



# การศึกษาเปรียบเทียบระดับของฮีโมโกลบินเอวันซีที่ตรวจวัดโดยวิธี Turbidimetric Inhibition Immunoassay และวิธี Boronate Affinity HPLC ในเวชพยาบาล

มาลา ตรีวัชรกร วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) วท.ม. (ชีวเคมี)<sup>1\*</sup>

ศิริรัตน์ เฉลยทรัพย์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)<sup>1</sup>

1 หน่วยเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์เวชพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

\* ผู้ติดต่อ, อีเมล: mala@nmu.ac.th

Vajira Med J. 2016; 60(4): 261-268

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2016.28>

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระดับของฮีโมโกลบินเอวันซีที่ตรวจวัดโดยใช้หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay โดยใช้เครื่อง Cobas Integra และหลักการ boronate affinity HPLC โดยใช้เครื่อง Premier HB 9210 ในคณะแพทยศาสตร์เวชพยาบาล

**วิธีดำเนินการวิจัย :** การวิจัยนี้เป็นการวิจัยแบบไปข้างหน้า โดยเจาะเลือดผู้ป่วยที่ต้องการตรวจหาระดับของ HbA1c ตามปกติ ใส่หลอด EDTA แล้วนำไปตรวจหาระดับของ HbA1c โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 และเครื่อง Premier HB 9210 นำค่า HbA1c ที่ได้จากทั้งสองเครื่องมาแบ่งเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 มีค่า HbA1c ในช่วงปกติ 4.0-6.5% กลุ่มที่ 2 วินิจฉัยเบาหวาน มีค่า HbA1c 6.6-8.5% กลุ่มที่ 3 มีค่า HbA1c >8.0% นำค่า HbA1c ที่ได้จากทั้งสองวิธีมาศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างและหาความสัมพันธ์ทางสถิติ

**ผลการวิจัย :** จากการศึกษาระดับของ HbA1c จำนวน 543 ตัวอย่าง พบว่า ค่า HbA1c ที่ได้จากเครื่อง Premier HB 9210 ส่วนใหญ่ (73.5%) มีค่าสูงกว่าเครื่อง Cobas Integra 800 และจากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่อง Cobas Integra 800 และเครื่อง Premier HB 9210 พบว่า ค่า Interclass correlation coefficient (ICC) ของ HbA1c ทั้งสามกลุ่มคือ 0.872, 0.872, และ 0.963 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการตรวจหา HbA1c โดยทั้งสองวิธีนี้มีความสัมพันธ์กันดีมาก และจากการศึกษาค่าของ HbA1c ที่ได้จากเครื่องทั้งสองทั้งสามกลุ่มตัวอย่างและรวมทั้งหมดโดยใช้ Bland-Altman plot พบว่า ผลต่างในช่วง  $\pm 1.96$  SD เท่ากับค่าของ HbA1c -0.54% ถึง 0.35% , -0.71% ถึง 0.22% , -1.54% ถึง 0.40% และ -0.92% ถึง 0.45% ตามลำดับ และจากการศึกษาค่าของ HbA1c ใน 8 ตัวอย่างที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินพบว่า ตัวอย่างที่เป็น HbCS และ HbF มีค่าของ HbA1c ที่ได้จากทั้งสองเครื่องแตกต่างกันมากกว่าฮีโมโกลบินชนิดอื่นที่ศึกษา

**สรุป :** การตรวจวัด HbA1c โดยวิธี turbidimetric inhibition immunoassay โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 และวิธี boronate affinity โดยใช้เครื่อง Premier HB 9210 นั้นมีความสัมพันธ์กันดีมากทั้งสามกลุ่มของ HbA1c ทั้งนี้ ค่า HbA1c ที่ได้จากเครื่อง Premier HB 9210 73.5% มีค่าสูงกว่าเครื่อง Cobas Integra 800 และกลุ่มที่มีผลต่างของทั้งสองเครื่องมากที่สุดคือกลุ่มที่มีค่า HbA1c มากกว่า 8.0% ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบินบางชนิด การตรวจวัด HbA1c โดยวิธีทั้งสองอาจให้ค่าที่แตกต่างกันมาก ดังนั้นในห้องปฏิบัติการเดียวกันจึงไม่ควรที่จะใช้เครื่องที่ต่างหลักการกันมาใช้เป็นเครื่องสำรองหรือมารายงานผลร่วมกัน



# Comparative Study of HbA1c level measurement by Turbidimetric Inhibition Immunoassay and Boronate Affinity HPLC at Vajira Hospital

Mala Treewatchareekorn BSc (Med-Tech), MS (Biochem)<sup>1\*</sup>

Sirirat Chaloeysup BSc (Med-Tech), MS (Clinical Patho)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Division of Clinical Chemistry and Immunology, Department of Central Laboratory, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University, Bangkok, Thailand.

