



# การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ ฮีโมโกลบินเอวันซี ด้วยวิธี Immunoturbidity และ High Performance Liquid Chromatography ในผู้ป่วยที่เข้ารับการตรวจที่คณะแพทยศาสตร์ วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

ลมูล วงศ์กฤตวิทย์ วท.บ.(เทคนิคการแพทย์)<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ฝ่ายชั้นสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพฯ ประเทศไทย

\* ผู้ติดต่อ, อีเมล lamulwongk@gmail.com

Vajira Med J 2015; 59(4): 9-16

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2015.24>

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์ :** เปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c โดยวิธี Immunoturbidity และ วิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อหาค่าความสัมพันธ์ทางสถิติ เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทั้งสองในด้านความแม่นยำและความถูกต้อง และเพื่อพิจารณาเลือกเครื่องมือให้เหมาะสมกับห้องปฏิบัติการในอนาคต

**วิธีดำเนินการวิจัย:** การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบตัดขวาง เป็นการวิจัยสิ่งส่งตรวจจากร่างกาย ศึกษา 2 วิธี การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c ในสิ่งส่งตรวจหลอดเดียวกัน โดยนำตัวอย่าง EDTA whole blood ของผู้ป่วยมาวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c โดยใช้เครื่อง Cobas รุ่น Integra 800 โดยใช้หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ปัจจุบันห้องปฏิบัติการใช้ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c หลังจากวิเคราะห์วิธีแรกแล้วก็นำตัวอย่างเลือดที่เหลือ นำมาวิเคราะห์ต่อด้วยเครื่อง ADAMS A1C รุ่น HA 8180V ใช้หลักการ HPLC ในทันที นำค่าที่วิเคราะห์ได้ทั้งสองมาแบ่งระดับความเข้มข้นตามความสำคัญทางคลินิกที่แตกต่างกันคือ ช่วง 4-6.4%, 6.5-8% และ มากกว่า 8% นำค่าที่ได้แต่ละช่วงมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติ

**ผลการวิจัย :** ประเมินผลจากข้อมูลทางสถิติค่า correlation coefficient (r) ได้มากกว่า 0.90 ทั้งสามระดับความเข้มข้น ได้แก่ r=0.941, 0.923 และ 0.989 ตามลำดับแสดงว่าผลจากการวิเคราะห์ของเครื่องมือทั้งสองมีผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันในระดับดี ประเมินผลความแม่นยำโดยหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) ที่ทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (within-run) เครื่อง Cobas Integra 800 ได้ SD=0.05, %CV=0.78 เครื่อง ADAMS A1C HA8180V ได้ SD=0.05, %CV=0.79 และวิเคราะห์ระหว่างวัน (between run) เครื่อง Cobas Integra 800 ได้ SD=0.08, 0.16 และ %CV=1.47, 1.58 เครื่อง ADAMS A1C HA8180V ได้ SD=0.10, 0.13 และ %CV=1.78, 1.58 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของทั้งสองวิธีมีความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานดี ประเมินผลจากการทดสอบหา %bias เพื่อดู inaccuracy หรือ systematic errors เป็นกราฟการกระจายแสดงผลค่าการกระจายผลต่างของค่าวิเคราะห์ทั้งสองวิธี รูปแบบที่ปรากฏการกระจายอยู่ระหว่างช่วง mean±1.96SD และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานดี สังเกตได้จากการกระจายของผลต่างของค่าวิเคราะห์ทั้งหมด กระจายอยู่บริเวณใกล้เส้นศูนย์ทั้งสามระดับความเข้มข้น

**สรุป:** จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์ทางสถิติที่ดีและให้ค่าตรวจวิเคราะห์ที่สอดคล้องกัน ในทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น



# Comparative Study of HbA1c Measurement Using Immunoturbidity and High Performance Liquid Chromatography Techniques in Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University.

Lamul Wongkritwit BSc (Med-Tech)<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Central Laboratory, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University, Bangkok, Thailand.

\* Corresponding author, email address: lamulwongk@gmail.com

Vajira Med J 2015; 59(4): 9-16

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2015.24>

## Abstract

**Objectives:** To compare HbA1c measurement methods by Immunoturbidity from Cobas Integra 800 Analyzer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) from ADAMS A1C HA 8180V Analyzer.

