

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาระดับ Thyrotropin ในซีรัม ด้วยวิธีอิมมูโนไลต์ อิมมูโนเคมีลูมิโนเมตริก เอสเอส (iCMA) และวิธีรีแอคโนส อิมมูโนเรดิโอเมตริก เอสเอส (rIRMA)

จันทิมา แสนยานุสิน วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาระดับ Thyrotropin (TSH) จากตัวอย่างเลือด ด้วยวิธี อิมมูโนไลต์อิมมูโนเคมีลูมิโนเมตริก เอสเอส (iCMA) และวิธีรีแอคโนส อิมมูโนเรดิโอเมตริก เอสเอส (rIRMA)

รูปแบบการวิจัย: การวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบตัดขวาง

กลุ่มตัวอย่าง: ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่แพทย์ส่งมาทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับ Thyrotropin (TSH) ที่ห้องปฏิบัติการเรดิโออิมมูโนเอสเอส (RIA) ในหน่วยเวชศาสตร์นิวเคลียร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล จำนวน 120 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนมีนาคม 2546

วิธีดำเนินการวิจัย: นำตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยมาทำการวิเคราะห์หาระดับ TSH ด้วยวิธีอิมมูโนไลต์ อิมมูโนเคมีลูมิโนเมตริก เอสเอส และวิธีรีแอคโนสอิมมูโนเรดิโอเมตริก เอสเอส แล้วนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาทำการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อดูว่ามีความสัมพันธ์กันทางสถิติหรือไม่ อย่างไร โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) และการทดสอบ paired t-test

ตัววัดที่สำคัญ: ค่าระดับ Thyrotropin (TSH) ที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีนำมาทำการศึกษาเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ทางสถิติ

ผลการวิจัย: เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาระดับ TSH ของทั้งสองวิธีมาทำการศึกษาเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย พบว่าค่า TSH ที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กัน โดยแสดงค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (correlation coefficient ; r) เท่ากับ 0.983 และผลการทดสอบด้วย paired t-test พบว่าค่า TSH ที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุป: จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่า ค่าระดับ TSH ที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กัน ดังนั้นสามารถนำวิธีการวิเคราะห์หาระดับ TSH ด้วยวิธีอิมมูโนไลต์ อิมมูโนเคมีลูมิโนเมตริก เอสเอส มาใช้แทนวิธีรีแอคโนส อิมมูโนเรดิโอเมตริก เอสเอสในห้องปฏิบัติการ RIA ได้

* ภาควิชารังสีวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

Abstract

Comparison of Thyrotropin in Human Serum by Immulite Immunochemiluminometric Assay (iCMA) and Ria-gnost Immunoradiometric Assay (rIRMA).

Chanteema Sanyanusin, BSc (Med-Tech)

Department of Radiology, BMA Medical College and Vajira Hospital

Objective: To compare Thyrotropin in human serum by Immulite immunochemiluminometric assay (iCMA) and Ria-gnost immunoradiometric assay (rIRMA)

Study design: Cross-sectional analytic study

Subjects: One hundred and twenty blood samples were collected from patients with suspected thyroid disorders and treated at BMA Medical College and Vajira Hospital from December 2002 to March 2003.

Methods: One hundred and twenty blood samples were determined for Thyrotropin by Immulite immunochemiluminometric assay and Ria-gnost immunoradiometric assay. The data from two methods were compared and analysed for the statistical evaluation by linear regression and student paired t-test.

Main outcome measures: Serum Thyrotropin from two methods were analysed for the method comparison studies.

Results: The comparison between the iCMA and rIRMA for TSH showed a good correlation between the two methods. The regression analysis of this correlation study gave a correlation coefficient (r) of 0.983. Both methods showed statistically significant differences ($p < 0.05$).

Conclusion: Statistical analysis showed that the determination of Thyrotropin by Immulite immunochemiluminometric assay (iCMA) and Ria-gnost immunoradiometric assay (rIRMA) had a good correlation. So Immulite immunochemiluminometric assay (iCMA) can be used to replace Ria-gnost immunoradiometric assay (rIRMA).

Key words: Thyrotropin, immunochemiluminometric assay, immunoradiometric assay.