\* Corresponding author, e-mail address: mala@nmu.ac.th

Vajira Med J. 2016; 60(4): 261-268

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2016.28>

## Abstract

**Objective:** This study aimed to compare 2 methods of HbA1c measurement, turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) from Cobas Integra 800 analyzer and boronate affinity HPLC (BA-HPLC) from Premier Hb 9210 analyzer, and analyzed for statistical correlation.

**Methods:** This is a prospective study that measured HbA1c level at Faculty of Medicine Vajira Hospital during December 1-30, 2015. EDTA blood samples were measured for HbA1c by TINIA and BA-HPLC. The data from the two methods were divided into three groups according to HbA1c level: HbA1c 4.0-6.5%, 6.6-8.0% and > 8.0%. HbA1c levels from the two methods were compared and analyzed for statistical correlation.

**Results:** Most of HbA1c levels (73.5%) from 543 specimens measured by BA-HPLC were higher than TINIA. The correlation study of the three groups of HbA1c levels between TINIA and BA-HPLC by using Interclass correlation coefficient (ICC) were 0.872, 0.872 and 0.963 respectively. HbA1c levels from the two methods were well correlated. The bias of the three groups and total group of HbA1c between TINIA and Premier BA-HPLC in  $\pm 1.96$  SD by Bland-Altman plot were -0.54% to 0.35%, -0.71% to 0.22%, -1.54% to 0.40% and -0.92% to 0.45%, respectively. HbA1c levels from samples with abnormal hemoglobin (HbCS and HbF) had more difference between two methods than the others.

**Conclusion:** All the three groups of HbA1c measured by TINIA and BA-HPLC were well correlated. Most of HbA1c levels from TINIA were higher than BA-HPLC, especially with HbA1c >8.0%. Measurement of HbA1c by the two methods might be different in patients with abnormal hemoglobin. Laboratories should not use analyzers with different methods for substitution or reporting HbA1c levels together.

**Keywords:** HbA1c, turbidimetric inhibition immunoassay, boronate affinity HPLC, Hb variant.

## บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคที่ผู้ป่วยมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งเกิดจากการหลั่งหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลินลดลง ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เช่นโรคหลอดเลือดแดงตีตันทำให้เกิดอัมพฤกษ์ อัมพาต โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โรคหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงปลายมือปลายเท้าอุดตัน โรคไตวายเรื้อรัง ต้อกระจกและตาบอดได้<sup>1-3</sup> ในปี พ.ศ.2558 ทั่วโลกมีผู้ป่วยเบาหวานประมาณ 415 ล้านราย สำหรับประเทศไทย มีผู้ป่วยประมาณ 4 ล้านราย และพบอัตราป่วยสูงขึ้นทุกปีซึ่งเป็นปัญหาด้านสาธารณสุข<sup>4</sup> การวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคเบาหวานในปัจจุบันนอกจากการวัดระดับน้ำตาลในเลือดแล้วการตรวจที่นิยมใช้กันมากคือ การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A1c; HbA1c) ซึ่งเกิดขึ้นจากการจับกันของน้ำตาลกลูโคสกับกรดอะมิโนวาเลอีน ด้าน N-terminal ของสายเบต้าโกลบินของฮีโมโกลบิน นอกจากนี้น้ำตาลกลูโคสยังสามารถจับกับกรดอะมิโนอื่น ๆ ของสายเบต้าและแอลฟาโกลบินของฮีโมโกลบินเรียกว่า glycated hemoglobin (GHb) ในปี พ.ศ. 2554 องค์การอนามัยโลกได้แนะนำให้ใช้การตรวจ HbA1c ในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน<sup>5,6</sup> ในคนปกติอายุของเม็ดเลือดแดงประมาณ 120 วัน สามารถใช้ปริมาณของ HbA1c ประเมินระดับของน้ำตาลกลูโคสในเลือดในช่วง 2-3 เดือนที่ผ่านมา แต่ถ้าเม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติ เช่นโรคทาลัสซีเมีย sickle cell anemia และความผิดปกติของฮีโมโกลบินต่าง ๆ หรือ Hb variant จะทำให้อายุของเม็ดเลือดแดงสั้นลง ซึ่งทำให้ระดับของ HbA1c ลดลง<sup>7</sup>