**Methods:** This is a cross-sectional analytic study comparing two HbA1c measurement methods in the same samples. One hundred and sixty EDTA whole blood sample were determined for HbA1c by Immunoturbidity from Cobas Integra 800 Analyzer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) from ADAMS A1C HA8180V Analyzer. The data from two methods were separated from concentration of HbA1c: level 1 normal range HbA1c 4-6.4%, level 2 diagnose diabetes range HbA1c 6.5-8% and level 3 range HbA1c over 8 %. The data from three levels of two methods were compared and analyzed for statistical correlation.

**Results:** Data from three levels of two methods were statistical calculated. The correlation studies of three levels showed good correlation. The correlation coefficient(r) were 0.941, 0.923 and 0.989 and linear regression equation were  $y=1.066x-0.451$ ,  $y=0.982x+0.219$  and  $y=1.024x-0.017$ , respectively. A strong correlation was also observed. The coefficient of variation (% cv) in within run were SD=0.05, %CV=0.78 and SD=0.05, %CV=0.79 and between-run were SD=0.08, 0.16 %CV=1.47, 1.58 and SD=0.10, 0.13 %CV=1.78, 1.58, respectively. Data from two methods showed good correlation (coefficient of variation, %CV<2%). Bland and Altman plot was used to calculate mean difference (bias) and agreement between two methods. The plot showed the presence of good agreement between two methods and three levels, data of values were lying within the mean  $\pm 1.96SD$

**Conclusion:** Statistical analysis showed that Immunoturbidity from Cobas Integra 800 Analyzer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) from ADAMS A1C HA8180V Analyzer were strongly correlated and congruent results in three level concentrations.

**Keywords:** HbA1c, immunoturbidity, HPLC

## บทนำ

ในผู้ใหญ่ทั่วไปจะมี hemoglobin (Hb) ที่สำคัญคือ HbA ซึ่งเป็น Hb ที่พบมากที่สุดประมาณร้อยละ 97 ของ Hb ทั้งหมด HbA2 ประมาณร้อยละ 1.5–3.5 และ HbF ประมาณร้อยละ 0.5 โดย HbA จะเกิดขบวนการ non-enzymatic glycation ได้ฮีโมโกลบินเอวัน หรือ HbA1 ส่วนฮีโมโกลบินเอวันซี หรือ HbA1c คือ glycated hemoglobin ของ HbA เกิดจากการจับกันของโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสกับ N-terminal ของสายเบต้าโกลบิน (beta-chain) ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนวาไลน์ (valine) โดย HbA1c เป็นองค์ประกอบของ HbA1 ที่สามารถจับกับโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสได้มากที่สุด การเกิด HbA1c จะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในเลือด ดังนั้นจึงนิยมตรวจวัดค่าปริมาณ HbA1c เพื่อประเมินค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดช่วง 12 สัปดาห์ที่ผ่านมา<sup>1,2</sup> ถ้าระดับ HbA1c สูงก็ยิ่งเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน เนื่องจาก HbA1c อยู่ในเม็ดเลือดแดง ดังนั้นการหาระดับของ HbA1c จะลดลงในภาวะที่เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้น คือน้อยกว่า 120 วัน จึงทำให้น้ำตาลในเลือดมีโอกาสจับกับ HbA1 ในเม็ดเลือดแดงได้น้อยลง เช่น ผู้ป่วยที่เป็นโรคทาลัสซีเมีย โรค sickle cell anemia และผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (G6PD deficiency)<sup>4</sup>

ประโยชน์ของวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c มีหลายประการที่สำคัญ ดังนี้<sup>1,3</sup>

1. ใช้ในการวินิจฉัยเบาหวาน โดยองค์กร American Diabetes Association (ADA) นั้นได้เริ่มกำหนดให้ค่า HbA1c  $\geq 6.5\%$  เป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการวินิจฉัยเบาหวานมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2553 รวมทั้งยังได้กำหนดให้ค่าระหว่างร้อยละ 5.7-6.4 เป็นค่าก่อนจะเป็นเบาหวาน (pre-diabetes) ในผู้ที่มีความเสี่ยง ซึ่งหากผู้ที่มีความเสี่ยงและปรับวิถีการดำเนินชีวิตใหม่ จะช่วยชะลอการเกิดโรคเบาหวาน