บทนำ

การวิเคราะห์หาระดับ thyrotropin (TSH) ใน human serum เป็นการทดสอบหน้าที่ของต่อมไทรอยด์วิธีหนึ่งที่มีความสำคัญ และมีประโยชน์ช่วยในการวินิจฉัยภาวะผิดปกติของต่อมไทรอยด์ อีกทั้งยังช่วยในการติดตามผลการรักษาของแพทย์¹ วิธีการตรวจหาระดับ TSH ที่ใช้กันแพร่หลายในปัจจุบันคือวิธี third-generation TSH assay² ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับ และนิยมใช้กันแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและความไวในการตรวจหาค่า TSH ที่มีความเข้มข้นในระดับต่ำๆ ได้ดีกว่า และถูกต้องแม่นยำกว่าวิธี second generation assay ในการวิจัยครั้งนี้ ทางห้องปฏิบัติการ RIA ได้เลือกใช้วิธี

Immulite third generation TSH (Immulite immunochemiluminometric assay; iCMA) ของบริษัท DPC³ เพื่อที่จะนำมาใช้แทนวิธี RIA-gnost hTSH (Ria-gnost immunoradiometric assay; rIRMA)⁴ ที่ใช้อยู่ในห้องปฏิบัติการ แม้ว่าทั้งสองวิธี จะมีหลักการเหมือนกัน คือ Sandwich immunoassays แต่ทั้งสองวิธีต่างก็มีความไวในการตรวจวัดที่แตกต่างกัน เนื่องจากวิธี rIRMA เป็น second-generation assay ซึ่งอาจจะทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้แตกต่างกัน ดังนั้นการที่จะนำการทดสอบวิธีใหม่มาใช้ในห้องปฏิบัติการ จึงต้องทำการศึกษาถึงความแตกต่างเหล่านี้

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของผลการวิเคราะห์ระดับ TSH ใน

อย่างเลือกที่วิเคราะห์ด้วยวิธี iCMA และวิธี rIRMA

ประชากรตัวอย่างและวิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรกลุ่มตัวอย่างเป็นเลือดของผู้ป่วยในวิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล ที่ส่งมาทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับ TSH ในห้องปฏิบัติการเรดิโออิมมูโน-แอสเส (RIA) ภาควิชารังสีวิทยา จำนวน 120 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2545 ถึง เดือนมีนาคม 2546

ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

ทำการคำนวณหาขนาดของกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สูตรที่ชักกับค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มแบบไม่เป็นอิสระ⁵ โดยกำหนดให้ความแตกต่างของการวิเคราะห์หาระดับ TSH จากทั้ง 2 วิธีเป็น 5 $\mu\text{IU/ml}$ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์หาระดับ TSH เท่ากับ 10 $\mu\text{IU/ml}$ และกำหนด $\alpha = 5\%$ และ $\beta = 20\%$

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 2\sigma_d^2}{\mu_1 - \mu_0}$$

$$Z\alpha = \text{ค่า } Z \text{ ที่ระดับ } \alpha (0.05) = 1.96$$

$$Z\beta = \text{ค่า } Z \text{ ที่ระดับ } \beta (0.20) = 0.840$$

$$2\sigma_d^2 = \text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์หาระดับ TSH} = (10)^2$$

$$\mu_1 - \mu_0 = \text{ค่าความแตกต่างของค่าวิเคราะห์จากทั้งสองวิธี} = 5 \mu\text{IU/ml}$$

$$n = \frac{(1.96 + 0.840)^2 2(10)^2}{(5)^2}$$

$$= 62.72$$

จากการคำนวณได้ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 62 ตัวอย่าง และได้เพิ่มขนาดของตัวอย่างเป็น 120 ตัวอย่าง เพื่อให้ข้อมูลมีความน่าเชื่อถือ¹⁰

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดจะทำภายใน 4 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่าง โดยนำเลือดไปปั่นแยก serum แล้วดูแบ่งเป็น 2 หลอด โดยหลอดที่ 1 นำไปทำการวิเคราะห์หาระดับ TSH ด้วยวิธี iCMA และหลอดที่ 2 นำไปวิเคราะห์หาระดับ TSH ด้วยวิธี rIRMA

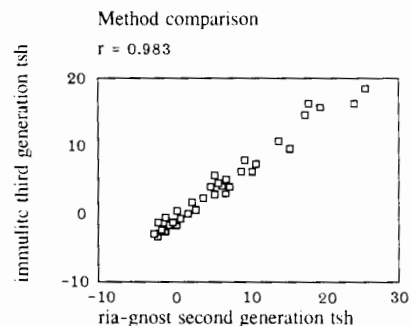
ก่อนทำการวิเคราะห์ที่ได้ทำการทดสอบความเที่ยงตรง (precision assay) ของทั้งสองวิธี โดยใช้สารควบคุมมาตรฐาน CON6⁶ และ hTSH control serum⁴ สำหรับวิธี iCMA และ rIRMA ตามลำดับ เพื่อทำการควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์ให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด แล้วจึงทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้โปรแกรม SPSS ในการบันทึกและคำนวณข้อมูลทางสถิติ ได้แก่ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และการศึกษาเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (r) และการทดสอบด้วย paired t-test^{7,12}