การตรวจ HbA1c มีหลายหลักการ ซึ่งหลักการที่สำคัญที่นิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์คือ หลักการความแตกต่างของประจุไฟฟ้า เช่น วิธี ion exchange chromatography, HPLC (High Pressure Liquid Chromatography), electrophoresis และหลักการความแตกต่างทางโครงสร้าง เช่น วิธี affinity chromatography, immunoassay ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อจำกัดแตกต่างกันไป บางวิธีถูกรบกวนโดย hemoglobin variant ทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้สูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริง<sup>8,9</sup>

การตรวจหา HbA1c โดยวิธี turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) และวิธี boronate affinity HPLC (BA-HPLC) นั้นเป็นวิธีที่ได้ผ่านการรับรองจาก NGSP (National Glycohemoglobin Standardization) และ IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) และเป็นวิธีที่ถูกรบกวนโดย hemoglobin variant น้อยที่สุด วิธี TINIA นั้น ถ้าเลือดผู้ป่วยมี HbF มากกว่า 10% จะทำให้ค่าของ HbA1c

ที่ตรวจวัดได้ต่ำกว่าความเป็นจริง<sup>10</sup> หรือถ้ามีความผิดปกติของกรดอะมิโน 4 ตัวแรกจาก N-terminal ของสายเบต้าของฮีโมโกลบินจะทำให้แอนติบอดีที่เป็นตัวตรวจวัดในปฏิกิริยาไม่สามารถจับกับ glycated hemoglobin ที่มีกรดอะมิโนผิดปกติไป ทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้ต่ำกว่าความเป็นจริง การตรวจวัด HbA1c โดยวิธี (BA-HPLC) โดยเครื่อง Premier Hb 9210 นั้นไม่ถูกรบกวนโดย hemoglobin variant รวมทั้ง hemoglobin derivative (non-glucose adduct) เช่น carbamylated hemoglobin ที่พบในผู้ป่วยไตเรื้อรังที่มียูเรียสูง<sup>11</sup>

ในการศึกษานี้ต้องการศึกษาความสัมพันธ์ของการตรวจวัด HbA1c ของทั้งสองหลักการ และศึกษาความแตกต่างของค่า HbA1c ที่ได้จากเครื่องทั้งสอง เพื่อที่จะได้ทราบว่า การตรวจวัด HbA1c ที่ได้ จากเครื่องที่ตรวจวัดโดยทั้งสองวิธีนี้ มีความสัมพันธ์กันอย่างไร และค่าที่ได้จากเครื่องทั้งสองนี้เทียบเท่ากันหรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจของห้องปฏิบัติการในการที่จะนำเครื่องที่มีหลักการต่างกันมาใช้ตรวจรายงานผลร่วมกัน หรือใช้เป็นเครื่องสำรองเวลาที่เครื่องตรวจประจำเสียไม่สามารถรายงานผลได้

## วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective study) ของผู้ป่วยที่มาเจาะเลือดเพื่อหาระดับของ HbA1c ที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ตั้งแต่วันที่ 1 – 30 ธันวาคม 2558

หลังจากได้รับอนุมัติให้ทำวิจัยได้จากคณะกรรมการพิจารณาและควบคุมการวิจัยในคนของคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราชแล้ว ได้ทำการเจาะเลือดจากผู้ป่วยที่เป็นอาสาสมัครที่ต้องการตรวจหาระดับของ HbA1c ตามปกติ โดยเจาะเลือด 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดซึ่งภายในมีสารกันเลือดแข็ง EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) บรรจุอยู่ นำตัวอย่างเลือด EDTA whole blood ของอาสาสมัครมาตรวจหาระดับของ HbA1c โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 ซึ่งเป็นเครื่องที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลใช้รายงานค่า HbA1c ของผู้ป่วยตามปกติ โดยใช้น้ำยา Tina-quant Hemoglobin A1c Gen.2 (Roche Diagnostic, Mannheim, Germany) ซึ่งใช้หลักการ TINIA แล้วรายงานผลการตรวจให้ผู้ป่วยที่เป็นอาสาสมัครตามปกติ หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์โดยเครื่อง Cobas Integra 800 ไปตรวจหาค่าของ HbA1c โดยใช้เครื่อง Premier Hb 9210 (Trinity Biotech, Bray, Ireland) ซึ่งตรวจหา HbA1c โดยใช้