2. ใช้สะท้อนผลการรักษา ว่าระดับน้ำตาลในเลือดได้รับการควบคุมให้ต่ำลงและคงที่ได้ดีเพียงใด ซึ่งโดยทั่วไป ADA ได้กำหนดว่า การรักษาที่ได้ผลดีควรจะมีผล HbA1c  $< 7\%$  อย่างสม่ำเสมอ

3. ช่วยให้แพทย์ตัดสินใจให้การรักษาที่เหมาะสมแก่

ผู้ป่วย ทั้งนี้ในผู้ป่วยที่มีค่า HbA1c ที่น่าพอใจ แพทย์อาจตัดสินใจคงการรักษาไว้ในระดับเดิม หากค่าเปลี่ยนแปลงไป แพทย์พิจารณาปรับเปลี่ยนการรักษาเพื่อให้ได้ค่า HbA1c ตามเป้าหมายที่กำหนดไว้

4. ใช้พยากรณ์ภาวะแทรกซ้อนในระยะยาว หากผลการควบคุมเป็นไปตามเป้าหมายผู้ป่วยก็จะสามารถมีคุณภาพชีวิตที่ดีในระยะยาว เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีผลการควบคุมไม่เป็นไปตามเป้าหมาย มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่ก่อปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพชีวิตเพิ่มสูงขึ้น และเกิดเร็วขึ้นได้

จากประโยชน์และความสำคัญของการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c มีหลายประการจึงมีการพัฒนาเครื่องตรวจวิเคราะห์มาตลอด ปัจจุบันจึงมีวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c หลายวิธีโดยทั่วไปใช้เลือดครบส่วน (whole blood) ที่ใช้ EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) เป็นสารกันเลือดแข็ง การตรวจมีหลักการที่สำคัญอยู่ 2 หลักการ หลักการแรกคือการตรวจในร่องโครงสร้าง วิธีตรวจที่นิยมคือ affinity-binding chromatography และ immunochemical assays ส่วนหลักการที่สอง คือการตรวจในร่องของประจุ วิธีตรวจที่นิยมคือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ด้วยความหลากหลายของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์แต่ละเครื่องมือ ข้อดีข้อเสียต่างกัน ดังนั้นทางห้องปฏิบัติการจึงต้องพิจารณาอย่างรอบคอบในหลายด้าน เพื่อให้ได้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด และเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา

ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา บางครั้งมีการใช้งานเครื่องมือตรวจวิเคราะห์มากกว่าหนึ่งเครื่อง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความรวดเร็วของการตรวจวิเคราะห์และไว้สำรองกรณีที่เครื่องตรวจวิเคราะห์เครื่องใดเครื่องหนึ่งมีปัญหา ซึ่งเครื่องมือตรวจวิเคราะห์สำรองนี้อาจจะเป็นยี่ห้อหรือรุ่นเดียวกัน หรือต่างรุ่นต่างยี่ห้อกัน ใช้งานสลับกัน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือกรณีที่ส่งตรวจจากผู้ป่วยที่กำลังได้รับการรักษาอยู่และจำเป็นต้องมีการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า HbA1c ซึ่งแต่ละครั้งทางห้องปฏิบัติการอาจจะใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์คนละเครื่องหรือคนละหลักการก็ได้ จึงต้องมีการทดสอบการทำงานของ

เครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา ว่าสามารถทำการตรวจวิเคราะห์ให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่เท่ากันหรือใกล้เคียงกันมากที่สุด ทั้งนี้เพื่อให้มีผลการวิเคราะห์ที่ได้มาตรฐานใกล้เคียงกันไม่ว่าจะวิเคราะห์ด้วยเครื่องใดก็ตาม จึงมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ในกรณีที่ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา ที่มีเครื่องมากกว่าหนึ่งเครื่อง ซึ่งเมื่อพิจารณาจากมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2555 สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ จะสอดคล้องกับข้อกำหนดในมาตรฐานดังนี้ ข้อที่ 5.2 การประกันคุณภาพวิธีการวิเคราะห์ ข้อย่อยที่ 5.2.5 การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หรือเครื่องมือกรณีที่ใช้การวิเคราะห์หลายวิธี หรือใช้เครื่องมือหลายเครื่อง เพื่อทำการวิเคราะห์ชนิดเดียวกัน ในสถานที่เดียวกัน ต้องมีกลไกเปรียบเทียบผลเพื่อทวนสอบผลการวิเคราะห์นั้น<sup>5</sup>