ผลการวิจัย

จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาระดับ TSH จากทั้งสองวิธีมาทำการทดสอบหาความสัมพันธ์ ด้วยวิธีวิเคราะห์การถดถอย พบว่ามีความสัมพันธ์กันโดยมีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (r) = 0.983 (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงการศึกษาเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาระดับ TSH ด้วยวิธี iCMA และ วิธี rIRMA โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอย

Method	Mean $\mu\text{IU/ml}$	SD $\mu\text{IU/ml}$	Paired t-test (p-value)
iCMA	2.435	6.1	< 0.05
rIRMA	3.269	8.1	

ตารางที่ 1 แสดงการศึกษาเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาระดับ TSH ด้วยวิธี iCMA และ วิธี rIRMA โดยการทดสอบด้วย paired t-test (n=120)

และเมื่อนำมาทำการทดสอบด้วย paired t-test พบว่าค่า TSH ที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีนี้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดูตารางที่ 1

วิจารณ์

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของการวิเคราะห์หาค่าระดับ TSH ด้วยวิธี iCMA และวิธี rIRMA จากตัวอย่างเลือดจำนวน 120 ตัวอย่าง ในครั้งนี้โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.983 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ตรงระหว่าง ผลการวิเคราะห์ค่า TSH ที่ได้จากทั้งสองวิธี^{10,11} ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของคณะผู้วิจัยอื่นๆ^{8,9,13} และผลการทดสอบ paired t-test พบว่าผลการวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แม้ว่าทั้งสองวิธีจะใช้หลักการ sandwich immunoassay อย่างเดียวกันและมีความสัมพันธ์กันเป็นอย่างดี แต่พบว่าทั้งสองวิธีมีความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างในคุณสมบัติของการทดสอบ ความไวในการตรวจวัดคุณสมบัติของน้ำยา วิธีการวิเคราะห์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ เป็นต้น คือเมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติและค่าความไวในการวิเคราะห์ (analytical sensitivity) หรือค่า detection limit แล้ว จะเห็นว่าวิธี iCMA ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น third-generation assay จะมีความไวในการวิเคราะห์ที่ดีกว่า คือสามารถทำการตรวจวิเคราะห์ TSH ที่มีความเข้มข้นที่ระดับต่ำๆ ได้อย่างถูกต้องที่ 0.002 μ IU/ml และมีค่าช่วงความเข้มข้นที่สามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง อยู่ในช่วง 0.002 ถึง 75 μ IU/ml แต่วิธี rIRMA ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นวิธี second generation assay นั้นมีค่าความไวในการวิเคราะห์ที่ระดับต่ำสุดได้อย่างถูกต้องเท่ากับ 0.03 μ IU/ml และมีค่าช่วงความเข้มข้นที่สามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างอยู่ในช่วง 0.03 ถึง 45 μ IU/ml จึงมีผลทำให้มีความไวในการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน ช่วงของค่าปกติที่กำหนดขึ้นเพื่อใช้ในการอ้างอิงก็มีความแตกต่างกันด้วย และยังมีผลทำให้วิธี iCMA มีความแม่นยำในการตรวจวัดระดับ TSH ที่มีความเข้มข้นที่ระดับต่ำๆ ได้ดีกว่าวิธี rIRMA ซึ่งมีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยแยกผู้ป่วยในกลุ่ม subclinical และกลุ่ม nonthyroidal illness ออกจากกันได้ นอกจากนี้วิธี iCMA นั้นเป็นวิธีที่ใช้เครื่องมืออัตโนมัติทำการตรวจวิเคราะห์ทั้งระบบ จึงมี precision ดี ทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว โดยใช้เวลาทำ