หลักการ BA-HPLC นำผลการวิเคราะห์ HbA1c โดยเครื่องทั้งสองบันทึกลงโปรแกรม Excel 2010 และแบ่งข้อมูลออกเป็น 3 กลุ่มโดยใช้ผลจากเครื่อง Cobas Integra 800 เป็นหลัก โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของ HbA1c ที่อยู่ในช่วงค่าปกติ คือ 4.0% - 6.5% กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่วินิจฉัยเบาหวานมีค่า HbA1c 6.6% - 8.0% และกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่มีค่า HbA1c สูงมากคือ > 8.0% วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของข้อมูลทั้งสามกลุ่มและกลุ่มรวมทั้งหมดโดยการหาค่า Interclass correlation coefficient (ICC) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 15.0 เพื่อหาความสัมพันธ์ของทั้งสองวิธี วิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย (simple regression analysis) เพื่อหาสมการของเส้นกราฟถดถอย (regression line) และศึกษาความแตกต่างของทั้งสองวิธี (Bland-Alman plot) โดยใช้ Excel 2010

การศึกษานี้ได้ลองนำตัวอย่างที่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง (Hb variant) 8 ตัวอย่าง ซึ่งได้ทำ Hb typing โดยวิธี capillary electrophoresis โดยเครื่อง Minicap (Sebia, Paris, France) มาศึกษาเปรียบเทียบค่าของ HbA1c โดยวิธีทั้งสอง ซึ่งผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 3

## ผลการวิจัย

จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 543 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามค่าของ HbA1c ที่ได้จากเครื่อง Cobas Integra 800 ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 1 จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาค่า ICC และสมการถดถอยเชิงเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ของค่า HbA1c ที่ได้จากเครื่องทั้งสองแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 1

จากการศึกษาความเอนเอียง (bias) ของค่า HbA1c ที่ได้จากวิธี TINIA และ BA-HPLC โดยใช้ Bland-Alman plot แสดงในรูปที่ 2 จากรูป ผลต่างของค่า HbA1c จากเครื่องทั้งสอง (Cobas Integra 800 – Premier Hb 9210) ในช่วง  $\pm 1.96$  SD (95% ของตัวอย่าง) ของกลุ่มที่ 1, 2, 3 และกลุ่มรวมทั้งหมด เท่ากับ -0.54% ถึง 0.35% , -0.71% ถึง 0.22%, -1.54% ถึง 0.40% และ -0.92% ถึง 0.45% ตามลำดับ โดยผลต่างของค่า HbA1c สูงสุดที่พบจากทั้งสองเครื่องของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ -1.4%, -1.3% และ -3.4% ตามลำดับ

### ตารางที่ 1:

แสดงค่าของ HbA1c ของผู้ป่วยทั้งสามกลุ่ม เปรียบเทียบระหว่างวิธี TINIA และ BA-HPLC

| กลุ่มที่ | HbA1c (%) | จำนวนตัวอย่าง (ราย) | Integra 800 (TINIA) |        | Premier Hb 9210 (BA-HPLC) |        |
|----------|-----------|---------------------|---------------------|--------|---------------------------|--------|
|          |           |                     | Mean (range)        | SD     | Mean (range)              | SD     |
| 1        | 4.0 – 6.5 | 265                 | 5.926 (4.4 – 6.5)   | 0.3725 | 6.017 (4.6 – 7.3)         | 0.4642 |
| 2        | 6.6 – 8.0 | 171                 | 7.134 (6.6 – 8.0)   | 0.4053 | 7.378 (6.5 – 8.9)         | 0.5208 |
| 3        | > 8.0     | 107                 | 9.809 (8.1 – 15.1)  | 1.6416 | 10.379 (8.2 – 18.5)       | 1.9831 |

TINIA = turbidimetric inhibition immunoassay BA-HPLC = boronate affinity High-performance liquid chromatography

### ตารางที่ 2:

แสดงค่า Interclass correlation coefficient (ICC) ของค่า HbA1c และสมการถดถอยเชิงเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ของค่า HbA1c ที่ได้จากวิธี TINIA และ BA-HPLC

| กลุ่มที่   | ค่า HbA1c (%) | ค่า ICC | สมการถดถอยเชิงเส้นตรงระหว่างวิธี TINIA และ BA-HPLC* |
|------------|---------------|---------|-----------------------------------------------------|
| 1          | 4.0 – 6.5     | 0.872   | $y = 1.0959x - 0.4725$                              |
| 2          | 6.6 – 8.0     | 0.872   | $y = 1.1559x - 0.4725$                              |
| 3          | > 8.0         | 0.963   | $y = 1.1844x - 1.2399$                              |
| รวมทั้งหมด | 4.4 – 15.1    | 0.981   | $y = 1.1339x - 0.7109$                              |

