บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความสัมพันธ์ของระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานระหว่างการตรวจด้วยกลูโคสมิเตอร์, ฟาสติ้งบลัดซูการ์ และ ฮีโมโกลบินเอวันซี ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อนำมาเป็นแนวทางและสร้างกรอบแนวคิดในการวิจัย ดังนี้

1. โรคเบาหวาน
2. การตรวจระดับน้ำตาลในเลือด
3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคเบาหวาน

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) คือโรคเรื้อรังชนิดหนึ่งเกิดจากความผิดปกติของอินซูลิน ซึ่งหลั่งจากเบต้าเซลล์ ในกลุ่มเซลล์แลนเกอร์แฮน (Islet of Langerhan) ของตับอ่อน ทำให้ร่างกายมีการเผาผลาญ ทั้งคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ที่ผิดปกติ อันส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงเกิน โรคนี้มีความรุนแรงสืบเนื่องมาจากการที่ร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาลได้อย่าง เหมาะสม โดยปกตินำ้ตาลจะเข้าสู่เซลล์ร่างกายเพื่อใช้เป็นพลังงานภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนอินซูลิน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลที่เกิดขึ้นทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ในระยะยาวจะมีผลในการทำลายหลอดเลือด ถ้าหากไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสม อาจนำไปสู่สภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้ (นพพร ศุภพิพัฒน์, 2551)

อาการของโรคเบาหวาน

คนปกติก่อนรับประทานอาหารเช้าจะมีระดับน้ำตาลในเลือด 70-110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หลังรับประทานอาหารแล้ว 2 ชั่วโมง. จะมีระดับน้ำตาลไม่เกิน 140 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ผู้ที่ระดับน้ำตาลสูงไม่มากอาจจะไม่มีอาการอะไร อาการที่พบได้บ่อย

1. ปัสสาวะบ่อยและมากโดยเฉพาะในเวลากลางคืน และอาจจะพบว่าปัสสาวะมีมดตอม เนื่องจากเมื่อน้ำตาลในกระแสเลือดมากกว่า 180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรน้ำตาลจะถูกขับออกทางปัสสาวะทำให้น้ำถูกขับออกมากขึ้น จึงมีอาการปัสสาวะบ่อยและเกิดการสูญเสียน้ำ

2. ผู้ป่วยจะหิวน้ำบ่อยเนื่องจากต้องทดแทนน้ำที่ถูกขับออกทางปัสสาวะ

3. อ่อนเพลีย น้ำหนักลดเกิดเนื่องจากร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาล จึงย่อยสลายส่วนที่เป็นโปรตีนและไขมันออกมา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. ผู้ป่วยจะกินเก่งหิวเก่ง แต่น้ำหนักจะลดลงเนื่องจากร่างกายนำน้ำตาลไปใช้เป็นพลังงานไม่ได้ จึงมีการสลายพลังงานจากไขมันและโปรตีนจากกล้ามเนื้อ

5. อาการอื่นๆ ที่อาจเกิดได้แก่ การติดเชื้อ แผลหายช้า คัน

6. คันตามผิวหนัง มีการติดเชื้อราโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณช่องคลอดของผู้หญิง

7. เห็นภาพไม่ชัด ตาพร่ามัวต้องเปลี่ยนแว่นบ่อย ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะมีการเปลี่ยนแปลงสายตา เช่น สายตาสั้น ต้อกระจก

8. ชาไม่มีความรู้สึก เจ็บตามแขนขา หย่อนสมรรถภาพทางเพศ เนื่องจากน้ำตาลสูงนานๆ ทำให้เส้นประสาทเสื่อม เกิดแผลที่เท้าได้ง่าย เพราะไม่รู้สึก

สาเหตุของโรคเบาหวาน

ในประเทศไทยพบผู้เป็นเบาหวานตั้งแต่ช่วงอายุ 15 ปีขึ้นไปประมาณทั้งสิ้นถึงเก้าแสนคน นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่ออายุสูงขึ้นมีโอกาสเป็นเบาหวานได้ง่ายขึ้น ได้แก่ ประชากรอายุระหว่าง 40 – 60 ปีจะพบประมาณร้อยละ 4-7 และอายุ 60 ปีขึ้นไปอาจพบสูงถึงร้อยละ 5-10 ปัจจัยที่อาจเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคดังนี้

1. น้ำหนักเกิน ความอ้วน และขาดการเคลื่อนไหวออกกำลังกายที่เพียงพอ

2. กรรมพันธุ์ มักพบโรคนี้ในผู้ที่มีบิดา มารดา เป็นเบาหวาน ลูกมีโอกาสเป็นเบาหวาน 6-10 เท่า ของคนที่เป็นเบาหวาน

3. จากเชื้อโรคหรือยาบางชนิดไปทำลายเซลล์ของตับอ่อนทำให้ตับอ่อนไม่สามารถหลั่งฮอร์โมนอินซูลินได้เพียงพอ

4. เกิดร่วมกับโรคต่อมไร้ท่อบางชนิด เช่น โรคเนื้องอกของต่อมใต้สมองหรือต่อมหมวกไต

การจำแนกประเภทของโรคเบาหวาน

เดิมใช้ตามองค์การอนามัยโลก คศ. 1985 ซึ่งแบ่งตามลักษณะคลินิก ได้แก่โรคเบาหวานชนิดพึ่งอินซูลิน (IDDM) โรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน (NIDDM) โรคเบาหวานที่เกี่ยวข้องกับภาวะทางโภชนาการ (MRDM) และโรคเบาหวานที่มีสาเหตุจากอื่นๆซึ่งการจำแนกดังกล่าวพบว่าไม่มีความสัมพันธ์หรือไม่สามารถแยกกันได้ชัดเจนในแง่ของพยาธิสรีรวิทยาในการเกิดโรค การดำเนินโรค การตอบสนองต่อการรักษา และการป้องกันโรคดังนั้นการจำแนกประเภทโรคเบาหวานใหม่ของสหพันธ์โรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา (American diabetes association) คศ. 1997 และองค์การอนามัยโลก คศ. 1998 ซึ่งได้มีการเปลี่ยนแปลง จำแนกประเภทของโรคเบาหวานใหม่ได้แก่

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1. เบาหวานชนิดพึ่งอินซูลิน (Insulin-dependent diabetes mellitus / IDDM; Type I Diabetes) เป็นชนิดที่พบได้น้อยแต่มีความรุนแรงและอันตรายสูง มักพบในเด็กและคนอายุต่ำกว่า 25 ปี แต่ก็อาจพบในคนสูงอายุได้บ้าง ตับอ่อนของผู้ป่วยชนิดนี้จะสร้างอินซูลินไม่ได้เลยหรือได้น้อยมาก เชื่อว่าร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีขึ้นต่อต้านทำลายตับอ่อนของตัวเอง จนไม่สามารถสร้างอินซูลินได้ ดังที่เรียกว่า"โรคภูมิแพ้ต่อตัวเอง" หรือ "ออโตอิมมูน (Autoimmune)" ทั้งนี้เป็นผลมาจากความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ร่วมกับการติดเชื้อ หรือการได้รับสารพิษจากภายนอกผู้ป่วยจำเป็นต้องพึ่งพาการฉีดอินซูลินเข้าทดแทนในร่างกายทุกวัน จึงจะสามารถเผาผลาญน้ำตาลได้เป็นปกติ มิเช่นนั้น ร่างกายจะเผาผลาญไขมันจนทำให้ผ่ายผอมอย่าง รวดเร็วและถ้าเป็นรุนแรง จะมีการคั่งของสารคีโตน (Ketones) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการเผาผลาญไขมัน สารนี้จะเป็นพิษต่อระบบประสาท ทำให้ผู้ป่วยหมดสติถึงตายได้รวดเร็ว เรียกว่า "ภาวะคั่งสารคีโตนหรือ คีโตซิส (Ketosis)"

2. เบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน (Non–insulin–dependent diabetes mellitus / NIDDM; Type II Diabetes) เป็นเบาหวานชนิดที่พบเห็นกันเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมักจะมีความรุนแรงน้อย มักพบในคนอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป แต่ก็อาจพบในเด็กหรือวัยหนุ่มสาวได้บ้างตับอ่อนของผู้ป่วยชนิดนี้ยังสามารถสร้างอินซูลินแต่ไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย จึงทำให้มีน้ำตาลที่เหลือใช้กลายเป็นเบาหวานได้ ผู้ป่วยชนิดนี้ยังอาจแบ่งเป็น พวกที่อ้วนมากๆ กับพวกที่ไม่อ้วน (รูปร่าง ปกติหรือผอม) สาเหตุอาจเกิดจากกรรมพันธุ์ อ้วนเกินไป มีลูกดกจากการใช้ยา หรือพบร่วมกับโรคอื่นๆ ผู้ป่วยมักไม่เกิดภาวะคีโตซิสเช่นที่เกิดกับชนิดพึ่งอินซูลินการควบคุมอาหารหรือการใช้ยาเบาหวานชนิดกินก็มักจะได้ผลในการควบคุมระดับน้ำตาล ในเลือดให้ปกติได้หรือบางครั้งถ้าระดับน้ำตาลสูงมากๆ ก็อาจต้องใช้อินซูลินฉีดเป็นครั้งคราวแต่ไม่ต้องใช้อินซูลินตลอดไปจึงถือว่าไม่ต้องพึ่งอินซูลิน

3. โรคเบาหวานชนิด อื่น ได้แก่ โรคเบาหวานที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมที่ทราบชนิดชัดเจน โรคของตับอ่อน ความผิดปกติของฮอร์โมน ยา หรือสารเคมี และอื่นๆ

4. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ หมายถึง โรคเบาหวานหรือความผิดปกติของความทนต่อกลูโคสที่ได้รับการวินิจฉัยครั้งแรกขณะตั้งครรภ์

การป้องกัน ควบคุมโรคเบาหวาน วัตถุประสงค์ของการป้องกัน ควบคุมโรคเบาหวานที่สำคัญ คือ

1. การรักษาอาการที่เกิดขึ้นจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูง

2. ป้องกันและรักษาการเกิดโรคแทรกซ้อนเฉียบพลัน

3. ป้องกันหรือชะลอการเกิดโรคแทรกซ้อนเรื้อรัง ทั้ง ไมโครวาสคูลาร์ (Microvascular) และ แมคโครวาสคูลาร์ (Macrovascular)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. ทำให้มีคุณภาพชีวิตดีขึ้นใกล้เคียงกับคนปกติ

5. ให้เด็กและวัยรุ่นมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ

ในการควบคุม ป้องกันโรคเบาหวานให้บรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ให้ใกล้เคียงกับปกติที่สุด หลีกเลี่ยงและลดปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ที่เป็นตัวส่งเสริมให้เกิดภาวะแทรกซ้อนเร็วขึ้น เช่น การควบคุมระดับความดันโลหิต การควบคุมระดับไขมันในเลือดการใช้ยาในกลุ่ม เอซีอีไอ (ACEI) และยาต้านเกร็ดเลือดเกาะตัว แอสไพริน (Aspirin) เป็นต้น อย่างไรก็ตามพบว่าการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยให้เหมือนคนปกติอยู่ตลอดเวลานั้นทำได้ยากและทำไม่ได้ในผู้ป่วยทุกรายหรือไม่จำเป็นในผู้ป่วยบางราย เช่น ผู้ป่วยสูงอายุ ดังนั้นในการรักษาโรคเบาหวานควรจะตั้งเป้าหมายในการรักษาผู้ป่วยในแต่ละรายและให้การศึกษาเพื่อให้ผู้ป่วยทราบเป้าหมายในการควบคุมว่าควรเป็นอย่างไร เพื่อจะได้บรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าว (สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย, 2554)

การตรวจระดับน้ำตาลในเลือด

ระดับน้ำตาลในเลือด คือ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในเลือดของมนุษย์หรือสัตว์ โดยปกติในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ร่างกายจะควบคุมระดับกลูโคสในเลือดให้อยู่ที่ 3.6 - 5.8 มิลลิโมลต่อลิตร หรือ 64.8 - 104.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยธรรมชาติแล้วร่างกายมนุษย์จะควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดอย่างเข้มงวดซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการรักษาสมดุลของร่างกาย (homeostasis) กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานแห่งแรกสำหรับเซลล์ของร่างกาย กลูโคสจะถูกลำเลียงจากลำไส้หรือตับไปยังเซลล์ของร่างกายโดยกระแสเลือดและจะถูกทำให้เหมาะสมสำหรับการดูดซึมของเซลล์โดยฮอร์โมนอินซูลินซึ่งถูกผลิตขึ้นที่ตับอ่อน

กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานหลักที่สำคัญของร่างกาย เซลล์ของกล้ามเนื้อและเม็ดเลือดแดงใช้กลูโคสโดยอาศัยอินสุลินที่ผลิตจากเบต้าเซลล์ (Beta-cell) ของตับอ่อน เซลล์สมองใช้กลูโคสในเลือดโดยไม่ต้องอาศัยอินสุลิน ระดับกลูโคสในเลือดโดยตรงจึงมีความสำคัญต่อเซลล์สมอง โดยกลูโคสจะเป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์และจำเป็นสำหรับการมีชีวิตอยู่ พร้อมกับผลิตคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ

กลูโคสในเลือดมาจากอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรทที่ถูกย่อยโดยผ่านกระบวนการเอนไซม์ ไกลโคเจน ไขมันและโปรตีนโดยกระบวนการเปลี่ยนเป็นกลูโคสที่ตับ น้ำตาลจะถูกเมตาบอไลต์โดยตรงเพื่อให้พลังงานและถูกส่งไปที่ระบบประสาทส่วนกลางเป็นอันดับแรก หรือน้ำตาลจะถูกเก็บไว้ที่ตับหรือกล้ามเนื้อในรูปไกลโคเจนเพื่อใช้งานต่อไป เมื่อกลูโคสในเลือดมีเหลือเฟือจะถูกเก็บไว้ที่ตับและกล้ามเนื้อลาย ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไกลโคเจน (Glycogen) ในขณะที่ใน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เซลล์ของเนื้อเยื่อไขมัน (Adipose tissue) จะถูกเปลี่ยนเป็นไตรกลีเซอไรด์ การรักษาระดับกลูโคสที่เหมาะสม เป็นกลไกที่ซับซ้อนซึ่งควบคุมด้วยฮอร์โมน

ระดับกลูโคสในเลือดสามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างกลูโคส หรือต่อการสร้างหรือหลั่งอินสุลิน อินสุลินจะถูกปล่อยเข้าไปในหลอดเลือดดำใหญ่ (Portal vein) การอดอาหารจะกดอัตราการหลั่งของอินสุลินและการรับประทานอาหารจะเพิ่มการหลั่งอินสุลิน นอกจากนี้ยังมียาหรือสารหลายชนิดที่มีผลต่อการหลั่งอินสุลิน การหลั่งอินสุลินเพิ่มขึ้นจะลดระดับกลูโคสในเลือดและลดการหลั่งอินสุลินจะเพิ่มระดับกลูโคส กลูโคสถูกกรองผ่านหลอดเลือดฝอย (Glomeruli) ของไต แต่จะถูกดูดกลับ(Reabsorbed) เกือบหมดที่หลอดไตส่วนต้น (Proximal tubules) ในปัสสาวะของคนปกติจึงมีกลูโคสน้อยมาก แต่ถ้าเลือดมีระดับกลูโคส จะพบกลูโคสในปัสสาวะ

การวัดระดับน้ำตาลในเลือดในมาตรฐานระดับนานาชาติจะระบุหน่วยเป็นความเข้มข้นโมลาร์ (Molar concentration) เช่น มิลลิโมลต่อลิตร(mmol/L) หรือมิลลิโมลาร์ (mM) ในสหรัฐอเมริกาความเข้มข้นโดยมวลถูกวัดในหน่วย มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dl) น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคส ($C_6H_{12}O_6$) อยู่ที่ 180 กรัมต่อโมล (g/mol) โดยประมาณ ดังนั้น ความแตกต่างระหว่างทั้ง 2 หน่วยอยู่ที่ 18 กล่าวคือ 1 มิลลิโมลต่อลิตร ของกลูโคสจะเท่ากับ 18 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

ช่วงค่าปกติ

ค่าเฉลี่ยของระดับกลูโคสปกติในเลือดมนุษย์อยู่ที่ประมาณ 4.4 - 6.1 มิลลิโมลต่อลิตร (82 - 110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) อย่างไรก็ตาม ค่านี้จะมีความผันผวนตลอดทั้งวัน ระดับกลูโคสจะมีระดับต่ำมากในช่วงเช้า ก่อนการรับประทานอาหารมื้อแรก (เรียกว่า "The fasting level") และจะเพิ่มขึ้นหลังจากรับประทานอาหาร ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นอย่างชั่วคราวเท่านั้น สมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกาแนะนำว่าระดับน้ำตาลในเลือดหลังรับประทานอาหารควรจะอยู่ที่ระดับน้อยกว่า 10 มิลลิโมลต่อลิตร (180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ การตรวจหาระดับน้ำตาลทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย

1. ตรวจระดับน้ำตาลในเลือด
2. ตรวจระดับน้ำตาลในปัสสาวะ

เทคนิคการตรวจวัด

การตรวจระดับกลูโคสมีอยู่ 2 วิธีหลัก วิธีแรก คือ วิธีทางเคมีที่ใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติ นอนสเปซิฟิค รีดิวซิง (Nonspecific reducing) ของกลูโคสซึ่งตัวบ่งชี้จะเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้น วิธีนี้ยังคงมีการใช้อยู่ในบางแห่ง แต่เนื่องจากสารประกอบอื่นๆ ในเลือดก็มี

คุณสมบัติ รีดิวซิง (Reducing) ได้ เช่น ยูเรีย ทำให้วิธีนี้สามารถเกิดความผิดพลาดได้ในบางกรณี (ประมาณ 5 - 15 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) อีกวิธีหนึ่ง คือ การใช้เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อกลูโคส โดยเอนไซม์พื้นฐานที่สุดที่ใช้สำหรับวิธีนี้ คือ กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase) และ เฮกโซไคเนส (Hexokinase)

การตรวจด้วยระบบสารเคมีโดยทั่วไปจะอยู่ในรูปแบบของแถบตรวจซึ่งสามารถใส่เข้าไปในเครื่องอ่านและหยอดลงไป สำหรับรูปร่างของแถบตรวจและการจัดวางองค์ประกอบของเคมีจะแตกต่างกันระหว่างเครื่องอ่านและไม่สามารถใช้ด้วยกันได้ แต่เดิมนั้นแถบตรวจกลูโคสจะถูกอ่านด้วยตาและแปลผลโดยเทียบกับสีข้างขวดใส่แถบตรวจ แถบตรวจชนิดนี้ยังใช้สำหรับการตรวจระดับกลูโคสในปัสสาวะ แต่สำหรับการตรวจกลูโคสในเลือดถือว่าเป็นสิ่งที่ล้าสมัย เนื่องจากอัตราความผิดพลาดของมันค่อนข้างสูง

การตรวจกลูโคสในปัสสาวะเป็นประโยชน์น้อย เนื่องจากในสภาวะการทำงานของไตที่ปกตินั้นเราไม่สามารถตรวจพบกลูโคสได้ การตรวจพบกลูโคสในปัสสาวะนั้นแสดงว่าอยู่ในภาวะระดับกลูโคสสูงอย่างรุนแรงแล้ว นอกจากนี้ ปัสสาวะที่เก็บอยู่ในกระเพาะปัสสาวะนั้นเป็นระดับกลูโคสที่ผลิตขึ้น ณ เวลาใดเวลาหนึ่งเท่านั้น ถ้าหากเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเมทาบอลิซึมอย่างรวดเร็วการตรวจระดับกลูโคสจากปัสสาวะจึงเป็นการได้ข้อมูลที่ล่าช้าและไม่เป็นประโยชน์สักเท่าไหร่นัก การตรวจระดับกลูโคสจากเลือดจึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่าทั้งในแง่ทางคลินิกและการสามารถตรวจได้เองที่บ้าน

การตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดที่นิยมใช้ส่วนใหญ่ คือ วิธีเอ็นไซม์ (Enzymatic method) โดยมีวิธีที่นิยม 3 วิธี

1. เฮกโซไคเนส (Hexokinase method)
2. กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase method)
3. ออกซิเดชัน – รีดักชัน (Oxidation-Reduction method)

ซึ่งแต่ละวิธีจะมีหลักการดังนี้

1. เฮกโซไคเนส

เฮกโซไคเนส เป็นเอนไซม์ ที่เร่งกระบวนการฟอสโฟริเลชัน (Phosphorylation) ของกลูโคส โดย อะดีโนซีน ไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate, ATP)เกิดเป็น กลูโคส-6-ฟอสเฟต (Glucose-6-phosphate) และ อะดีโนซีน ไดฟอสเฟต (Adenosine diphosphate, ADP) ดังสมการ (1) เอนไซม์ ตัวที่ 2 คือ กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน กลูโคส-6-ฟอสเฟต และ นิโคตินาไมด์ อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์

ฟอสเฟต (NADP) เกิดเป็น นิโคตินาไมด์ อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟต (NADPH) ปริมาณ นิโคตินาไมด์ อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟต ที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกลูโคสที่มีอยู่ในสิ่งส่งตรวจ ดังสมการ (2)

$$\text{Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{Glucose-6-PO}_4 + \text{ADP} \quad \text{.....(1)}$$

$$\text{Glucose-6-PO}_4 + \text{NADP} \xrightarrow{\text{G-6-P-Dehydrogenase}} \text{Glucose-6-PO}_4 + \text{NADPH} + \text{H} + \text{6-Phosphogluconate} \quad \text{.....(2)}$$

ข้อดี

- มีความไวต่อกลูโคส ความเข้มข้นต่ำมาก เช่น ในปัสสาวะ

- สาร โซเดียมฟลูโอไรด์ (NaF) เฮบพาริน (Heparin) เอทิลีนไดอามีน เตตราอะเซติก แอซิด (EDTA) และ ออกซาเลต (Oxalate) ไม่มีผลรบกวนการหาค่ากลูโคส ด้วยวิธีนี้