การวิเคราะห์เพียง 1 ชม. ปริมาณ serum ที่ใช้ในการวิเคราะห์เพียง 75 μ l และใช้ Luminogen[®] PPD ที่มีคุณสมบัติเป็นสารพวก nonisotopic label มีความคงทน และไวต่อการตรวจวัดมาใช้เป็นตัวช่วยชี้วัดปฏิกิริยา (label) ในการวิเคราะห์ ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ในขณะที่วิธี rIRMA ใช้เวลาทำการวิเคราะห์นานถึง 3 ชม. อีกทั้งปริมาณ serum ที่ใช้ในวิธี rIRMA นั้นต้องใช้อย่างน้อย 200 μ l และใช้ Iodine-125 (¹²⁵I) ที่มีคุณสมบัติเป็นสาร radioisotope ซึ่งไม่เป็นที่นิยมใช้กันในปัจจุบันแล้ว เป็นตัว label แม้ว่าราคาของการทดสอบด้วยวิธี iCMA จะสูงกว่าของวิธี rIRMA กล่าวคือ การทดสอบด้วยวิธี iCMA ราคา 110 บาทต่อหนึ่งการทดสอบ ซึ่งของวิธี rIRMA ราคา 60 บาทต่อหนึ่งการทดสอบ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงมาตรฐานและคุณภาพของการทดสอบ มาตรฐานของการรักษาที่ถูกต้อง ประโยชน์ที่จะได้รับวิธี iCMA นี้จึงมีความเหมาะสมในการที่จะนำมาแทนวิธี rIRMA ในห้องปฏิบัติการเรดิโออิมมูโนเอสเสส (RIA) ของหน่วยเวชศาสตร์นิวเคลียร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล นอกจากนี้ผู้วิจัยคาดหวังว่าข้อมูลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์และสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการทำวิจัยอื่นๆ ต่อไป เช่น การศึกษาหาค่าปกติของระดับ TSH หรือการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ serum TSH กับอาการทางคลินิกของผู้ป่วย เป็นต้น

สรุป

ในการวิจัยครั้งนี้พบว่า ผลการวิเคราะห์หาระดับ TSH ของทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์ที่ดี และสามารถนำวิธีอิมมูโนโลยีอิมมูโนเคมีลูมิโนเมตริก เอสเสส (iCMA) มาใช้แทนวิธีรีแอค-โนส อิมมูโนเรดิโอเมตริก เอสเสส (rIRMA) ที่ใช้อยู่เดิมในห้องปฏิบัติการเรดิโออิมมูโนเอสเสส (RIA) ของหน่วยเวชศาสตร์นิวเคลียร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาลได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหัวหน้าห้องปฏิบัติการ RIA หัวหน้าหน่วยงานเวชศาสตร์นิวเคลียร์ ภาควิชารังสีวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล ที่อนุญาตให้นำเสนอรายงานนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ในหน่วยงานที่ช่วยเก็บตัวอย่างเลือด และเจ้าหน้าที่ธุรการของภาควิชาที่ให้ความสะดวกในการจัดทำรายงานนี้

เอกสารอ้างอิง

1. McClatchey KD. Clinical laboratory medicine. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p.332-6.
2. Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 12th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p.309-13.
3. DPC[®] IMMULITE System operation. Manual 1994.
4. CIS bio international RIA-gnost[®] hTSH instruction. Manual 2000.
5. กิตติกา กาญจนรัตน์กร.การพิจารณาขนาดตัวอย่างและกำลังการทดสอบ.ใน: ชีระพร วุฒยวนิช, นิमित มรกต, กิตติกา กาญจนรัตน์กร, บรรณาธิการ. วิจัยทางการแพทย์. เชียงใหม่: บริษัทกลางเวียงการพิมพ์จำกัด; 2542. หน้า 185-203.
6. Multivalent Control Module (Immulite[®] Data Sheet). Manual 2003.
7. ศิริชัย พงษ์วิชัย. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์. พิมพ์ครั้งที่ 11 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545. หน้า 331-94.
8. DPC[®] Immulite Third Generation TSH. Manual 2002.
9. Kricka LJ. Chemiluminescent and bioluminescent techniques. Clin Chem. 1991; 37: 1472-81.
10. Lewandrowski K. Clinical chemistry: laboratory management and clinical correlations. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p.140-6.
11. Lehmann C.A. Saunders manual of clinical laboratory science. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998. p.1233-8.
12. พรทิพย์ โล่ห์เลขา. เคมีคลินิกประยุกต์. กรุงเทพฯ: ชัยเจริญ; 2533. หน้า 90-112.
13. Sanchez-Carbayo M, Mauri M, Alfayate R, Miralles C, Soria F. Analytical and clinical evaluation of TSH and thyroid hormones by electrochemiluminescent immunoassays. Clin Biochem 1999; 32: 395-403.