นิพนธ์ต้นฉบับ

การเปรียบเทียบค่าน้ำตาลในเลือดที่ตรวจวัดโดยเครื่อง Advantage® กับค่ากลูโคสในพลาสมาที่ตรวจวัดโดยวิธีกลูโคส ออกซิเดส

พิศิษฐ์ นามจันทรา*

บทคัดย่อ

ผู้วิจัยได้เปรียบเทียบค่ากลูโคสในเลือดจากหลอดเลือดดำที่ตรวจวัดโดยเครื่อง Advantage® (Boehringer Mannheim, Germany) (y) กับค่ากลูโคสในพลาสมาที่ตรวจวัดโดยวิธีกลูโคส ออกซิเดส (GOD)(x) พบว่าค่าเฉลี่ย (SD) ของ 2 วิธีเท่ากับ 106.9 (54.9) และ 129.2 (61.8) มก./ดล. ตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0005$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) = 0.98 ($y = 0.87x - 5.66$, $S_{y/x} = 10.94$, $n = 87$) ค่ากลูโคสในเลือด (Advantage®) ต่ำกว่ากลูโคสในพลาสมา (GOD) โดยเฉลี่ย 17.05% (SD = 10.85) ใน การประเมิน Precision ของเครื่อง Advantage® พบว่า Within-run coefficient of variation (CV) ในตัวอย่างเลือดที่มีกลูโคส 104, 159 และ 358 มก./ดล. เท่ากับ 2.21, 4.40 และ 3.37% ตามลำดับ การทดสอบโดยใช้สารควบคุมคุณภาพที่มีกลูโคส 62 และ 335 มก./ดล. พบว่า Within-run CV เท่ากับ 2.85 และ 2.35% และ Between-run CV เท่ากับ 3.27 และ 2.84% ค่า % Recovery เฉลี่ย (Range) เท่ากับ 102.7 (95-109) เครื่อง Advantage® สะดวกสำหรับผู้ป่วยในการติดตามระดับน้ำตาลในเลือดด้วยตนเอง แต่หากต้องการเปรียบเทียบกับวิธี GOD จะต้องระวังเนื่องจากค่าจากเครื่อง Advantage® จะมีค่าต่ำกว่าวิธี GOD

คำรหัส กลูโคสในเลือด, Advantage®, การตรวจกลูโคสในเลือดด้วยตัวเอง

---

* คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต

Abstract : Comparison of Advantage® Blood Glucose with Plasma Glucose Measured by Glucose Oxidase Method

Namjuntra P.*

Venous blood glucose levels measured by Advantage® glucometer (Boehringer Mannheim, Germany) (y) were compared with plasma glucose levels measured by glucose oxidase (GOD glucose liquicolor reagent, Human, Germany) method (x). Mean (SD) values of both methods were significantly different [106.9 (54.9) and 129.2 (61.8), $p < 0.0005$] with correlation coefficient of 0.98 ($y = 0.87x - 5.66$, $S_{y/x} = 10.94$, $n = 87$). Advantage® blood glucose levels were lower than plasma glucose (GOD) by average of = 17.05% (SD = 10.85). Precision studies of Advantage® showed that within-run coefficients of variation (CV's) in blood at 104, 159, and 358 mg/dL were 2.21, 4.40, and 3.37%, respectively. Using control solutions with glucose concentration of 62 and 335 mg/dL the within-run CV's were 2.85, 2.35% and between-run CV's were 3.27, 2.84%, respectively. Average percent (range) recovery was 102.7 (95-109). Advantage® can be conveniently used for blood glucose self-monitoring, however, one should be aware of the difference between Advantage® blood glucose levels and plasma glucose levels measured by GOD method.