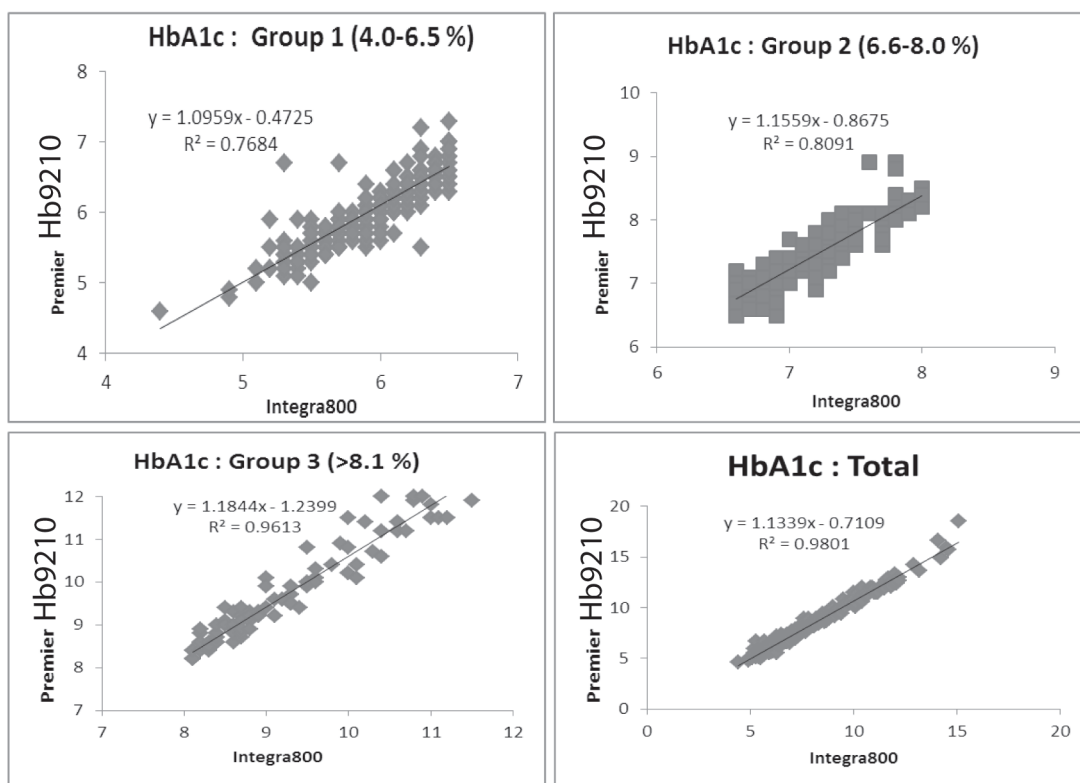
\* y = ค่าของ HbA1c ที่ได้จากเครื่อง Premier Hb 9210 (BA-HPLC); x = ค่าของ HbA1c ที่ได้จากเครื่อง Cobas Integra 800 (TINIA)

