

## นิพนธ์ต้นฉบับ

**การเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ Alpha-fetoprotein (AFP) ในซีรัมด้วยวิธี Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) และวิธี Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA)**

อารีย์ ประสิทธิ์พยงค์\*, ผ่องพรรณ ร่มหิรัญ\*, สมมาตรย์ จันทร\*

**บทคัดย่อ**

ในการศึกษานี้คณะผู้วิจัยได้ศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ Alpha fetoprotein (AFP) ระหว่างวิธี Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) และวิธี Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) ในซีรัมของผู้มารับบริการที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 300 ราย ซึ่งผลการศึกษาที่ได้พบว่าระดับ AFP ที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการทดสอบด้วย paired t-test ( $p>0.05$ ) และเมื่อทำการทดสอบโดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) มีค่า  $r$  เท่ากับ 0.996 ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองวิธี ดังนั้นจึงสามารถนำวิธี MEIA และวิธี ECLIA มาใช้แทนกันในการตรวจวิเคราะห์ระดับ AFP ในห้องปฏิบัติการได้ วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2549; 39: 19-26.

**คำรหัส:** Alpha-fetoprotein (AFP), Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA), Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA)

---

\* งานอิมมูโนวิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ

## Abstract : Comparison in Determination of Alpha-fetoprotein by Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) and Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA)

Aree Prasitthipayong\*, Phongphan Romhirun \*, Sommart Jantorn\*

In this study we compared serum level of alpha-fetoprotein (AFP) determined by Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) and Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) in 300 serum samples obtained from routine check up and other clinics at the National Cancer Institute, Bangkok. Our findings showed no statistically significant difference between these two methods ( $p > 0.05$ ,  $r = 0.996$ ). Therefore, either MEIA or ECLIA could be used for determination of serum AFP level in routine laboratory since they provided similar results. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2006; 39: 19-26.

**Key words :** Alpha-fetoprotein (AFP), Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA), Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA)

---

\*Immunology Section, Pathology Department, National Cancer Institute, Bangkok

### บทนำ

Alpha-fetoprotein (AFP) เป็น glycoprotein มีน้ำหนักโมเลกุล 7,000 daltons ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1956 โดย Bergstrand และ Czar สร้างจาก Yolk sac ตับ และทางเดินอาหารของทารกตั้งแต่อายุครรภ์ 4 สัปดาห์ ระดับของ AFP จะเพิ่มสูงสุดระหว่างสัปดาห์ที่ 12 และ 16 แล้วค่อยๆ ลดลงจนถึงคลอด หลังคลอดระดับ AFP จะลดลงอย่างรวดเร็วจนทารกอายุ 1 ปีระดับของ AFP ในซีรัมทารกจึงเท่ากับผู้ใหญ่<sup>1,2,3</sup>

AFP เป็นสารบ่งชี้มะเร็ง (Tumor marker) ที่สำคัญ และมีประโยชน์มากที่สุดในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งของ เซลล์ตับ (Hepatocellular carcinoma, HCC) ซึ่งเป็น มะเร็งที่พบเป็นลำดับต้นๆ โดยเฉพาะในประเทศแถบ

เอเชีย ซึ่งพบผู้ป่วยตับอักเสบเรื้อรังจำนวนสูงกว่าและมี อายุเฉลี่ยที่พบเป็นมะเร็งตับน้อยกว่าประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศแถบยุโรป<sup>4,5</sup> ตลอดจนเป็นสาเหตุ การตายที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งในบรรดาผู้ป่วยมะเร็ง ทุกชนิด จากรายงานการศึกษาพบว่า 80% ของผู้ป่วย มะเร็งของเซลล์ตับมีระดับ AFP สูงกว่าในคนปกติ<sup>6</sup>