Key words : Blood glucose, Advantage®, self-monitoring

---

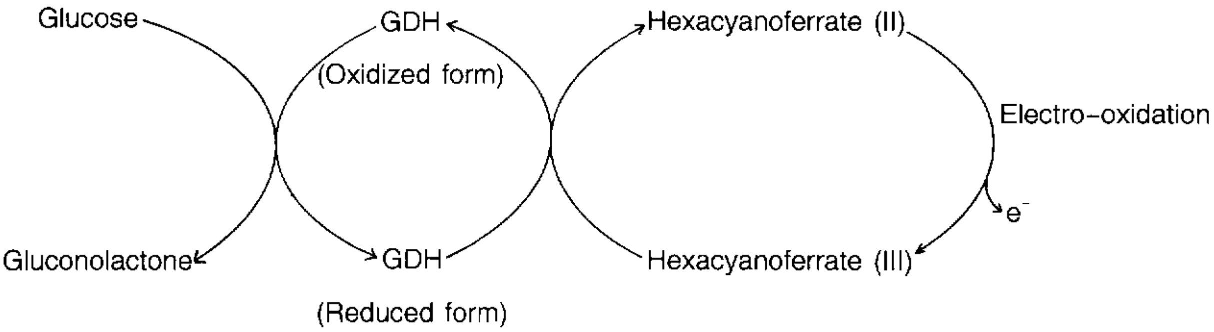
* School of Medical Technology, Division of Medicine and Health Sciences, Rangsit University.

บทนำ

การตรวจวัดกลูโคสในเลือดด้วยตนเอง (Self-monitoring of blood glucose, SMBG) มีประโยชน์ในการควบคุมระดับของกลูโคสโดยเฉพาะในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ใช้ในการวินิจฉัยและติดตามภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) และภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) เพื่อปรับแผนการรักษา การควบคุมอาหาร การดำเนินชีวิตของผู้ป่วย และประเมินผลการรักษาด้วยอินซูลิน[1] สมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา (American Diabetes Association) แนะนำว่าผู้ป่วยเบาหวาน Type I และ Type II ที่ได้รับการรักษาด้วยอินซูลินควรทำการตรวจวัดกลูโคสในเลือดด้วยตนเองได้[2] สำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยอินซูลินอาจไม่จำเป็น แต่หากทำได้ก็จะมีผลดีต่อการรักษาเช่นกัน[2,3]

เครื่องสำหรับ SMBG รุ่นแรกอาศัยหลักการ Reflectance photometry กล่าวคือเมื่อ

หยดตัวอย่างลงบนแผ่นน้ำยากลูโคสจะถูกออกซิไดซ์โดยกลูโคส ออกซิเดส (Glucose oxidase, GOD) ได้ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ Chromogens ได้สารประกอบที่มีสี จากนั้นวัดสีของสารประกอบนี้โดยใช้ Reflectance photometer ในปัจจุบันมีการใช้หลักการ Biosensor[4] โดยการตรึงเอนไซม์ เช่น กลูโคส ออกซิเดส หรือกลูโคส ดีไฮโดรจีเนส (Glucose dehydrogenase, GDH) ไว้กับอิเลคโทรดร่วมกับตัวรับ-ส่งอิเลคตรอน (Electron transfer mediator) เมื่อเกิดปฏิกิริยา Oxidation-reduction จะเกิดการรับ-ส่งอีเลคตรอนผ่านตัวรับ-ส่งอิเลคตรอนไปยัง Amperometer กระแสไฟฟ้าที่ Amperometer ตรวจวัดได้จะเป็นสัดส่วนกับปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง ในเครื่อง Advantage® มีการตรึงเอนไซม์กลูโคสดีไฮโดรจีเนสไว้กับอิเลคโทรด เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับกลูโคสจะเกิดอิเลคตรอนซึ่งจะส่งผ่านไปยังตัวรับ-ส่งอิเลคตรอน Hexacyanoferrate (III) ซึ่งเมื่อรับอิเลคตรอนแล้วจะกลายเป็น Hexacyanoferrate (II) หลังจากนั้นทำให้เกิด Electro-oxidaton เพื่อเปลี่ยนกลับไปเป็น Hexacyanoferate (III) โดยการทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างขั้วอิเลคโทรด ส่วนอิเลคตรอนที่เกิดขึ้นจะถูกวัดโดย Amperometer ปฏิกิริยาการรับ-ส่งอิเลคตรอนที่เกิดบนอิเลคโทรดเป็นดังนี้



การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเปรียบเทียบค่ากลูโคสในเลือดจากหลอดเลือดดำที่ตรวจวัดโดยเครื่อง Advantage® กับค่ากลูโคสในพลาสมาที่ตรวจวัดโดยวิธี GOD เพื่อที่จะได้ทราบว่าค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไรในกรณีที่ใช้เลือดจากหลอดเลือดดำ (Venous blood) เช่นเดียวกันและทำการตรวจวัดในเวลาใกล้เคียงกัน

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่าง : ผู้ป่วยที่มารับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลนนทเวช และโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ จำนวน 87 ราย โดยผู้ป่วยอดอาหาร 8-10 ชั่วโมงก่อน แล้วเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำใส่หลอดที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเป็นเลือดครบส่วนอีกส่วนหนึ่งปั่นแยกพลาสมา เพื่อทำการตรวจวัดที่คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ภายใน 2 ชั่วโมง โดยทำการตรวจ 2 ครั้ง (Duplicate test) ทุกตัวอย่าง

2. เครื่อง Advantage® และแถบน้ำยาทดสอบ (Test strips) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Boehringer Mannheim ประเทศเยอรมนี

3. Glucose control solution (Advantage®) ความเข้มข้น 62 และ 335 มก./ดล.

4. การตรวจวัดกลูโคส

4.1 ตรวจวัดกลูโคสในเลือดครบส่วน (Whole blood) โดยใช้เครื่อง Advantage® หลังจากเปิดเครื่องและเสียบแผ่นทดสอบเข้ากับตัวเครื่อง แล้วหยดเลือด 1 หยดลงบนบริเวณที่กำหนด เครื่องจะทำการตรวจวัดและแสดงผลภายใน 40 วินาที

4.2 ทำการตรวจวัดกลูโคสในพลาสมา โดยวิธี Glucose liquicolor reagent (GOD method) ของบริษัท Human ประเทศเยอรมนี

หลักการ

$$\text{Glucose} + O_2 \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Gluconic acid} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-Aminophenazone} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Quinoneimine} + H_2O$$

วิธีการ ผสมพลาสมา 0.02 มล. กับน้ำยา 1 มล. นำไปอุ่นที่ 37 °ซ นาน 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตรเทียบกับ Reagent blank

5. วิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลโดยใช้ Paired *t*-test, สมการถดถอยเชิงเส้นตรง, สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์, หาค่า % ความแตกต่างระหว่าง 2 วิธี (% Bias)

6. การประเมิน Accuracy และ Precision ของเครื่อง Advantage® ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาดังนี้

6.1 วิเคราะห์ Within-run precision โดยใช้ตัวอย่างเลือด 3 ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของกลูโคสต่างกัน แต่ละตัวอย่างทำการทดลองซ้ำ 20 ครั้ง และวิเคราะห์ยืนยันโดยใช้ Glucose control solution (Advantage®) ความเข้มข้น 62 และ 335 มก./ดล. แต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 20 ครั้ง ไปพร้อมๆ กัน

6.2 วิเคราะห์ Between-run precision โดยใช้ Glucose control solution (Advantage®) ที่มีกลูโคส 62 และ 335 มก./ดล. ทำการทดลองวันละครั้งเป็นเวลา 20 วัน

6.3 วิเคราะห์ความถูกต้อง (Accuracy) โดยการเติมกลูโคสมาตรฐาน 100, 200 และ 300 มก./ดล. ลงในตัวอย่างเลือดที่มีความเข้มข้น 77 มก./ดล. ตรวจวัดความเข้มข้นของกลูโคสในตัวอย่างผสม แล้วคำนวณ % Recovery ของกลูโคสมาตรฐาน โดย % Recovery = 100 x (ปริมาณกลูโคสมาตรฐานที่ตรวจวัดได้/ปริมาณกลูโคสที่เติม)