## ตารางที่ 3:

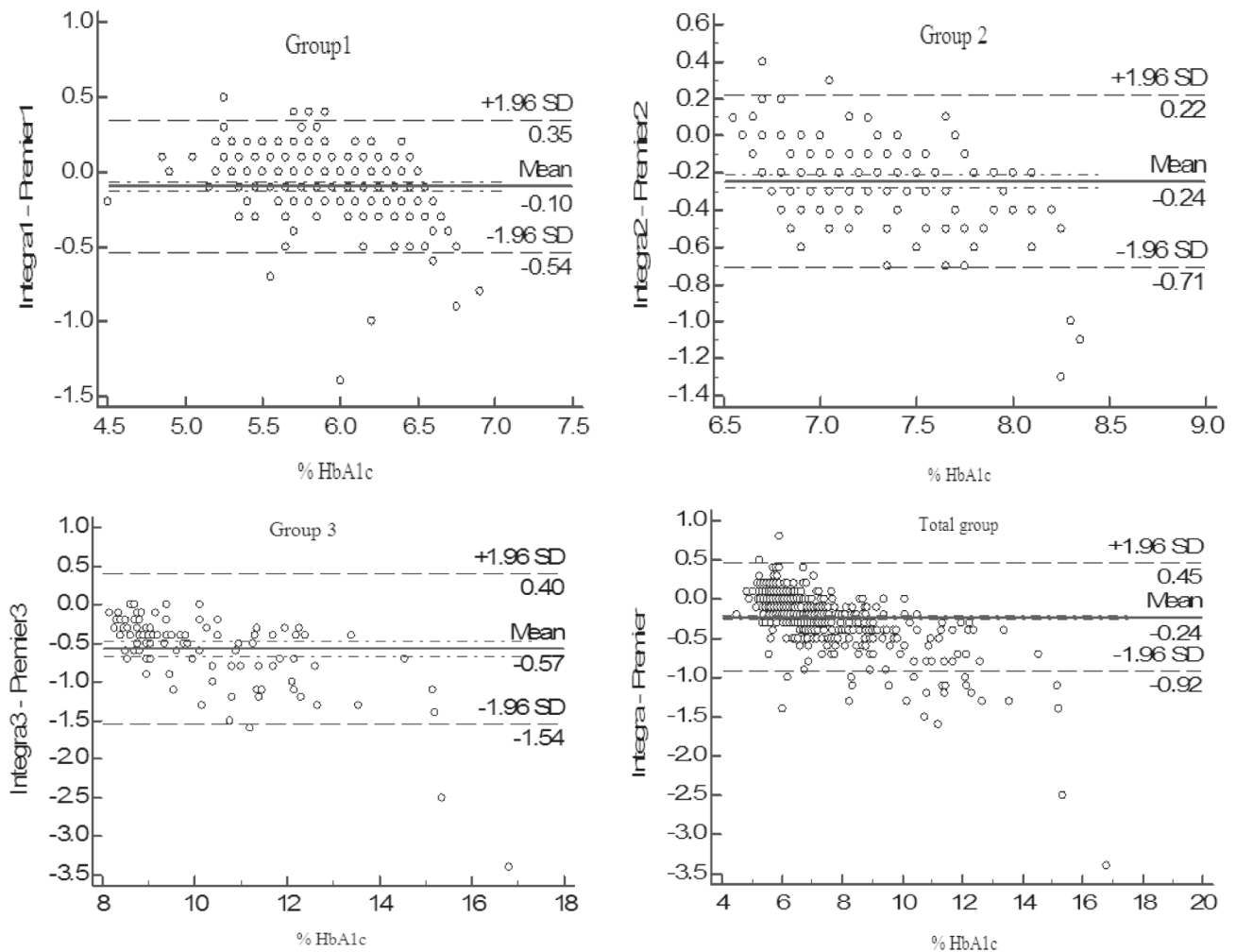
แสดงค่าของ HbA1c ที่ได้จากวิธี TINIA และ BA-HPLC ของตัวอย่างที่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง (Hb Variant) และผลต่างของ HbA1c (bias) ที่ได้จากเครื่องทั้งสอง

| ตัวอย่าง | Hb Variant                  | ค่า HbA1c (%) |         |        |
|----------|-----------------------------|---------------|---------|--------|
|          |                             | TINIA         | BA-HPLC | Bias * |
| 1        | CSA <sub>2</sub> A Bart's H | 3.6           | 5.2     | -1.6   |
| 2        | A <sub>2</sub> A Bart's H   | 3.8           | 3.8     | 0      |
| 3        | A <sub>2</sub> A H          | 3.8           | 3.8     | 0      |
| 4        | CSEA Bart's                 | 4.2           | 5.3     | -1.1   |
| 5        | EA                          | 5.4           | 5.5     | -0.1   |
| 6        | EE                          | 4.0           | 4.0     | 0      |
| 7        | EA                          | 4.9           | 4.9     | 0      |
| 8        | EF                          | 2.5           | 3.6     | -1.1   |

\* Bias = ค่า HbA1c จากเครื่อง Cobas Integra 800 - ค่า HbA1c จากเครื่อง Premier Hb 9210



รูปที่ 1: แสดงความสัมพันธ์ของค่า HbA1c ระหว่างวิธี TINIA โดยเครื่อง Cobas Integra 800 และ BA-HPLC โดยเครื่อง Premier Hb 9210 ของทั้งสามกลุ่มตัวอย่างและกลุ่มรวมทั้งหมด