AFP นอกจากจะใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยมะเร็ง ของเซลล์ตับแล้ว ยังใช้ในการตรวจกรองมะเร็งของเซลล์ ตับในประชากรกลุ่มเสี่ยงด้วย ซึ่งได้แก่ผู้ป่วยตับอักเสบ เฉียบพลัน ตับอักเสบเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัส ตับอักเสบบี ตับแข็ง ผู้ที่เป็นพาหะของไวรัสตับอักเสบบี เป็นต้น โดยในผู้ป่วยกลุ่มนี้ระดับ AFP ในซีรัมอาจสูงกว่า ค่าปกติได้แต่จะไม่สูงกว่า 100 ng/ml<sup>7</sup> และระดับ AFP

ยังสามารถใช้ร่วมกับระดับ human chorionic gonadotropin (hCG) ในการวินิจฉัย germ cell tumors ได้ด้วย<sup>๑๘</sup>

ปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์ระดับ AFP ในซีรัมสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธี radioimmunoassay (RIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นต้น สำหรับการศึกษาค้างนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษเปรียบเทียบวิธีการตรวจวิเคราะห์ระดับ AFP ในซีรัมโดยวิธี Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) และวิธี Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA)

#### วัสดุและวิธีการ

##### กลุ่มตัวอย่าง

ซีรัมได้จากผู้ที่มารับบริการตรวจสุขภาพประจำปี ที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติจำนวน 140 ราย และจากผู้ป่วยคลินิกอื่นๆ เช่น คลินิกโรคตับ คลินิกระบบส่งต่อ ผู้ป่วยรังสีเคมีบำบัด ฯลฯ ที่มารับบริการตรวจทางห้องปฏิบัติการอิมมูโนวิทยาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติอีกจำนวน 160 ราย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2547 จนถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2548 รวมจำนวนทั้งหมด 300 ราย

#### วิธีการทดลอง

##### 1. การเตรียมซีรัมควบคุม

วิธี MEIA (เครื่อง AxSYM, Abbott Laboratories, สหรัฐอเมริกา) : ซีรัมควบคุมอยู่ในรูปสารละลาย สามารถนำมาใช้ได้เลย

วิธี ECLIA (เครื่อง Elecsys2010, Roche Diagnostics, เยอรมนี) : ละลายซีรัมควบคุมด้วยน้ำกลั่นตามปริมาตรที่กำหนด ตั้งทิ้งไว้ให้ละลาย แบ่งใส่ cup แล้วเก็บที่ -30°C

##### 2. การเก็บตัวอย่างและการเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ระดับ AFP ด้วยวิธี MEIA และวิธี ECLIA

เก็บซีรัมของผู้มาตรวจสุขภาพประจำปีและผู้ป่วยคลินิกอื่นๆ ที่มารับการตรวจทางห้องปฏิบัติการอิมมูโนวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปตรวจหาระดับ AFP ด้วยวิธี MEIA และอีกส่วนหนึ่งนำไปตรวจหาระดับ AFP ด้วยวิธี ECLIA

โดยใช้เครื่อง AxSYM และ Elecsys 2010 ตามลำดับ

ตรวจหาระดับ AFP โดยทำตามขั้นตอนรายละเอียดที่ระบุไว้ในคู่มือของบริษัท

##### 3. การคำนวณผลการตรวจ

เครื่องตรวจวิเคราะห์จะคำนวณค่า AFP ให้อัตโนมัติโดยที่เครื่อง AxSYM มี measuring range และ analytical sensitivity (lower detection limit) เท่ากับ 0.4-350 ng/ml และ 0.40 ng/ml ตามลำดับ และเครื่อง Elecsys 2010 เท่ากับ 0.605-1210 ng/ml และ 0.61 ng/ml ตามลำดับ

##### 4. การทดสอบความแม่นยำ (precision)

การทดสอบความแม่นยำทำตามข้อกำหนดของ European Committee for Clinical Laboratory Standards (ECCLS)<sup>๑๙</sup> ดังนี้

###### ก. การทดสอบ within-run precision

วิธี MEIA: ทำการตรวจวัดระดับ AFP ใน control low concentration และ high concentration จำนวน 21 ตัวอย่างภายใน 1 วัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV)

