham VV. Determination of hemolytic anemia through the study of (51)Cr red cell survival and splenic sequestration. Journal of nuclear medicine technology. 2008;36(2):95-8.

58. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. Hematology American Society of Hematology Education Program. 2009:26-34.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 7 ตารางแสดงผลตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete Blood Count;CBC) ของกลุ่มผู้ป่วยไม่เป็นโรคเบาหวาน (Non DM) ที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ

Type of Normal and Abnormal Hb in Non-DM group	n	Parameter of CBC (mean± SD)					
		MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	Hb (g/dL)	Hematocrit (%)
Normal typing	20	89.1±4.1	30.0±1.7	33.7±0.9	13.0±0.9	13.8±1.6	40.9±4.4
Hb E trait	20	80.1±3.8	26.6±1.3	33.2±1.0	13.4±0.9	13.1±1.1	39.4±2.9
Homozygous Hb E	21	61.4±4.0	20.5±1.3	33.4±0.7	16.8±0.9	12.1±1.3	36.2±3.8
Beta thalassemia/ Hb E	21	68.3±8.4	21.2±2.8	31.1±1.3	28.9±7.2	7.7±0.7	25.0±2.3
Beta thalassemia trait	19	65.0±4.7	21.1±1.6	32.4±0.6	15.7±0.9	11.5±0.9	35.5±2.8
Alpha thalassemia trait	20	68.8±5.9	22.1±2.0	32.1±0.8	15.5±1.2	12.1±0.9	37.8±2.5
Hb E trait with Alpha Thalassemia trait	2	65.1±2.1	21.6±0.1	33.3±0.8	16.1±1.2	13.1±1.2	39.2±2.5
Homozygous Beta thalassemia	1	78.7	24.5	31.2	20.8	7.9	25.3
Hb H	1	61.1	19.5	31.9	35.4	10.1	31.6
Hb H with Constant Spring (Hb H-CS)	1	76.3	22.0	28.9	18.8	10.6	36.6
Homozygous Hb Constant Spring	1	83.4	26.9	32.3	15.6	13.5	41.9

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 8 ตารางแสดงผลตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete Blood Count;CBC) ของกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน (DM) ที่มีฮีโมโกลบินปกติ และ มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ

Type of Normal and Abnormal Hb in DM group	n	Parameter of CBC (mean± SD)					
		MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	Hb (g/dL)	Hematocrit (%)
Normal typing	20	89.2±5.4	29.7±2.1	33.3±1.0	13.4±0.6	13.4±1.2	40.3±3.2
Hb E trait	20	75.5±3.9	25.0±1.4	33.1±0.7	14.4±1.0	12.7±1.8	38.5±5.2
Homozygous Hb E	19	61.5±4.1	20.7±1.5	33.6±0.6	16.8±1.2	12.0±1.3	35.7±3.8
Beta thalassemia/ Hb E	7	73.7±4.7	22.4±1.4	28.7±4.2	27.4±5.1	8.1±1.4	26.8±4.1
Beta thalassemia trait	15	64.6±4.8	20.6±1.6	32.0±0.5	15.6±0.8	12.2±1.1	38.1±3.3
Alpha thalassemia trait	21	72.1±6.2	23.2±2.3	32.1±1.0	15.1±1.6	12.5±1.7	38.9±4.1
Hb E trait with Alpha Thalassemia trait	4	72.7±6.6	23.8±2.3	32.7±0.5	14.5±0.3	13.5±0.3	41.3±1.1
Homozygous Beta thalassemia	5	81.7±3.6	26.0±1.3	31.9±0.3	17.5±3.4	7.2±1.9	22.5±6.1
Hb H	1	57.4	18.1	31.5	20.3	10.5	33.3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

1. ข้อมูลส่วนตัว

ชื่อ นางสาว ลาวัณย์ ปิยะสุวรรณยิ่ง

วันเดือนปีเกิด 31 สิงหาคม พ.ศ. 2529

ที่อยู่ 812/10 ซ.สุทธิพร ถ.ประชาสงเคราะห์ แขวงดินแดง เขตดินแดง กทม. 10400

เบอร์โทรศัพท์ 0892360775

อีเมล์ lawanbow@gmail.com

2. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2557 - ปัจจุบัน วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2548 - 2551 วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ประสบการณ์การทำงาน

พ.ศ. 2552 – ปัจจุบัน นักเทคนิคการแพทย์ 5 ฝ่ายเวชศาสตร์ชันสูตร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University