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราชินีมีวิธีมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ HbA1c คือวิธี Immunospectrophotometry เป็นวิธีที่ได้รับ NGSP –certifications (National Glycohemoglobin Standardisation Program) และ IFCC certifications (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีมาตรฐานดี ใช้หลักการ immunoassays ปัจจุบันมีการพัฒนาคุณภาพของ antibody ให้มีความจำเพาะ แม่นยำสูง และสามารถตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ประมาณ 150 การทดสอบต่อชั่วโมง ข้อเสียคือ เครื่องวิเคราะห์มีอายุการใช้งานมากกว่า 10 ปี เครื่องมีปัญหาบ่อย เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก-ภูมิคุ้มกัน ออกผลการวิเคราะห์ล่าช้า ส่วนวิธี HPLC ทางบริษัท Drew Bio Thai ได้อนุเคราะห์ให้มาทดลองวิเคราะห์เปรียบเทียบ เป็นเครื่องรุ่นใหม่ ใช้หลักการ HPLC เป็นวิธีที่ได้รับ NGSP certifications และ IFCC certifications เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีมาตรฐานดี วิเคราะห์ได้รวดเร็วประมาณ 75 การทดสอบต่อชั่วโมง และข้อดีคือใช้ได้ทั้ง NaF (Nadium Fluoride) whole blood และ EDTA whole blood ในการตรวจวิเคราะห์ ข้อเสียคือไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ ในผู้ป่วย homozygous HbE (Hb EE)

## วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็น การวิจัยสิ่งส่งตรวจจากร่างกาย ศึกษา 2 วิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c ในสิ่งส่งตรวจ EDTA whole blood หลอดเดียวกัน การศึกษานี้ขนาดตัวอย่างอ้างอิงจากบทความของ นวพรรณ จารุรักษ์<sup>6</sup> ได้จำนวนตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ทดสอบโดยทั่วไปจำนวน 40 ตัวอย่าง เป็นจำนวนต่ำสุดที่เพียงพอต่อการสรุปผลทางสถิติ สำหรับตัวอย่างที่มีจำนวนมากขึ้น จะให้ผลทางสถิติที่น่าเชื่อถือยิ่งขึ้น ดังนั้นห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งควรพิจารณาตามความเหมาะสม

หลังจากได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยของคณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลแล้ว ผู้วิจัยได้ใช้ EDTA whole blood จากผู้ป่วยที่เข้ารับบริการตรวจทางห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาลจำนวน 160 ราย แต่ละรายแพทย์ได้ส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c เป็นปกติในการตรวจรักษา (routine practice) โดยเลือดแต่ละหลอดมีปริมาตรประมาณ 1-3 มิลลิลิตร นำตัวอย่าง EDTA whole blood ของผู้ป่วยมาวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c โดยใช้เครื่อง Cobas รุ่น Integra 800 (ใช้เลือดตรวจวิเคราะห์ปริมาณ 12 ไมโครลิตร)โดยใช้หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ปัจจุบันห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา ใช้ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c หลังจากวิเคราะห์วิธีแรกแล้วจึงนำตัวอย่างเลือดที่เหลือ นำมาวิเคราะห์ต่อด้วยเครื่อง ADAMS A1C รุ่น HA 8180V ซึ่งใช้เลือดตรวจวิเคราะห์ปริมาณ 14 ไมโครลิตร โดยใช้หลักการ HPLC ในทันที แล้วนำค่าที่วิเคราะห์ได้ทั้งสองหลักการ มาแบ่งระดับความเข้มข้นที่มีความสำคัญทางคลินิกที่แตกต่างกัน คือ ระดับ 1 ช่วงปกติความเข้มข้นของปริมาณ HbA1c 4-6.4% จำนวน 54 ราย ระดับ 2 ช่วงวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวานความเข้มข้นของปริมาณ HbA1c 6.5-8% จำนวน 64 ราย และระดับ 3 ความเข้มข้นของปริมาณ HbA1c มากกว่า 8% จำนวน 42 ราย แต่ละช่วงมีจำนวนไม่เท่ากัน และมีความสำคัญทางคลินิกที่แตกต่างกัน ดังนั้นการหาความสัมพันธ์ทางสถิติจึงต้องแบ่งเป็น 3 ช่วง และ นำค่าที่ได้แต่ละช่วงมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติ การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของงานประจำห้องปฏิบัติการ ตัวอย่าง EDTA whole

blood ทุกตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์แพทย์ได้ส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c เป็นปกติในการตรวจรักษา ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยโปรแกรม excel 2010 โดย<sup>7</sup>

1. หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์หรือ coefficient of correlation (r) เพื่อดูความสัมพันธ์ทางสถิติของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสอง
2. หาค่าสมการถดถอยเชิงเส้นตรง  $y=ax+b$  แสดงสัมพันธ์ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองด้วยสมการเส้นตรง
3. หาค่า within-run, between-run เพื่อดูความแม่นยำ (precision) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสอง
4. หาค่า %bias (Bland-Altman plot) เพื่อดู inaccuracy หรือ systematic errors ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสอง
5. หาค่า F-test เพื่อดูความแปรปรวนของข้อมูลทั้งสองวิธี
6. หาค่า t-test เพื่อทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทั้งสองวิธี ดูความแม่นยำของวิธีทดสอบ

## ผลการวิจัย

1. ประเมินผลจากข้อมูลทางสถิติค่า correlation coefficient ได้มากกว่า 0.900 ทั้งสามระดับความเข้มข้นคือระดับ 1 ได้  $r=0.941$  สมการถดถอยเชิงเส้นตรง  $y=1.066x-0.451$ , ระดับ 2 ได้  $r=0.923$  สมการถดถอยเชิงเส้นตรง  $y=0.982x+0.219$  และระดับ 3 ได้  $r=0.989$  สมการถดถอยเชิงเส้นตรง  $y=1.024x-0.017$  แสดงว่าผลจากการวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c ของเครื่องมือทั้งสองมีผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันในระดับดี (รูปที่ 1)

2. ประเมินผลจากการทดสอบความแม่นยำ (precision) โดยหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนที่ทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (within-run) เครื่อง Cobas Integra 800 ได้  $SD=0.05$ ,  $\%CV=0.78$  เครื่อง ADAMS A1C HA8180V ได้  $SD=0.05$ ,  $\%CV=0.79$  และทำการวิเคราะห์ระหว่างวัน (between-run) เครื่อง Cobas Integra 800 ได้  $SD=0.08$ ,  $0.16$  และ  $\%CV=1.47$ ,  $1.58$  เครื่อง ADAMS A1C HA8180V ได้  $SD=0.10$ ,  $0.13$  และ  $\%CV=1.78$ ,  $1.58$  ประเมินผลจากค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบน

มาตรฐานและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของทั้งสองวิธีมีความแม่นยำ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานดี (coefficient of variation,  $\%CV < 2\%$ )

3. ประเมินผลจากการทดสอบหา %Bias (Bland-Altman plot) เพื่อดู inaccuracy หรือ systematic errors เป็นกราฟการกระจาย แสดงผลค่าการกระจายผลต่างของค่าวิเคราะห์ทั้งสองวิธี รูปแบบที่ปรากฏยอมรับได้ว่าทั้งสองวิธีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานดี จะเห็นได้จากการกระจายผลต่างของค่าวิเคราะห์ทั้งหมด กระจายอยู่บริเวณใกล้เส้นศูนย์ของทั้งสามระดับความเข้มข้น (รูปที่ 2)

4. ประเมินผลจากการทดสอบแบบ F-test เพื่อดูความแปรปรวนของข้อมูลทั้งสองวิธี ค่า F ที่คำนวณได้ = 1.134 นำไปเทียบกับค่า F จากตาราง (critical values of F for  $p=0.05$ ) ได้ = 1.392 แล้วค่า F ที่คำนวณได้น้อยกว่า แสดงว่าค่า SD ที่เกิดจากวิธีใหม่ไม่แตกต่างจากวิธีเดิม แสดงว่าความแปรปรวนของข้อมูลทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