ผลการทดลอง

เมื่อใช้เครื่อง Advantage® ตรวจวัดตัวอย่างที่มีกลูโคส 104, 159 และ 358 มก./ดล. พบว่ามี Within-run coefficient of variation (CV) เท่ากับ 2.21, 4.40 และ 3.37% ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบใน Glucose control solution ที่มีกลูโคส 62 และ 335 มก./ดล. พบว่า Within-run CV เท่ากับ 2.85, 2.35% และ Between-run CV เท่ากับ 3.27, 2.84% (ตารางที่ 1) ค่า % Recovery เฉลี่ย (Range) เท่ากับ 102.7% (95-109) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 Precision ของเครื่อง Advantage® (n=20)

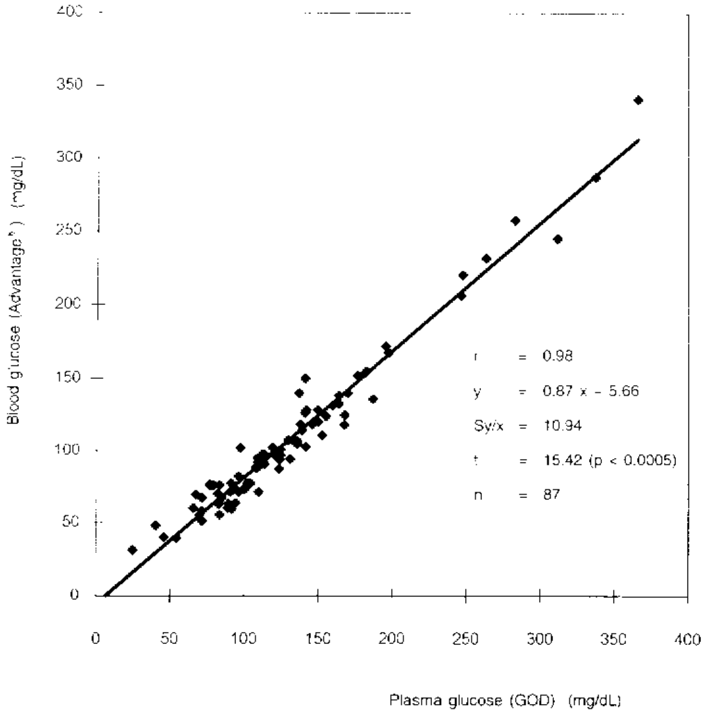
Glucose (mg/dL)	Within-run CV (%)	Between-run CV (%)
Blood Samples		
104	2.21	-
159	4.40	-
358	3.37	-
Control Solutions		
62	2.85	3.27
335	2.35	2.84

ตารางที่ 2 ความถูกต้องของเครื่อง Advantage® โดยการทดสอบ % Recovery

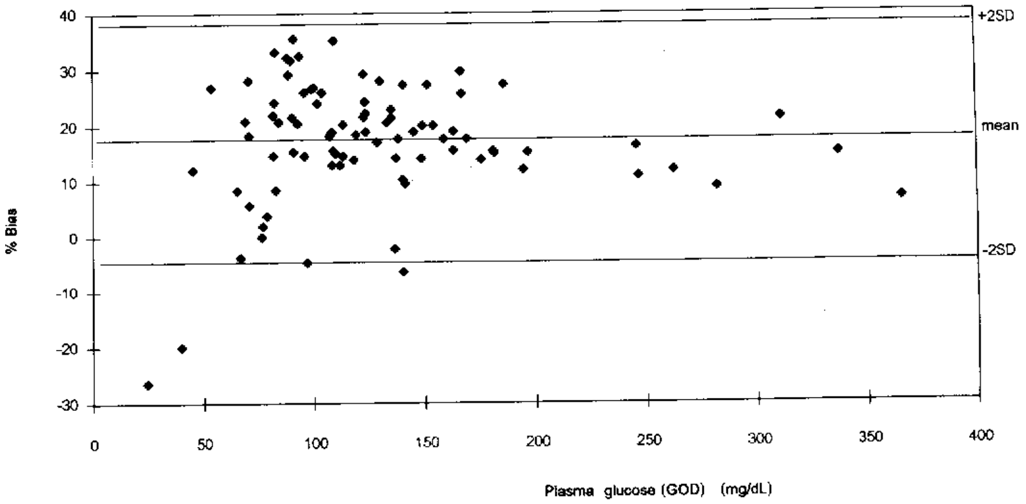
กลูโคสในตัวอย่าง (มก./ดล.)	กลูโคสที่เติม (มก./ดล.)	กลูโคสที่ตรวจวัดได้* (มก./ดล.)	% Recovery* (Range)
77	100	178	100.7 (95-109)
76	200	285	104.8 (103-107)
78	300	385	102.5 (100.3-103.6)
		% Recovery เฉลี่ย =	102.7 (95-109)