ข้อเสีย

- ซีรัม หรือ พาสมา ที่มี ฮีโมไลซีส มีผลต่อการตรวจวิธีนี้ โดยจะทำให้ค่ากลูโคส ลดลง

2. กลูโคสออกซิเดส

การตรวจวัดน้ำตาลในเลือดโดยใช้ เอนไซม์ กลูโคสออกซิเดส เป็นวิธีที่นิยมในการตรวจวัดมากที่สุด เนื่องจากมีความน่าเชื่อถือสูง ถูกต้อง และแม่นยำ กว่าวิธีใช้เอนไซม์อื่น ซึ่งหลักการตรวจวัดจะใช้น้ำยาทดสอบที่ประกอบด้วย เอนไซม์ กลูโคสออกซิเดส, เพอรอกซิเดส (Peroxidase) 4-อะมิโนแอนติไพริน (4-Aminoantipyrine, 4-AAP) , กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (4-Hydroxybenzoic acid, HBA) และ ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) โดยจะไปทำปฏิกิริยากับกลูโคสในซีรัม หรือ พาสมา เกิดสารสีแดง ควิโนนอิมีน (Quinoneimine) ที่สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ 500 นาโนเมตร โดยความเข้มของสีแปรผันตรงกับปริมาณของกลูโคส ดังสมการ (3) และ(4)

$$\text{Glucose} + 0_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Glucose oxidase}} \text{Glucuronic acid} + \text{H}_2 \quad \text{.....(3)}$$

$$\text{H}_2\text{O} + \text{Reduced chromogen} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Oxidized chromogen} + \text{H}_2\text{O} \quad \text{.....(4)}$$

กลูโคสในสารละลายประกอบด้วย 2 รูป คือ อัลฟา ดี กลูโคส (Alpha D glucose) มีอยู่ในสารละลายประมาณร้อยละ 36 และ เบต้า ดี กลูโคส (Beta D glucose) มีอยู่ในสารละลายประมาณร้อยละ 64 เอนไซม์เฮกโซไคเนส จะจำเพาะกับ เบต้า ดี กลูโคส เท่านั้น ทำให้ต้องใช้น้ำยาเปลี่ยนรูป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อัลฟา ให้เป็น เบต้า ซึ่งต้องใช้เวลา วิธีนี้ก็มีข้อควรระวังเรื่องของ เพอรอกซิเดส ที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ในสิ่งส่งตรวจได้ด้วย เช่น กลูต้าไธโอน ฮีโมโกลบิน (Glutathione hemoglobin) เป็นต้น

ข้อดี

- มีความจำเพาะต่อกลูโคสสูง

ข้อเสีย

- ถ้าสิ่งส่งตรวจมีปริมาณกรดยูริค บิลลิรูบิน หรือ กรดแอสโคบิคมาก จะสามารถยับยั้งปฏิกิริยาที่ 2 โดยแย่งจับกับ โครโมเจน (Chromogen) มีผลทำให้ได้ค่าต่ำปลอม

3. ออกซิเดชัน – รีดักชัน

โอโทลูอิดีน (O-toluidine) เป็น อะโรแมติค อะมีน (Aromatic amine) ซึ่งทำปฏิกิริยากับกลูโคส ใน กรดอะซิติค (Acetic acid) หรือ กรดซิติค (Citric acid) ที่ร้อน ทำให้เกิดสารที่มีสี ซึ่งมีค่าการดูดแสงสูงสุดที่ 630 นาโนเมตร แต่ว่า อัลโดเฮกโซส (Aldohexose) หรือ อัลโดเพนโตส (Aldopentose) ใดๆ รวมทั้ง กาแลคโตส (Galactose) และ แมนโนส (Mannose) จะทำปฏิกิริยากับโอโทลูอิดีน เกิดเป็นสารที่มีสีได้เหมือนกัน ถึงแม้ อัลโดเฮกโซส หรือ อัลโดเพนโตส จะมีอยู่ตามกระแสเลือดในปริมาณที่น้อย และไม่ดูดกลืนแสงมากนักที่ 630 นาโนเมตร แต่สารเหล่านี้ก็เป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้ค่าที่วัดได้คลาดเคลื่อนด้วยวิธีนี้ เช่น กาแลคโตส ในเด็กทารกแรกเกิด อาจมีค่าสูงถึง 15 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

ข้อเสีย

- สารเคมีและปฏิกิริยามีอันตราย
- การเตรียมน้ำยายุ่งยาก
- วิธีทำก่อให้เกิดมลพิษ
- ถูกรบกวนด้วยสาร เมื่อ ฮีโมไลซีส หรือ มีปริมาณ บิลลิรูบิน สูง

การตรวจระดับน้ำตาลในเลือด การตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดทางห้องปฏิบัติการมีหลายวิธีดังนี้

1. การตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี ฟาสติ้งบลัดซูการ์

การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจสำหรับการตรวจวิเคราะห์ระดับน้ำตาลในเลือด

ตัวอย่างเลือดควรเป็นเลือดหลังจากงดอาหารมาเป็นเวลานาน 8- 12 ชั่วโมง (ไม่ควรนานเกินกว่า 6 ชั่วโมง) สิ่งส่งตรวจที่ใช้นิยมเป็นการใช้ พลาสม่า ในสารกันเลือดแข็ง โซเดียมฟลูโอไรด์ (NaF) กับ โพแตสเซียมออกซาเลต (Potassium oxalate) หรือ ซีรัม ส่วนการตรวจวัดระดับน้ำตาล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กลูโคสโดยใช้เลือดครบส่วน (Fasting whole blood) มักใช้ในการตรวจติดตามกลูโคสด้วยตนเอง และมีข้อสังเกตว่า กลูโคสในเส้นเลือดฝอย (Capillary blood) จะมีค่าสูงกว่าระดับกลูโคสในเส้นเลือดดำ (Venous blood)

กลูโคสสามารถวัดได้จากในเลือดครบส่วน พลาสมา หรือ ซีรัม ในอดีตการตรวจระดับกลูโคสจะหมายถึงการตรวจในเลือดครบส่วน แต่ในปัจจุบันห้องปฏิบัติการทางการแพทย์โดยส่วนมากจะตรวจจากซีรัมแทน เนื่องจากในเม็ดเลือดแดงนั้นมีความเข้มข้นของโปรตีน เช่น ฮีโมโกลบิน ในระดับที่สูงมากกว่าในซีรัม ในขณะที่ซีรัมนั้นประกอบด้วยน้ำมากกว่าซึ่งทำให้กลูโคสจะละลายได้ในซีรัมมากกว่าในเลือดครบส่วน ดังนั้น ในการเปลี่ยนค่าระดับกลูโคสในเลือดครบส่วนเป็นระดับกลูโคสในซีรัมหรือพลาสมาให้คูณด้วย 1.15