วิธี ECLIA: ทำการตรวจวัดระดับ AFP ใน PreciControl TM1 และ PreciControl TM2 จำนวน 21 ตัวอย่างภายใน 1 วัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

###### ข. การทดสอบ between-run precision

วิธี MEIA: ทำการตรวจวัดระดับ AFP ใน control low concentration และ high concentration วันละ 1 ตัวอย่างจำนวน 21 วัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

วิธี ECLIA: ทำการตรวจวัดระดับ AFP ใน PreciControl TM1 และ PreciControl TM2 วันละ 1 ตัวอย่างจำนวน 21 วัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

## หลักการทดสอบ

วิธี MEIA: ใช้หลักการ enzyme immunoassay โดยมีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาตามเอกสารที่แนบมากับน้ำยาของบริษัท

วิธี ECLIA: ใช้หลักการ sandwich immunoassay โดยมีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาตามเอกสารที่แนบมากับน้ำยาของบริษัท

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้โปรแกรม Excel 2003 ในการบันทึกผลการทดสอบและคำนวณข้อมูลทางสถิติ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน, สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r), สมการถดถอยเชิงเส้นตรง และ paired t-test

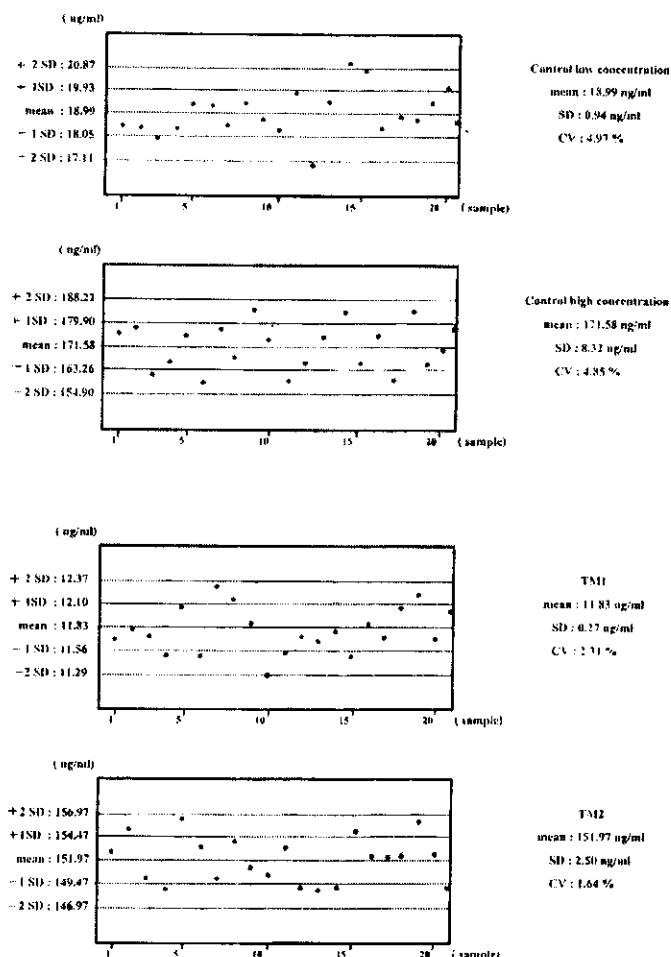
## ผลการศึกษา

### 1. การทดสอบความแม่นยำ

#### ก. ผลการทดสอบ within-run precision

ผลการตรวจหาระดับ AFP ใน control low concentration มีค่าเฉลี่ย 18.99 ng/ml, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.94 ng/ml สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 4.97% และใน control high concentration มีค่าเฉลี่ย 171.58 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 8.32 ng/ml สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 4.85% (รูปที่ 1)

ผลการตรวจหาระดับ AFP ใน TM1 พบว่ามีค่าเฉลี่ย 11.83 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.27 ng/ml สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 2.31% และ TM2 มีค่าเฉลี่ย 151.97 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.50 ng/ml สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 1.64 % (รูปที่ 1)