รูปที่ 2: แสดงผลต่างของค่า HbA1c ที่ได้จากวิธี TINIA โดยเครื่อง Cobas Integra 800 และ BA-HPLC โดยเครื่อง Premier Hb 9210 ของทั้งสามกลุ่มตัวอย่างและกลุ่มรวมทั้งหมด

จากการทดลองศึกษาค่าของ HbA1c โดยวิธี TINIA และ BA-HPLC ในตัวอย่างที่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงบางชนิด (Hb variant) ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่า Hb variant ที่ทำให้ค่า HbA1c ที่ได้จากทั้งสองเครื่องมีผลต่างกันมากคือ Hb Constant Spring (HbCS) และ HbF

## วิจารณ์

การตรวจวัด HbA1c โดยหลักการ turbidimetric inhibition immunoassay โดยใช้รีเอเจนต์ TINIA ของ Roche และการตรวจวัด HbA1c โดยหลักการ boronate affinity โดยใช้เครื่อง Premier HPLC นั้นได้รับการยอมรับให้เป็น

secondary reference method<sup>12</sup> ทั้งคู่ จากการศึกษเปรียบเทียบค่าของ HbA1c ที่ได้จากทั้งสองเครื่องพบว่า ค่าของ HbA1c ที่ได้จากเครื่อง Premier Hb 9210 มีค่าสูงกว่า Integra 800 เป็นส่วนใหญ่ และจากการศึกษาหาความสัมพันธ์ของทั้งสองวิธีโดยการหาค่า ICC จะเห็นได้ว่าค่า ICC ของทั้งสามกลุ่มและกลุ่มรวมทั้งหมดได้ค่าสูงกว่า 0.8 ซึ่งแสดงว่าการตรวจหา HbA1c ของทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันดีมาก<sup>13</sup> โดยในกลุ่มที่ 3 (เป็นกลุ่มที่มีค่า HbA1c > 8.0%) เป็นกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กันสูงสุดสูงกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 โดยมีค่า ICC 0.963 แต่จากการศึกษาความแตกต่าง (bias) ของค่า HbA1c ที่ได้จากเครื่องทั้งสอง กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่มีความแตกต่างของ HbA1c ในช่วง  $\pm 1.96$  SD สูงสุดคือ



-1.54% ถึง 0.40% รองลงมาเป็นกลุ่มที่สอง คือ -0.71% ถึง 0.22% ซึ่งทั้งสองกลุ่มเป็นกลุ่มที่เป็นเบาหวาน (HbA1c > 6.5%) ซึ่งเป็นกลุ่มที่จะต้องติดตามการรักษา การที่เครื่องทั้งสองรายงานค่า HbA1c แตกต่างกันได้ถึง 1.54% หรืออาจสูงได้ถึง 3.4% ในกลุ่มที่ 3 และ 0.71% หรือ อาจสูงถึง 1.3% ในกลุ่มที่ 2 ซึ่งค่าที่แตกต่างกันนี้อาจทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการรักษา ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งจึงไม่ควรที่จะนำเครื่องตรวจที่มีหลักการต่างกันมารายงานผล HbA1c ร่วมกัน หรือใช้เป็นเครื่องสำรองเวลาเครื่องตรวจประจำเสียไม่สามารถตรวจได้

จากผลการศึกษาค่า HbA1c ใน 8 ตัวอย่างที่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง (Hb variants) บางชนิดพบว่าตัวอย่างที่เป็น HbCS และ HbF มีค่า HbA1c จากเครื่องทั้งสองแตกต่างกันมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาอื่น ๆ ที่พบว่า HbCS และ HbF มีผลต่อค่าการตรวจ HbA1c โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 ซึ่งใช้หลักการ Immunoassay แต่ไม่มีผลต่อค่า HbA1c ที่รายงานโดยเครื่อง Premier Hb 9210 ซึ่งใช้หลักการ boronate affinity HPLC และทั้งสองวิธีไม่ถูกรบกวนโดย HbH และ HbE<sup>11, 14-17</sup>