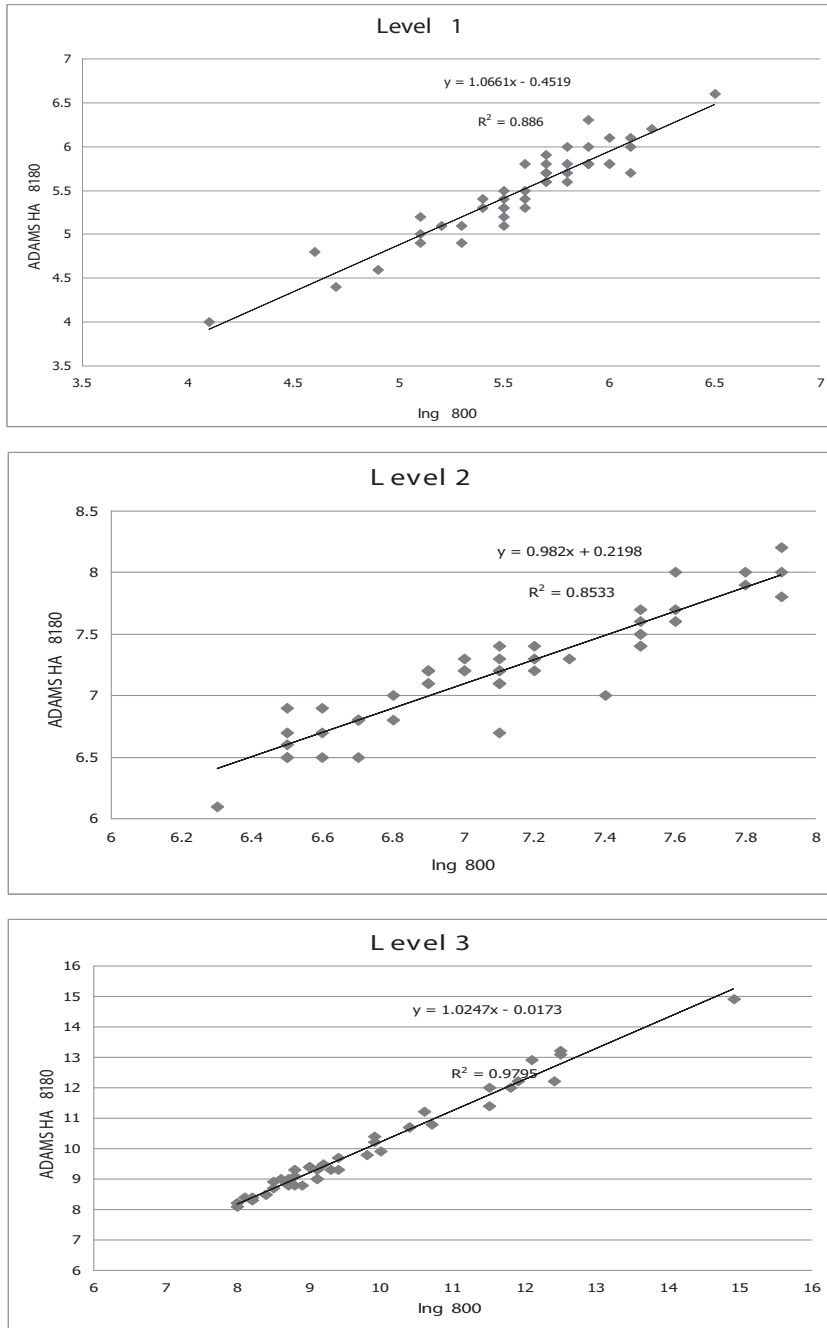
5. ประเมินผลจากการทดสอบแบบ t-test เป็นการทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทั้งสองวิธี ดูความแม่นยำของวิธีทดสอบ ประเมินผลจากการทดสอบแบบ t-test ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% ( $p=0.05$ ) ค่า t ที่คำนวณได้ = 0.316 นำไปเทียบกับค่า t critical two-tail t จากตาราง critical t-value Two-sided Intervals ได้ = 1.968 แล้วค่า t ที่คำนวณได้น้อยกว่าค่า t critical two-tail แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งสองวิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

## วิจารณ์

การศึกษานี้ใช้สิ่งส่งตรวจจำนวน 160 รายการมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c และนำค่าที่ได้มาแยกระดับความเข้มข้นตามความสำคัญทางคลินิกได้ 3 ระดับ คือ ช่วงปกติ HbA1c 4-6.4% จำนวน 54 ราย ช่วงวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวาน HbA1c 6.5-8% จำนวน 64 ราย และ HbA1c มากกว่า 8% จำนวน 42 ราย แต่ละช่วงมีจำนวนไม่เท่ากัน และมีความสำคัญทางคลินิกที่แตกต่างกัน ดังนั้นการหาค่าสัมพัทธ์ทางสถิติจึงต้องแบ่งเป็น 3 ช่วง และนำค่าที่ได้แต่ละช่วงมาหาค่าสัมพัทธ์ทางสถิติ ได้  $r=0.941$ ,  $0.923$  และ  $0.989$  จะเห็นว่าช่วง HbA1c > 8% มีความสัมพันธ์ทางสถิติ