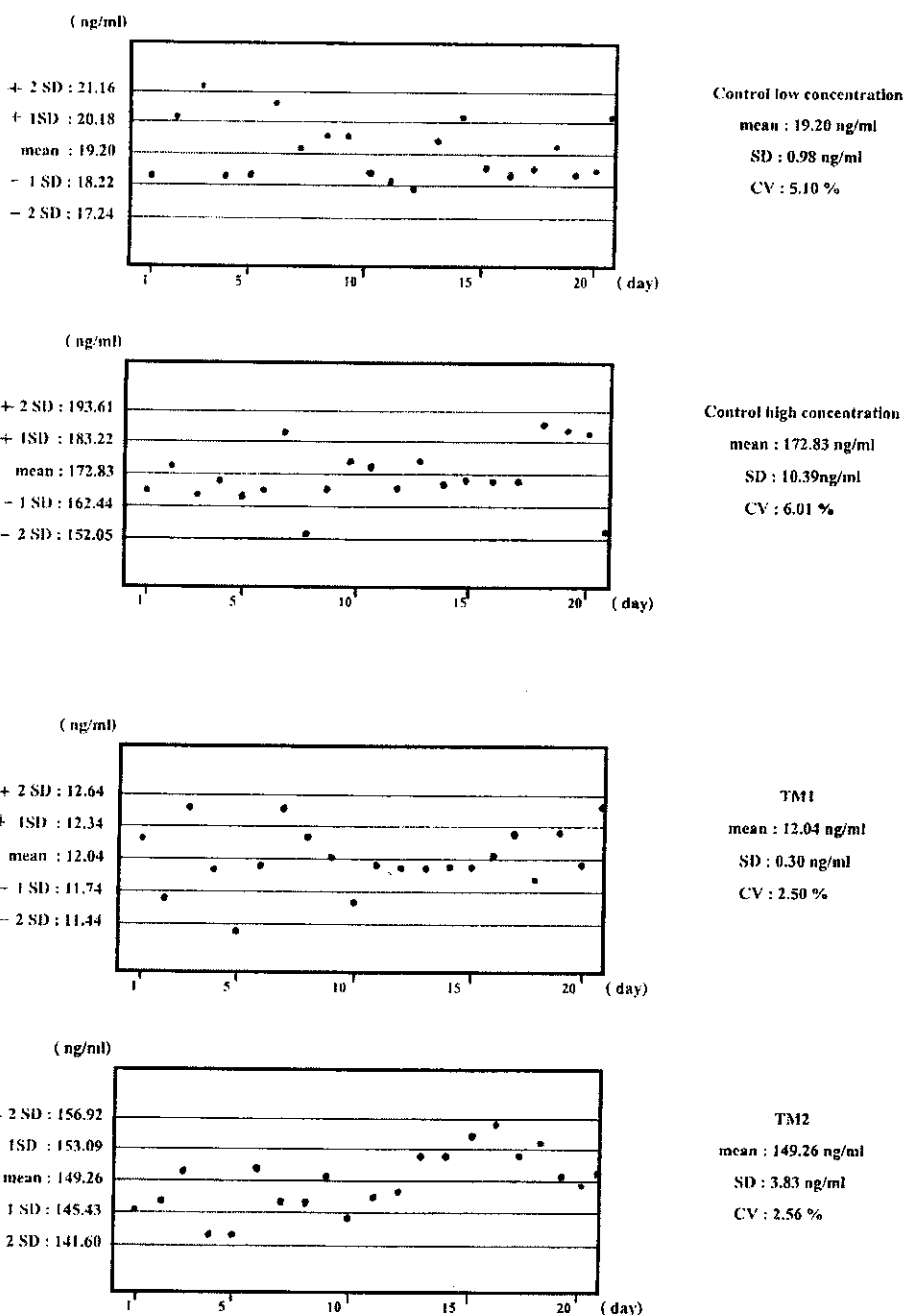
รูปที่ 1 ผลการทดสอบ within-run precision ของเครื่อง AxSYM และ Elecsys 2010