* ค่าเฉลี่ย (n = 3)

ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากลูโคสในเลือด (Advantage®, y) กับค่ากลูโคสในพลาสมา (GOD, x) ของผู้ป่วยรายเดียวกัน จำนวน 87 ราย ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.98 สมการเส้นตรงเป็นดังนี้ y = 0.87 x - 5.66, Sy/x = 10.94 (รูปที่ 1) ค่าเฉลี่ยของ 2 วิธีเท่ากับ 106.9 และ 129.2 มก./ดล. (SD = 54.9 และ 61.8 ตามลำดับ) ค่ากลูโคสในเลือดกับในพลาสมามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0005$) ค่า % ความแตกต่างกันระหว่าง 2 วิธี (% Bias) เฉลี่ยเท่ากับ 17.05% (SD = 10.85) (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง Plasma glucose (GOD) กับ Blood glucose (Advantage®) (แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ยของ Duplicate test)



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่าง Plasma glucose (GOD) กับ % Bias [% Bias = 100 (GOD-Advantage®)/GOD]

วิจารณ์

ในการใช้เครื่องสำหรับตรวจ SMBG เพื่อติดตามการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน ค่า %CV ที่เหมาะสมควรน้อยกว่า 10% หรือมี SD น้อยกว่า 12.6 มก./ดล.[6] จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าค่า %CV ของเครื่อง Advantage® มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ทั้งยังเคยมีรายงานว่าค่าที่ได้ใกล้เคียงกับค่าจากเครื่องอื่นที่ใช้หลักการ Biosensor เช่นเดียวกัน เช่น Ames Glucometer Elite[7] (บริษัท Bayer ประเทศเยอรมนี) จากการทดลองพบว่าเครื่อง Advantage® มี Accuracy ดีเนื่องจากค่า % Recovery เฉลี่ยเท่ากับ 102.7 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (95-105%)[8] ดังนั้นจึงน่าจะยอมรับค่าจากเครื่อง Advantage® ในการติดตามระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยได้

ค่ากลูโคสในเลือดเมื่อตรวจวัดโดยเครื่อง Advantage® มีค่าต่ำกว่าค่ากลูโคสในพลาสมาที่ตรวจวัดโดยวิธี GOD เฉลี่ย 17.05% ความแตกต่างนี้ส่วนหนึ่งเกิดจากปริมาณของน้ำในพลาสมาและเม็ดเลือดแดงมีความแตกต่างกัน ในพลาสมามีน้ำประมาณ 93% ส่วนเม็ดเลือดแดงมีน้ำประมาณ 73%[9,10] ถึงแม้ว่าปริมาณของกลูโคสในส่วนที่เป็นน้ำ (Aqueous phase) ใกล้เคียงกัน แต่การที่ปริมาณน้ำในพลาสมาและเม็ดเลือดแดงมีความแตกต่างกันทำให้ค่ากลูโคสในพลาสมาสูงกว่าในเลือดประมาณ 14-16%[11] ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำ ค่ากลูโคสในเลือดที่ตรวจวัดโดยเครื่อง Advantage® อาจแตกต่างจากค่าที่ได้จากการตรวจวัดเลือดจากปลายนิ้ว (Capillary blood) เล็กน้อยเนื่องจากในภาวะอดอาหารค่ากลูโคสในเลือดจากปลายนิ้วจะสูงกว่าค่ากลูโคสในเลือดจากหลอดเลือดดำ 2-5 มก./ดล. อย่างไรก็ตาม หากเจาะเลือดภายหลังการรับประทานอาหารค่ากลูโคสในเลือดจากปลายนิ้วจะสูงกว่ากลูโคสในหลอดเลือดดำ 20-70 มก./ดล.[5]