การเก็บเลือดในหลอดสำหรับแยกซีรัม (Clot tubes) เพื่อใช้ในการตรวจทางเคมีคลินิกนั้น กระบวนการเผาผลาญกลูโคสจะยังดำเนินการอยู่โดยเซลล์เม็ดเลือดจนกว่าจะทำการปั่นแยกเสียก่อน ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงที่สูงผิดปกติสามารถทำให้เกิดกระบวนการ ไกลโคไลซีส (glycolysis) ในสิ่งส่งตรวจซึ่งจะมีผลทำให้ระดับกลูโคสที่ได้น้อยกว่าความเป็นจริงได้ หากเราไม่ทำการแยกซีรัมออกมาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ อุณหภูมิในการเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจก่อนที่จะทำการปั่นเหวี่ยงและแยกซีรัมหรือพลาสมาก็มีผลต่อระดับกลูโคสเช่นกัน โดยถ้าเก็บไว้ในตู้เย็นระดับกลูโคสจะค่อนข้างเสถียรอยู่ได้เป็นเวลาหลายชั่วโมง การสูญเสียกลูโคสในสิ่งส่งตรวจสามารถป้องกันได้โดยใช้หลอดที่ใส่สารฟลูออไรด์ (เช่น หลอดฝาสีเทา) ซึ่งฟลูออไรด์จะทำการยับยั้งการเกิดไกลโคไลซีส อย่างไรก็ตาม ควรใช้เมื่อต้องทำการขนย้ายสิ่งส่งตรวจจากห้องปฏิบัติการทางการแพทย์หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่ง หลอดที่มีฝาสีแดงสำหรับแยกซีรัมนั้นก็สามารถรักษาสภาพของกลูโคสได้เช่นกันหลังจากแยกซีรัมออกจากเซลล์แล้ว

การป้องกันการปนเปื้อนของสิ่งส่งตรวจจากของเหลวทดแทนทางหลอดเลือด (Intravenous fluids) ควรเก็บเลือดจากแขนที่ตรงข้ามกับแขนที่เสียบสายให้ของเหลวทดแทนทางหลอดเลือดอยู่ หรือถ้าต้องเก็บเลือดจากแขนข้างที่เสียบสายน้ำเกลือ (Injection vein, IV) ควรเก็บเลือดหลังจากหยุดการให้ของเหลวทางน้ำเกลือแล้วเป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาทีและยกแขนขึ้นเพื่อให้ของเหลวนั้นระบายออกไปจากหลอดเลือดดำเสียก่อน หากละเลยในข้อนี้จะส่งผลให้ค่าของระดับกลูโคสที่วัดได้มีความผิดพลาดอย่างมาก โดยถ้าเกิดการปนเปื้อนเพียงร้อยละ 10 จากร้อยละ 5 ของสารละลายกลูโคส (D5W) จะทำให้ระดับกลูโคสที่วัดได้สูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หรือมากกว่า พึงระลึกไว้เสมอว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่แท้จริงนั้นมีระดับที่ต่ำมากถึงแม้จะอยู่ในภาวะน้ำตาลในเลือดสูงก็ตาม

การตรวจระดับกลูโคสก่อนการรับประทานอาหารจากหลอดเลือดแดง หลอดเลือดฝอย และหลอดเลือดดำจะมีค่าที่ใกล้เคียงกันในแต่ละบุคคล แต่หลังจากรับประทานอาหารแล้วระดับกลูโคสที่ตรวจจากหลอดเลือดดำจะมีค่าต่ำกว่าหลอดเลือดแดงหรือหลอดเลือดฝอยประมาณร้อยละ 10

การตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี ฟาสติ้งบลัดซูการ์

ตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดโดยใช้เครื่องสารเคมีในเลือดอัตโนมัติ รุ่น เฟล็กเซอร์ อี (Flexor E) โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. เปิดสวิตซ์เครื่องทำความเย็น (Cooling) เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Analyser) เครื่องสำรองไฟฟ้า (CPU) เครื่องคอมพิวเตอร์ (Computer) และ พรินเตอร์ (Printer) ตามลำดับ

2. ดับเบิ้ลคลิกที่ Icon analyser

3. คลิกหรือกด F5 (Special function)

4. คลิกหรือกด F1 (System/rotor)

5. เช็คดูค่า SD Cuvette ต้องน้อยกว่า 0.020 หรือดูกราฟไม่ควรเกิน +/- 2 SD

6. คลิกหรือกด F8 (Request sample) เพื่อเลือกทำ สารตัวอย่างส่งตรวจ (Test) สารมาตรฐาน (Control) หรือ การสอบเทียบ (Calibrate) โดย

6.1 ทำการสอบเทียบ ให้เปลี่ยนชนิดของตัวอย่าง (Sample type) เป็นการสอบเทียบ แล้วเลือกทำสารตัวอย่าง ที่จะทำการสอบเทียบ

6.2 ทำสารมาตรฐาน ให้เปลี่ยนชนิดของตัวอย่าง เป็นสารมาตรฐาน แล้วเลือกทำ Trulab N หรือ P

6.3 ทำสารตัวอย่างส่งตรวจ ให้เปลี่ยนชนิดของตัวอย่างเป็นสารตัวอย่างส่งตรวจ แล้วเลือกทำสารตัวอย่างส่งตรวจ ที่จะสั่งทำ

7. หลังจากสั่งงานแล้ว ให้คลิกหรือกด F9 (Load sample) แล้ว ดับเบิ้ลคลิกหรือกด Enter เพื่อจะได้ทราบตำแหน่งของสิ่งส่งตรวจ (Sample) ที่ทำ

8. คลิกหรือกด F3 (Confirm load) เพื่อให้เครื่องทำงาน (หลังจากกด F3 แล้วไม่สามารถแก้ไขใดๆ ได้อีก)

9. จะสั่งงานเพิ่มให้ทำตั้งแต่ข้อ 6 - 8 ตามลำดับ

การอ่านผล เมื่อจะดูผลให้คลิกหรือกด F7 (Evaluate sample) ผลจะแสดงที่หน้าจอหรือจากเครื่องพรินเตอร์ ผลการตรวจเป็นการแสดงความเข้มข้น มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

การแปลผล ค่าความเข้มข้นปกติของระดับกลูโคส ในซีรัมหรือพลาสมา คือ 75-115 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรค่าความเข้มข้นปกติของระดับ กลูโคส ในน้ำไขสันหลัง คือ 45-70 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ค่าความเข้มข้นปกติของระดับกลูโคสในปัสสาวะน้อยกว่า 15 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การควบคุมคุณภาพ

ในการทำงานแต่ละวัน มีการทดสอบสารควบคุมมาตรฐานค่าปกติ และ สารควบคุมมาตรฐานค่าสูง ก่อนที่จะเริ่มทำงาน ดังนั้นค่าของสารควบคุมทั้ง 2 ค่า ควรอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ตามที่ระบุในเอกสารกำกับน้ำยาของสารควบคุม ทั้งสอง ถ้าค่าของสารควบคุมหลุดออกไปจากช่วงที่ระบุไว้ ควรจะทำการสอบเทียบ ก่อนแล้วจึงทำสารควบคุม ตามอีกครั้ง หรือทำจนกว่าค่าของสารควบคุม จะอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ แล้วจึงถือว่าผลของการตรวจภายในวันนั้นสามารถยอมรับได้

หลักการทำงานของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Automatic analyzer)

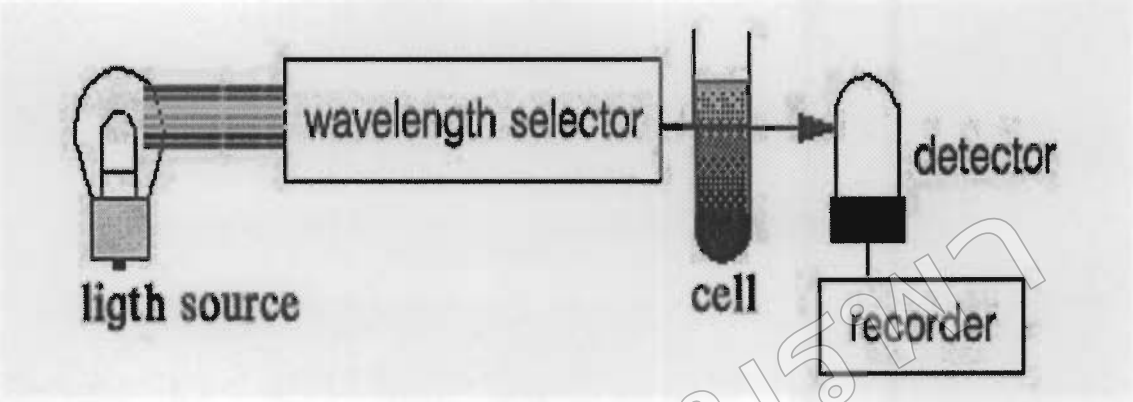
เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ โดยส่วนใหญ่ใช้หลักการ ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS Spectrophotometer) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่าความเข้มของสี (Intensity) ในช่วงรังสียูวีและช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้

คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่า เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer-Lambert) ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในระบุชนิดและปริมาณของสารต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างได้

เครื่องมือที่วัดการดูดกลืนแสงของสารในช่วงความยาวคลื่นอัลตราไวโอเลต และช่วงคลื่นแสงที่มองเห็นได้ เรียกว่ายูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มีส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มีอยู่ 5 ส่วนด้วยกัน (ภาพที่ 1) ดังนี้คือ

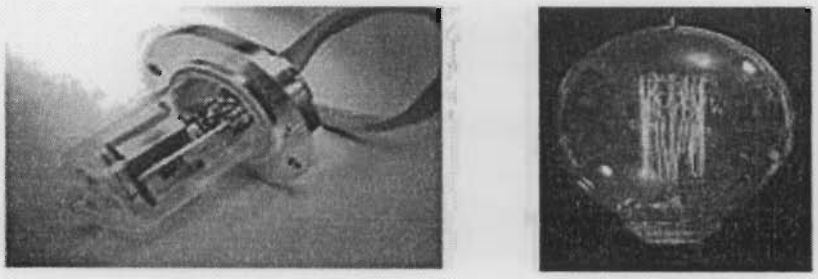
1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source)
2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (Wavelength selector)
3. ภาชนะใส่สาร (Cell หรือ Cuvette)
4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (Detector)
5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (Recorder and processor)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 1 แผนภาพเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์อย่างง่าย
ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. (2539)

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source) แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย สำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเลต จะใช้หลอดดิวเทอเรียม (Deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 นาโนเมตร หลักการคือทำให้อะตอมดิวเทอเรียมที่อยู่ในสภาวะเร้าคายพลังงานออกมา ส่วนหลอดทังสเตน (Tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ คือตั้งแต่ 320-2500 นาโนเมตร (ภาพที่ 2) หลักการจะคล้ายกับหลอดไฟทังสเตนธรรมดาคือ ให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปจนกระทั่งลวดทังสเตนร้อนและเปล่งรังสีออกมา โดยปกติจะเปิดเครื่องทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดิวเทอเรียมหรือหลอดทังสเตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ



ภาพที่ 2 หลอดดิวเทอเรียม (ซ้าย) และหลอดทังสเตน (ขวา)
ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. (2539)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

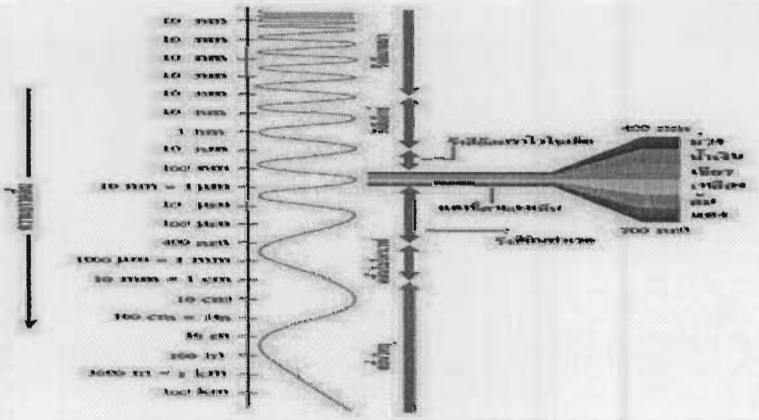
ธรรมชาติของแสง

แสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic) แสงมีความไวในสุญญากาศเท่ากับผลคูณความยาว คลื่น และความถี่ แต่ความเร็วในการเดินทางจะเปลี่ยนไปเมื่อเดินทางผ่านตัวกลางอื่นๆ โดยมีความเร็วในการเดินทางเท่ากับ 2.9979 x 10^{-16} ชั่วโมง/วินาที/n (n = ดรรชนีหักเหของตัวกลาง) แสงต่างชนิดกันจะมีความยาวคลื่นต่างกันและเคลื่อนที่ด้วยความเร็วแตกต่างกัน ความเข้มของแสงนิยมวัดในหน่วยกำลังเทียน (Candel power) หรือ ลูเมน (Lumen) ปริมาณแสงแปรผันโดยตรงกับความเข้ม (Intensity) ของแสงดังนั้นการวัดความเข้มของแสงจึงเป็นการวัดปริมาณแสงทางอ้อม

แสงที่มองเห็น (Visible light) เป็นแสงสีขาวที่เกิดจากการรวมตัวกันของแสงสีต่างๆ มีสีหลักอยู่ 7 สี คือ สีม่วง สีคราม สีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง สีแสด สีแดง มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-700 นาโนเมตร (ภาพที่ 3) เมื่อแสงสีขาวตกกระทบวัตถุแล้วทำให้มองเห็นวัตถุเป็นสีใดแสดงว่าวัตถุดูดกลืนแสงสีอื่นหมดแต่สะท้อนแสงสีที่ตาเรามองเห็นออกมา แต่ถ้าวัตถุนั้นดูดกลืนแสงสีทุกสีไว้หมดจะทำให้มองเห็นวัตถุนั้นเป็นสีดำ

แสงอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet light) มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 210 -380 นาโนเมตร เป็นแสงที่มีคุณสมบัติทำให้อิเล็กตรอนของอะตอมเกิดการส่งผ่าน (Electronic transmission) เมื่อร่างกายถูกแสงนี้เป็นเวลานานอาจเกิดอันตราย ตัวอย่างเช่น ผิวหนังไหม้เกรียม เยื่อบุตาถูกทำลายและอาจทำให้เกิดเป็นมะเร็งผิวหนังได้

แสงอินฟราเรด (Infrared light) เป็นแสงที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า สามารถทำให้โมเลกุลของวัตถุต่างๆ เกิดการสั่นสะเทือนอย่างรุนแรงจนเกิดความร้อนขึ้นมาก เนื่องจากวัตถุส่วนใหญ่ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 3,000 – 100,000 นาโนเมตร ได้ดี ดังนั้นจึงนิยมใช้รังสีอินฟราเรดในการทำให้วัตถุต่างๆ แห้ง เพราะมีประสิทธิภาพในการทำให้แห้งมากกว่าการใช้ความร้อนแบบธรรมดา



ภาพที่ 3 คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. (2539)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กฎแห่งการดูดกลืนแสง

1. กฎของแลมเบิร์ต กล่าวว่า แสงที่ถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาแน่นตัวกลางที่แสงผ่าน

$I_t = I_0 \times 10^{-kt}$.....(5)

2. กฎของเบียร์ (Beer's law) กล่าวว่า แสงที่ดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มของสารในของเหลว ซึ่งเมื่อคำนวณเช่นเดียวกับกฎของแลมเบิร์ต จะได้สมการ

$I_t = I_0 \times 10^{-kc}$.....(6)