## ข. ผลการทดสอบ between-run precision

ผลการตรวจหาระดับ AFP ใน control low concentration มีค่าเฉลี่ย 19.20 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.98 ng/ml, สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 5.10% และใน control high concentration มีค่าเฉลี่ย 172.83 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 10.39 ng/ml, สัมประสิทธิ์ความ

แปรปรวน 6.01% (รูปที่ 2)

ผลการตรวจหาระดับ AFP ใน TM1 มีค่าเฉลี่ย 12.04 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.30 ng/ml สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 2.50% และ TM2 มีค่าเฉลี่ย 149.26 ng/ml, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.83 ng/ml สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 2.56 % (รูปที่ 2)

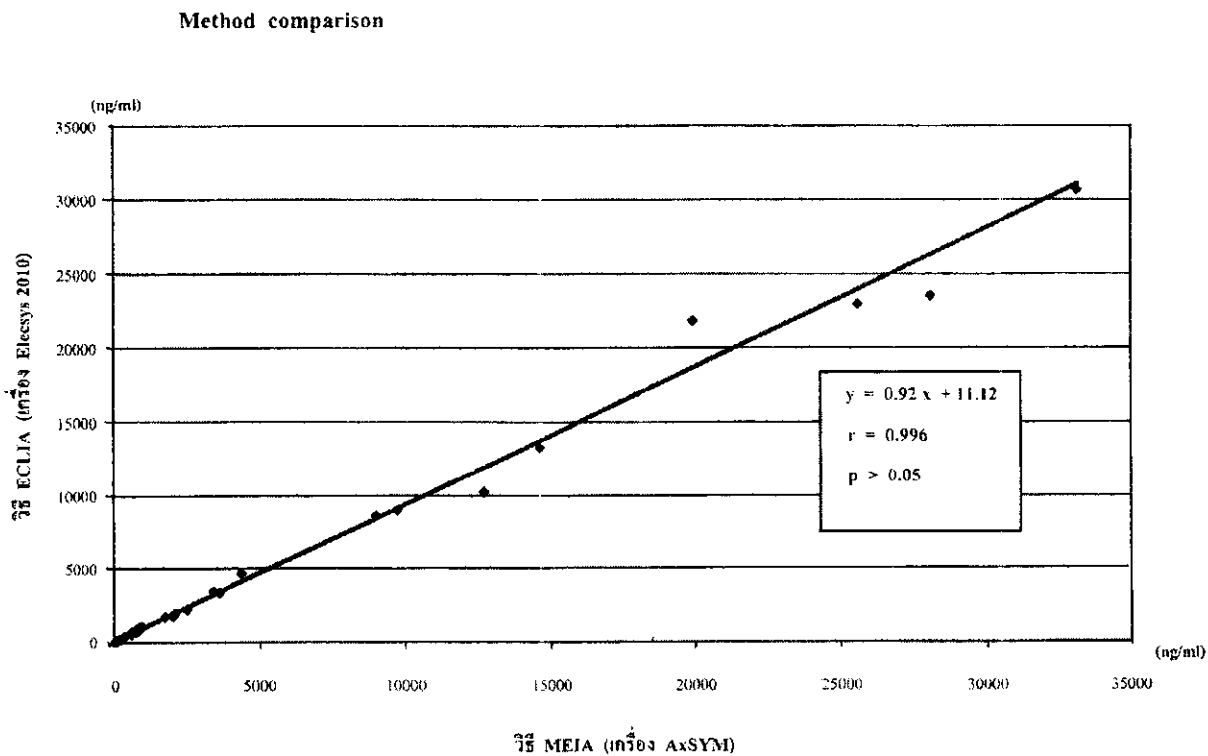


รูปที่ 2 ผลการทดสอบ between-run precision ของเครื่อง AxSYM และ Elecsys 2010

2. การเปรียบเทียบระดับ AFP ที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากวิธี MEIA และวิธี ECLIA