มากที่สุด แต่การพิจารณาว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์สองเครื่องสามารถใช้งานแทนกันได้โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นั้น จึงควรพิจารณาอย่างอื่นร่วมด้วย เช่น การทดสอบค่า t-test เพื่อทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ

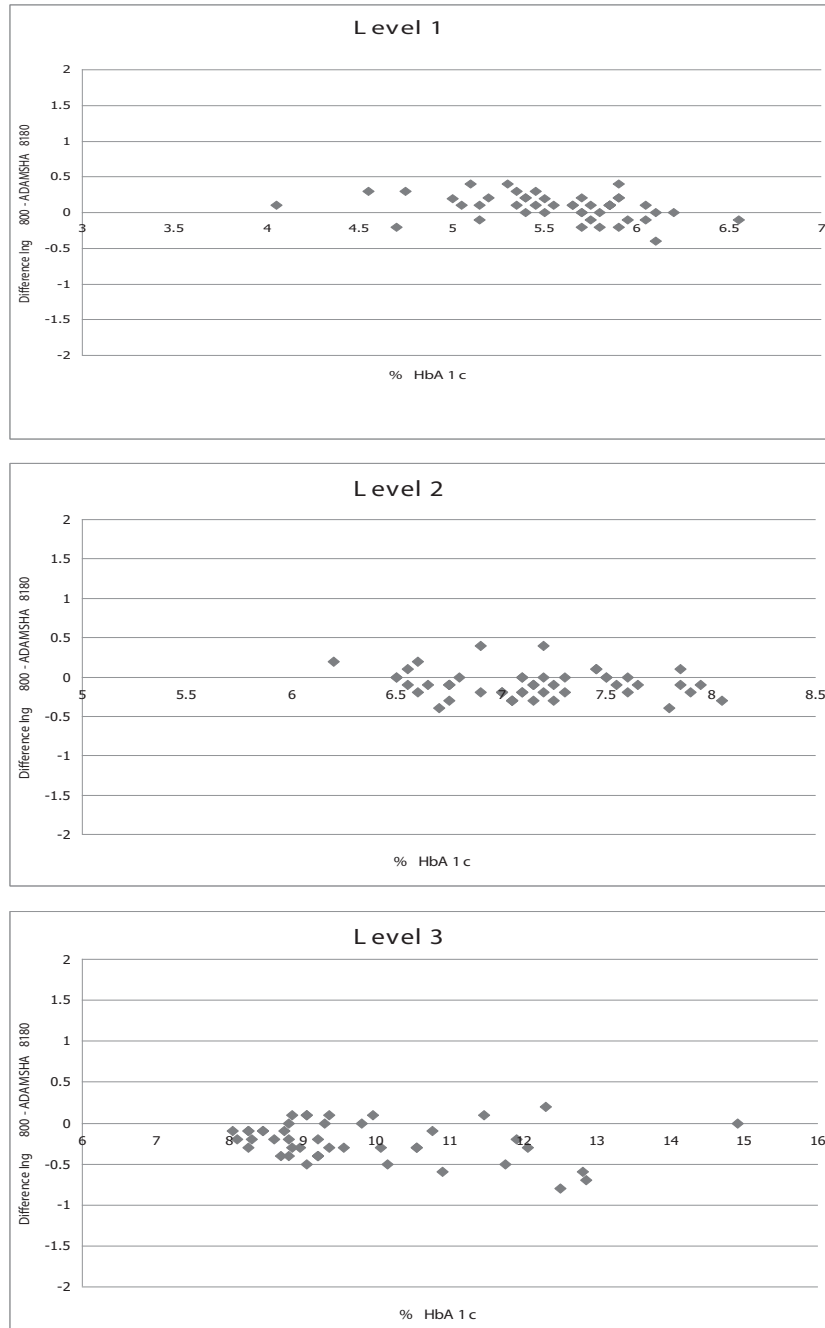
ทั้งสองวิธี ดูความแม่นยำของวิธีทดสอบ และการทดสอบ F - test เพื่อดูความแปรปรวนของข้อมูลทั้งสองวิธี จากผลการศึกษาทั้งหมดแสดงว่าการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์ทางสถิติที่