เมื่อรวมทั้งสองเข้าด้วยกัน โดยการบวกสมการที่ (5) และสมการที่ (6) จะได้สมการใหม่ดังนี้

$I_t = I_0 \times 10^{-\varepsilon ct}$.....(7)

แต่แสงส่องผ่าน (Transmittance, T) มีค่าเท่ากับ I_t / I_0 และแสงที่ถูกดูดกลืน (Absorbance, A หรือ Optical density, OD) มีค่าเท่ากับ $\log (I_t / I_0)$ ดังนั้น

$A = \varepsilon ct$.....(8)

หรือ

$A = -\log T$.....(9)

ε = Molar absorptivity สารแต่ละชนิดมีค่า ε คงที่ในแต่ละช่วงคลื่นมีหน่วยเป็น โมล$^{-1}$ เซนติเมตร$^{-1}$

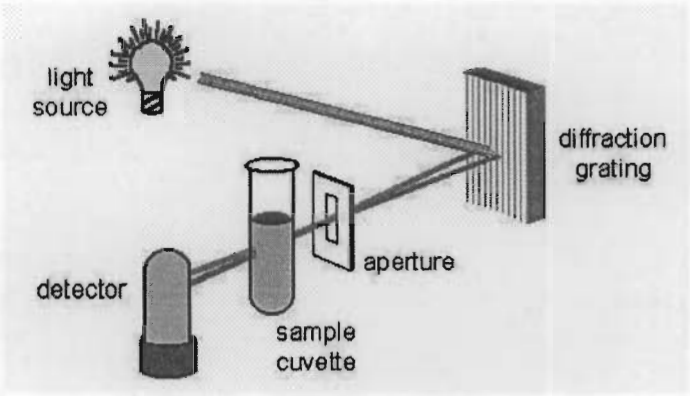
c = ความเข้มข้นของสารในหน่วย โมลต่อลิตร

t = ความหนาของสารละลายในหน่วยเซนติเมตร

ชนิดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

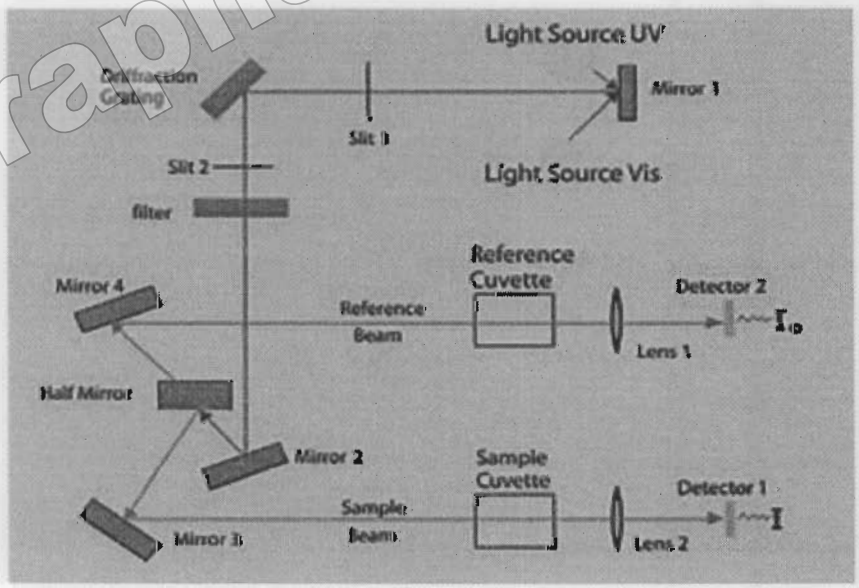
1. ชนิดลำแสงเดี่ยว (Single beam type) ใช้ลำแสงลำเดียวสำหรับวัดสารอ้างอิง และสารตัวอย่าง การวัดความเข้มของแสงกระทำโดยปรับ 0 %T แล้วปรับ 0A หรือ 100 %T ด้วยสารอ้างอิง หลังจากนั้นวัดค่าของสารตัวอย่างในหน่วย A หรือ %T (ภาพที่ 4) ชนิดลำแสงเดี่ยวมีข้อดีตรงที่มีองค์ประกอบน้อยและมีแสงผ่านไปยังสารตัวอย่างมากกว่าแบบอื่นๆ แต่มีข้อเสียตรงที่เสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงเดี่ยว
ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. (2539)

2. ชนิดลำแสงคู่ (Double beam type) วัดความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสง ให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มแสงที่ผ่านตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญลักษณ์ที่ได้จากสารตัวอย่างและสารอ้างอิงตลอดเวลา ดังนั้นจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงมากกว่า แต่เครื่องวัดชนิดนี้มีองค์ประกอบซับซ้อน เนื่องจากใช้ตัวไวแสงอันเดียวจึงต้องมีวงจรเลือกวัดสัญญาณ และใช้หลอดไฟฟ้ากำเนิดแสงมีกำลังส่องสว่างสูง จึงทำให้มีราคาแพงกว่าเครื่องมือชนิดลำแสงเดี่ยว (ภาพที่ 5)

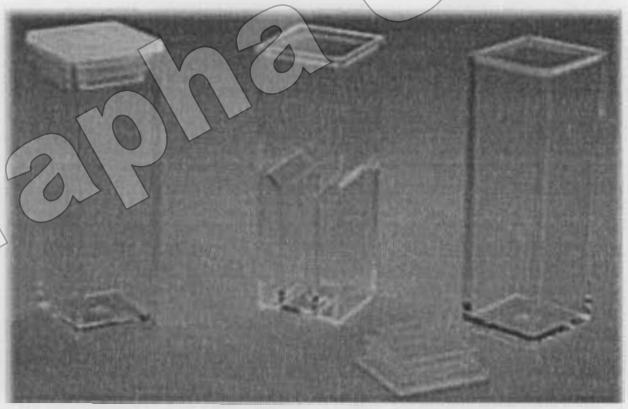


ภาพที่ 5 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่
ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. (2539)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (Wavelength selector) เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (Polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือ เป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (Monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือ ฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (Monochromater) แบบเกรตติ้ง (Grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน ช่องแสงออก (Exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

3. ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (Cell หรือ Cuvette) ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (Cuvette) (ภาพที่ 6) มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกัน ขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเลต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (Quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั่นหมายความว่าถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่า ประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพง กว่าแก้วมาก



ภาพที่ 6 ตัวอย่างภาชนะใส่สาร (Cuvettes) แบบต่างๆ
ที่มา : แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. (2539)

4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (Detector) เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่ นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube; PMT) หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ ประกอบไปด้วยแคโทด (Cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสง จำนวน 9 ชุด เรียกว่า ไดโนด (Dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่งสารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้น แล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง 10^6-10^7 เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป

4.2 โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (Photodiode arrays; PDA) ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้ มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200-1100 นาโนเมตร ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (Capacitor) ประมาณ 200 - 4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่ต้องใส่เข้าไปใหม่ จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มแสงที่วัดได้ของแต่ละไดโอด ดังนั้นจากการวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา

5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (Recorder and Processor) ทำหน้าที่ขยายสัญญาณและแปลผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (Log scale)

ตัวอย่างเทคโนโลยีในปัจจุบัน

เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ในปัจจุบันได้รับการพัฒนา ให้มีขนาดที่เล็กลง มีความไวมากขึ้น ให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมไป ถึง การพัฒนาโปรแกรมที่ใช้ควบคู่กันกับเครื่องมือในการวิเคราะห์ และ การพ่วงต่อด้วยเทคนิคอื่นๆ เช่น แสงในช่วงอินฟราเรดใกล้ ทำให้สามารถนำไปใช้งานได้กว้างขึ้น ในราคาที่ถูกลงผู้เขียนจะขอแนะนำตัวอย่างเทคโนโลยีปัจจุบันของเครื่องมือในแต่ละผู้ผลิต