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจหาระดับ AFP ด้วยวิธี MEIA โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ AxSYM และ วิธี ECLIA โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Elecsys 2010 จากตัวอย่างเลือดทั้งหมดจำนวน 300 ราย พบว่าวิธี MEIA ให้ผลการตรวจ AFP อยู่ระหว่าง 1.07-33135.31 ng/ml และค่าเฉลี่ย 638.90 ng/ml ส่วนวิธี

ECLIA พบค่าอยู่ระหว่าง 0.69-30670.00 ng/ml และค่าเฉลี่ย 596.08 ng/ml เมื่อทดสอบด้วย paired t-test พบว่าระดับ AFP ที่ตรวจได้จากทั้งสองวิธีนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.87$ ) และเมื่อนำมาทดสอบโดยใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พบว่ามีค่า  $r = 0.996$  และสมการถดถอยเชิงเส้นตรงคือ  $y = 0.92x + 11.12$  (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ AFP ด้วยวิธี MEIA และวิธี ECLIA โดยการใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)

วิจารณ์และสรุป

ผลการทดสอบทางสถิติด้วย paired t-test ของวิธี MEIA และ ECLIA พบว่าระดับ AFP ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) โดยมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.996 และสมการถดถอยเชิงเส้นตรงคือ  $y = 0.92x + 11.12$  ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองวิธี

ดังนั้นจึงสามารถนำวิธี MEIA และวิธี ECLIA มาใช้แทนกันได้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับ AFP ในห้องปฏิบัติการ

ปัจจุบันการตรวจหา AFP ในเลือดสามารถทำได้หลายวิธี ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งสามารถเลือกใช้ได้ตามความเหมาะสมของห้องปฏิบัติการนั้นๆ โดยมีปัจจัยอื่นๆ หลายประการในการประกอบการตัดสินใจซึ่งได้แก่วิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ ไมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ใช้ใน

การทำปฏิกิริยา ความไว ความถูกต้อง ความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ ช่วงการตรวจวิเคราะห์ที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้ตลอดจนข้อจำกัดอื่นๆ ในการตรวจวิเคราะห์ รวมถึงค่าใช้จ่ายต่างๆ ในการทดสอบซึ่งได้แก่ค่าน้ำยา และอุปกรณ์ประกอบอื่นๆ

เป็นที่ทราบกันดีว่าประโยชน์ของ AFP ตลอดจนสารบ่งชี้มะเร็ง (tumor markers) ชนิดอื่นๆ ที่สำคัญที่สุดคือการใช้ประเมินและติดตามผลการรักษาผู้ป่วยของแพทย์ ดังนั้นจึงควรใช้วิธีเดียวกันในการติดตามผลการรักษาผู้ป่วยเนื่องจากแต่ละวิธีมีความแตกต่างกันตามปัจจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวมาข้างต้น และหากห้องปฏิบัติการใดต้องการเปลี่ยนวิธีการตรวจหรือเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ ควรแจ้งให้แพทย์ทราบและรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีเพื่อให้แพทย์ใช้เปรียบเทียบกับวิธีการเดิมในการประเมินผลและติดตามผลการรักษาผู้ป่วยครั้งต่อไป นอกจากนี้การที่จะใช้สารบ่งชี้มะเร็งใดก็ตามให้เกิดประโยชน์สูงสุด แพทย์จะต้องคำนึงถึงสภาวะของผู้ป่วยด้วย เช่น ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาที่เตรียมจาก mouse monoclonal antibodies ซึ่งอาจทำให้ในเลือดของผู้ป่วยมี human anti-mouse antibodies (HAMA) และรบกวนต่อการตรวจวิเคราะห์ AFP ได้<sup>10,11</sup> ตลอดจนเวลาในการตรวจติดตามครั้งต่อไปก็เป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องคำนึงถึง ตัวอย่างเช่น ระดับ CEA ซึ่งใช้ในการติดตามการรักษา มะเร็งลำไส้ใหญ่จะลดลงสู่ระดับปกติหลังจากผู้ป่วยผ่าตัดแล้วประมาณ 1-2 เดือนถ้าการผ่าตัดได้ผล แต่จะคงอยู่ระดับเดิมหรือสูงขึ้นหากการผ่าตัดไม่ได้ผล<sup>1,7</sup>