**รูปที่ 1:** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของ HbA1c เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cobas Integra 800 และ ADAMS A1C รุ่น HA8180V; Level 1 ช่วง HbA1c 4-6.4%, Level 2 ช่วง HbA1c 6.5-8% และ Level 3 ช่วง HbA1c มากกว่า 8%

ดี และให้ค่าตรวจวิเคราะห์ที่สอดคล้องกัน ในทั้ง 3 ระดับ ความเข้มข้น สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้<sup>8,9,10</sup> จากการศึกษาครั้งนี้ มีส่วนช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานตลอดจนผู้รับบริการมีความมั่นใจในความถูกต้องและความไม่แตกต่างของการ

รายงานผลการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการและ สอดคล้องกับมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ พ.ศ.2555 ข้อ 5.2.5



**รูปที่ 2:** แสดงผลค่าการกระจายผลต่างของค่าการวิเคราะห์ HbA1c เมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cobas Integra 800 และ ADAMS A1C รุ่น HA8180V; Level 1 ช่วง HbA1c 4-6.4%, Level 2 ช่วง HbA1c 6.5-8% และ Level 3 ช่วง HbA1c มากกว่า 8%

จากข้อมูลดังกล่าวสรุปได้ว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1cในงานวิจัยนี้มีหลักการตรวจที่แตกต่างกันเมื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติ พบว่าทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์ทางสถิติที่ดีและให้ค่าตรวจวิเคราะห์ที่สอดคล้องกันทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ จะตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA1c นั้น ควรต้องคำนึงถึงข้อจำกัดของวิธีการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ เช่น วิธี Immunoassay และ HPLC ถ้านำมาตรวจวิเคราะห์ในผู้ป่วยภาวะที่เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้น เช่น ผู้ป่วยที่เป็นโรคทาลัสซีเมีย โรค sickle cell anemia อาจได้ผลตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ถูกต้อง และในผู้ป่วย homozygous HbE (Hb EE) วิธี HPLC ไม่สามารถนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์ได้ ห้องปฏิบัติการอาจจำเป็นต้องหาวิธีตรวจวิเคราะห์อื่นที่เหมาะสมมาตรวจวิเคราะห์ในผู้ป่วยกลุ่มนี้

**กิตติกรรมประกาศ**

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาและควบคุมการวิจัยในคนของกรุงเทพมหานครที่อนุมัติให้ดำเนินการวิจัย คณบดี คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช หัวหน้าฝ่ายชั้นสูตโรคกลางและธนาคารเลือด หัวหน้าห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก-ภูมิคุ้มกันวิทยาที่อนุญาตให้เผยแพร่ผลงานวิจัย ศูนย์ส่งเสริมการวิจัยที่ให้คำแนะนำในการวิจัย เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและช่วยให้การศึกษาวิจัยลุล่วงด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

1. นวพรรณ จารุรักษ์. Update A1c: From Questions to Answers. กรุงเทพฯ: ไทยพิมพ์; 2556.
2. International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care 2009; 32: 1327-34.

3. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2011. Diabetes Care 2011; 34(suppl 1): S11-61.
4. ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี, มาลีดา พรพัฒน์กุล, ปราณี พูเจริญ, ทศนีย์ เล็บนาค, บรรณาธิการ. คู่มือการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: เครือข่ายงานทาลัสซีเมียและมูลนิธิโรคโลหิตจางทาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย; 2541.
5. สมาคมนิติการแพทย์. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2555 สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: สมาคมนิติการแพทย์; 2555.
6. นวพรรณ จารุรักษ์. Method Validation. กรุงเทพฯ: Bumrungrad International; 2555: p. 18-46.
7. Varasuppawit C. Program Excel. Bureau of Laboratory Accreditation (BLA) Department of Science and Technology 2009; 14: 12-9.
8. Subcharoan U. Comparative Study of HbA1c Measurement Using HPLC, Immunoassay and Affinity Chromatography Techniques Based on Hemoglobin Typing. Med Tech Assoc Thailand 2013; 41: 4448-55.
9. Yasmeen F, Mumtaz A, Adhami S, Qureshi S. Comparison of Cation Exchange HPLC and Immunospectrometric Method for Determination of HbA1c. Biomedica 2011; 27: 161-5.
10. Antunes MV, Wagner SC, Camargo JL, Linden R. Standardization of method for determining glycosylated hemoglobin (HbA1c) by cation exchange high-performance liquid chromatography. Bras J Pharm Sci 2009; 45: 652-6.