ในการใช้งานจริงซึ่งใช้เครื่อง Advantage® ตรวจน้ำตาลในเลือดจากปลายนิ้ว หากต้องการเปรียบเทียบกับค่าน้ำตาลในเลือดจากปลายนิ้วโดยเครื่อง Advantage® กับค่าน้ำตาลในพลาสมาจากเลือดดำที่ตรวจวัดโดยวิธี GOD (ซึ่งเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่เลือกใช้) ผู้ใช้จะต้องคำนึงถึงความแตกต่างระหว่างค่ากลูโคสในเลือดกับในพลาสมาดังได้กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษาเบื้องต้นในครั้งนี้เป็นแนวทางในการประเมินว่าค่ากลูโคสในเลือดที่ตรวจวัดโดยเครื่อง

Advantage® หรือเครื่อง SMBG อื่นๆ กับค่ากลูโคสในพลาสมาที่ตรวจวัดโดยวิธี GOD มีความแตกต่างกันอย่างไรหรือไม่ ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างค่ากลูโคสในเลือดจากปลายนิ้วโดยเครื่อง SMBG กับค่ากลูโคสในพลาสม่าที่ได้จากเลือดดำโดยวิธี GOD เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนยิ่งขึ้นต่อไป

ข้อควรระวังอื่นๆ สำหรับการใช้เครื่อง Advantage® และเครื่อง SMBG ได้แก่ ผู้ใช้จะต้องดูแลรักษาเครื่องให้อยู่ในสภาพที่ดี มีการทดสอบเป็นระยะโดยใช้สารควบคุมคุณภาพ ที่มีความเข้มข้นสูงและความเข้มข้นต่ำ, ควรมีการเปรียบเทียบค่ากลูโคสในเลือดที่เจาะจากปลายนิ้วโดยเครื่อง Advantage® กับค่ากลูโคสในพลาสมาจากหลอดเลือดดำที่ตรวจโดยห้องปฏิบัติการเป็นระยะ สำหรับแผ่นทดสอบที่ใช้จะต้องยังไม่หมดอายุ และมีการเก็บรักษาแผ่นทดสอบตามที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด วิธีการใช้เครื่อง รวมทั้งวิธีการเจาะเลือดจะต้องกระทำอย่างถูกต้องด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลนนทเวช และโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

1. American Diabetes Association. Self-monitoring of blood glucose. Diabetes Care 1994; 17: 81-6.
2. American Diabetes Association. 1992-1993 Clinical Practice Recommendations. Diabetes Care 1996; 19 (Suppl 2): 60.
3. Expert Committee of Canadian Diabetes Advisory Board. Clinical practice guidelines for treatment of diabetes mellitus. CMAJ 1992; 147: 702.
4. Turner APF, Karube I, Wilson GS. (eds) Biosensors. Oxford: Oxford University Press, 1987.
5. Larrsson-Conn U. Differences between capillary and venous blood glucose during glucose tolerance tests. Scand J Lab Invest 1975; 36: 805-8.
6. Weiss SL, Cembrowski GS, Mazze RS. Patient and physician analytic goals for self-monitoring blood glucose instruments. Am J Clin Pathol 1994; 102: 611-5.
7. Innanen VT, Compos FB. Point-of-Care glucose testing : cost savings and ease of use with Ames Glucometer Elite. Clin Chem 1995; 41; 1537-8.
8. Bakes-Martin RC. Quality Assurance. In: Anderson SC, Cockayne S. Clinical Chemistry, Concepts and Applications. Philadelphia : WB.Saunders, 1993: 66.
9. Somogyi M. Distribution of sugar between corpuscles and plasma in diabetics and in alimentary hyperglycemia. Ann Intern Med 1928; 42: 931-8.
10. Somogyi M. The distribution of sugar in normal human blood. J Biol Chem 1928; 78: 117-27.
11. Burin JM, Alberti KGMM. What is blood glucose : Can it be measured? [Review] Diabetic Med 1990; 7: 199-206.