อย่างไรก็ตามพึงตระหนักเสมอว่ายังไม่มีสารบ่งชี้มะเร็งใดที่มีความจำเพาะ 100% คือตรวจไม่พบในคนสุขภาพปกติหรือในโรคที่ไม่ใช่โรคมะเร็งและความไว 100% คือตรวจพบได้เสมอแม้ในระยะเริ่มต้นของมะเร็ง ดังนั้นการเลือกตรวจสารบ่งชี้มะเร็งที่เหมาะสมและการแปลผลอย่างระมัดระวังประกอบกับอาการทางคลินิกอื่นๆ ของผู้ป่วยจะมีประโยชน์ต่อแพทย์มาก ปัจจุบันการศึกษาวิจัยทางด้านสารบ่งชี้มะเร็งมุ่งเน้นไปในระดับยีนและพันธุกรรม (gene markers) มากขึ้น ซึ่งเป็นที่คาดหวังว่าในอนาคตอันใกล้จะมีสารบ่งชี้มะเร็งที่มีความจำเพาะและความไวมากขึ้นกว่าที่มีอยู่ในปัจจุบัน ดังนั้นในฐานะของนักเทคนิคการแพทย์ซึ่งมีหน้าที่รับผิดชอบในด้านการ

ตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการจะต้องพร้อมรับวิทยาการใหม่ๆ ในด้านการตรวจวิเคราะห์และชั้นสูตรตลอดจนหมั่นศึกษาหาความรู้ทางวิชาการและเทคโนโลยีใหม่ๆ ด้านการแพทย์เพิ่มเติมอย่างสม่ำเสมอเพื่อประโยชน์สูงสุดของผู้ป่วย

### กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

ขอขอบคุณ ดร.สุนันทา จรียาเลิศศักดิ์ หัวหน้ากลุ่มงานวิจัย กลุ่มภารกิจวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

1. Cancer facts. "Tumor markers". (online). Available <http://cis.nci.nih.gov/> (27 April 1998).
2. บริษัท โรช ไดแอกโนสติกส์ (ประเทศไทย) จำกัด. การเลือกตรวจ Tumor markers อย่างเหมาะสม
3. Waldman TA, McIntire KR. The Use of Radioimmunoassay for Alpha-Fetoprotein in the Diagnosis of Malignancy. *Cancer* 1974; 34: 1510-515.
4. Stuart C, Anand AJ, Jenkins RL. Hepatocellular Carcinoma in the United States. *Cancer* 1996; 77, 11:1151-159.
5. Trape Jaume, Botargues JM, Porta F, *et al.* Reference Change Value for  $\alpha$ -Fetoprotein and its Application in Early Detection of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Hepatic Disease. *Clin Chem* 2003; 49:1209-211.
6. American Family Physician. "Serum Tumor Markers". (online). Available <http://www.aafp.org/> (15 September 2003).
7. Tumor Markers. (online). Available <http://www.cancer.gov/> (10 February 2002).
8. Sturgeon C. Practice Guidelines for Tumor Marker Use in the Clinic. *Clin Chem* 2002; 48, 8:1151-59.
9. Haeckel R, Busch EW, Jennings RD, Kokholm G, Truchard A. Guidelines for the evaluation of

- analysers in clinical chemistry. European Committee for Clinical Laboratory Standards Documents, Vol.3, No.2 1986:7-8 Beuth Verlag GmbH Berlin.
10. Primus FJ, Kelly EA, Hansen HJ, Goldernberg DM. "Sandwich"-Type Immunoassay of Carcinoembryonic Antigen in Patients Receiving Murine Monoclonal Antibodies for Diagnosis and Therapy. Clin Chem 1998; 34: 261.
  11. Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, Oldham RK, Morgan AC. Human Anti-Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. Cancer Res 1985; 45: 879-85.