จากข้อมูลที่ศึกษาการตรวจ HbA1c โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 ซึ่งเป็นวิธี turbidimetric inhibition immunoassay และตรวจโดยใช้เครื่อง Premier Hb 9210 ซึ่งเป็นวิธี boronate affinity HPLC นั้นมีความสัมพันธ์กันดีทั้งสามกลุ่มตัวอย่าง โดยกลุ่มที่มี HbA1c สูงมาก (กลุ่มที่ 3) มีตัวอย่างที่มีค่าความแตกต่างของทั้งสองวิธีแตกต่างกันมากที่สุด ซึ่งความแตกต่างที่พบนี้อาจส่งผลกระทบต่อการรักษาผู้ป่วยถ้ามีการใช้เครื่องทั้งสองรายงานผลร่วมกัน นอกจากนี้ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง (Hb variant) เช่น HbCS, HbF การตรวจ HbA1c โดยวิธีการทั้งสองนี้อาจให้ค่าที่แตกต่างกัน ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งจึงไม่ควรที่จะนำเครื่องที่มีหลักการต่างกันไปเป็นเครื่องสำรองหรือใช้รายงานผลร่วมกัน

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณหัวหน้าฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือดและหัวหน้าหน่วยเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

ที่อนุญาตให้ทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาและควบคุมการวิจัยในคนของคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช ที่อนุญาตให้ดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณบริษัทเฮลน่า ประเทศไทยที่อนุญาตให้ตรวจสอบเครื่องตรวจ Premier Hb 9210 รวมทั้งน้ำยาที่ใช้ในการตรวจ HbA1c ขอขอบคุณ คุณรวีวรรณ สมศักดิ์ชัยเจริญ และคุณพิไลพร ตั้งรุ่งอรุณ บริษัทเฮลน่า ประเทศไทย และเจ้าหน้าที่ของศูนย์ส่งเสริมวิจัย คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ที่มีส่วนในงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณ คุณณิชาภัทร เพิ่มพูนธัญญกิจ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ที่ช่วยคำนวณขนาดตัวอย่างและสถิติต่างๆ

## เอกสารอ้างอิง

1. Aberti K4 , Limmel PZ . Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication Part I. diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabetes Med. 1998;15:539-53.
2. Aekplakorn W, Stolk RP, Neal B, Suriyawongpaisal P, Chongsuvivatwong V, Cheepudomwit S, et al. The prevalence and management of diabetes in Thai adults. Diabetes Care. 2003; 26(10):2758-63.
3. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. JAMA. 2002; 287(19):2570-81.
4. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 7<sup>th</sup> edition [internet]. 2015 [cited 2015 Dec 20]. Available from: <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
5. Sack DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guideline and recommendation for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem. 2011;57(6):e1-47.
6. International Expert Committee. Report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes. Diabetes Care. 2009;32:1327-34.

7. Panzer S, Kronik G, Lechner K, Bettelheim P, Neumann E, Dudczak RJ. Glycosylate hemoglobins (GHb): an index of red cell survival. *Blood*. 1982;59:1348-50.
8. Little RR, Roberts WL. A review of variant hemoglobins interfering with hemoglobin A1c measurement. *J Diabetes Sci Technol*. 2009;3(3):446-51.
9. Little RR, La'ulu SL, Hanson SE, Rohlfing CL, Schmidt RL. Effect of 49 different rare Hb variants on HbA1c measurement in eight methods. *J Diabetes Sci Technol*. 2015;9:849-56.
10. Chang J, Hoke C, Ettinger B, Penerian G. Evaluation and interference study of hemoglobin A1c measures by turbidimetric inhibition immunoassay. *Am J Clin Pathol*. 1998;109(3):274-8.
11. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effect of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clin Chem*. 2001;47(2):153-63.
12. Lenter-Westra E, Slingerland RJ. Six of eight hemoglobin A1c point-of-care instruments do not meet the general accepted analytical performance criteria. *Clin Chem*. 2010;56(1):44-52.
13. Portney LG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. New Jersey: Prentice Hall; 2000. p.560-7.
14. Sack DB. Hemoglobin variants and hemoglobin A1c analysis: problem solved? *Clin Chem*. 2003;49(8):1245-7.
15. Subcharoan U. Comparative study of HbA1c measurement using HPLC, immunoassay and affinity chromatography techniques based on hemoglobin typing. *J Med Tech Assoc Thailand*. 2013;41(1): 4446-56.
16. Schnedl WJ, Krause R, Piswanger-Soelkner C, Lipp RW. Effect of silent hemoglobin variants on A1c measurement with the IFCC reference method and 6 routine methods. *Clinica Chimica Acta*. 2008;398:161-2.
17. Lorenzo-Medina M, De-La-Iglesia S, Roper P, Nogueira-Salgueiro P, Santana-Benitez J. Effect of hemoglobin variants on hemoglobin A1c values measured using a high-performance liquid chromatography method. *J Diabetes Sci Technol*. 2014; 8(6):1168-76.