3 ดีเทคเตอร์ ซิสเต็ม (Detector system) เทคโนโลยีนี้เป็นของ ชิมาดซุ (Shimadzu) ที่ได้ทำการเพิ่มเครื่องตรวจวัดภายในเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งพัฒนาให้สามารถตรวจวัดแสงในช่วงอินฟราเรดใกล้ (Near infrared; NIR) ได้ให้มีถึง 3 ตัวด้วยกัน ได้แก่ หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ สำหรับการตรวจวัดแสง ในช่วง รังสี ยูวีและแสงขาว อินเดียม แกลเลียม อาร์เซนไนด์ (Indium Gallium Arsenide; InGaAs) สำหรับการตรวจวัดแสงในช่วงอินฟราเรดใกล้

ล็อค อิท ดาวน์ แอดน์ วอล์ค อะเวย์ (Lock it down and walk away) ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่นใหม่ๆ ของแวเรียน จะมีกลไกสำหรับยึดให้อุปกรณ์ต่างๆ ภายใน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตัวเครื่อง อยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้อง (Lockdown mechanism) เพียงแค่กดปุ่มให้ระบบ ทำงานระบบนี้สามารถทำการ เพิ่ม ลด หรือปรับเปลี่ยนอุปกรณ์ต่างๆ ในตำแหน่งเดิมที่ถูกต้อง ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับงานวิเคราะห์ที่ใช้ระยะเวลานานและผู้ใช้ไม่มีเวลาในการจัดเตรียมหรือ ตั้งค่าต่างๆ ในการทำงาน

เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ในรุ่นที่เป็นแบบเครื่องเดี่ยว (Stand-alone) ของ ยูนิโค (Unico) นั้น ตัวโปรแกรมต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทุกโปรแกรม จะถูกใส่อยู่ในตัว เครื่องเรียบร้อยแล้ว (Built-in) และสามารถปรับปรุงโปรแกรมให้มีความ ทันสมัยอยู่เสมอได้โดยผ่านทางอินเตอร์เน็ต

ไมโครโฟกัสบีม (Micro-focused beam) เทคโนโลยีนี้เหมาะสำหรับการศึกษาตัวอย่างที่มีปริมาณเพียงเล็กน้อย เช่น โปรตีน หรือดีเอ็นเอ ซึ่ง บริษัทเบคแมน (Beckman Coulter) ได้พัฒนาเทคโนโลยีนี้โดย การให้เครื่องมือ ทำการโฟกัสแสงลงบนช่องสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 0.5 x 2.2 มิลลิเมตร บนเซลล์ที่บรรจุตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างยังคงได้รับพลังงานแสงทั้งหมด และ ลดการสูญเสียพลังงานจาก วิธีการทำเครื่องหมายบนเซลล์หรือวิธีการอื่นๆ

สรุป โดยทั่วไปเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ของแต่ละผู้ผลิตต่างก็มี หลักการทำงานเหมือนกัน เพียงแต่ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี ทำให้เครื่องมือในแต่ละ รุ่นมีความสามารถ ที่แตกต่างกันไป

2. การตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี กลูโคสมิเตอร์

การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจสำหรับการตรวจวิเคราะห์ระดับน้ำตาลในเลือด

ในการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี กลูโคสมิเตอร์ โดยทั่วไปจะใช้เลือดจากการเจาะเลือดที่ปลายนิ้ว แต่ก็สามารถใช้เลือดจากบริเวณอื่นๆ ของร่างกายนอกเหนือจากปลายนิ้วได้ โดยการใช้เลือดจากปลายนิ้วสามารถตรวจได้ตลอดเวลา แต่การใช้เลือดจากบริเวณอื่นต้องเจาะในเวลาที่เหมาะสม โดยการใช้เลือดจากส่วนอื่นของร่างกายใช้ได้เมื่อ ตรวจเลือดก่อนรับประทานอาหารหรืองดอาหารมาอย่างน้อย 6 – 8 ชั่วโมง และไม่ควรใช้เลือดจากส่วนอื่นของร่างกายในกรณีหลังการรับประทานอาหารสองชั่วโมงหรือน้อยกว่า หลังการออกกำลังกาย หรืออยู่ในระหว่างเจ็บป่วย

การตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี กลูโคสมิเตอร์ โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เตรียมเครื่องตรวจ แถบทดสอบ และอุปกรณ์การเจาะเลือดให้พร้อม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

2. เปิดเครื่องตรวจสอบตัวเลขโค๊ดที่ปรากฏบนหน้าจอว่าตรงกับตัวเลขที่ระบุไว้ที่ข้างขวดบรรจุแถบทดสอบหรือไม่ ถ้าตรงกันก็สามารถทดสอบได้เลย แต่ถ้าไม่ตรงกันต้องเปลี่ยนโค๊ดคีย์ในเครื่องใหม่ให้ตรงกับตัวเลขข้างขวดบรรจุแถบทดสอบ

3. ใส่แถบทดสอบเข้าเครื่องหน้าจอจะแสดงรูปแถบตรวจและหยดเลือดกระพริบๆ

4. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดบริเวณปลายนิ้วที่จะเจาะเลือด รอสักครู่เพื่อให้แอลกอฮอล์แห้ง กดปากกาเจาะเลือดให้แนบกับผิวหนังบริเวณที่ต้องการเจาะ กดปุ่มปล่อยเข็มเจาะเลือดในขณะที่ยังกดปลายปากกาเจาะเลือดกับผิวหนังอยู่ (ถ้าหยดเลือดที่เจาะได้มีขนาดเล็กให้ออกแรงกดซ้ำเพื่อให้ได้หยดเลือดที่มีปริมาณมากขึ้น ปากกาเจาะเลือดสามารถปรับระดับความลึกของการเจาะได้โดยการหมุนปรับระดับที่หัวปลายปากกาเจาะเลือด)

5. แตะหยดเลือดที่ปลายด้านหน้าของแถบทดสอบ เมื่อมีสัญญาณรูปนาฬิกาทรายกระพริบปรากฏบนหน้าจอแสดงว่าหยดเลือดเพียงพอแล้ว แต่หากหยดเลือดแล้วยังไม่ปรากฏรูปนาฬิกาทรายสามารถหยดเลือดซ้ำได้ในภายใน 5 วินาที

การอ่านผล ผลจะแสดงที่หน้าจอเครื่องหลังจากหยดเลือดใส่แผ่นทดสอบประมาณ 5 วินาที ผลการตรวจเป็นการแสดงความเข้มข้น มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

การแปลผล ค่าความเข้มข้นปกติของระดับกลูโคส คือ 74 - 106 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

หลักการทำงานของเครื่อง กลูโคสมิเตอร์ เครื่อง กลูโคสมิเตอร์ โดยส่วนใหญ่ใช้หลักการเป็นการตรวจวัดโดยอาศัยหลักการ อีเล็คโตรเคมิคอล ไบโอเซนเซอร์ (Electrochemical biosensor)

ไบโอเซนเซอร์ (Biosensor) คือ อุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ เป็นอุปกรณ์ที่นักวิทยาศาสตร์พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างได้อย่างเฉพาะเจาะจง และใช้ตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ ได้หลากหลายชนิด โดยรวมแล้ว ประกอบด้วยอุปกรณ์ 2 ส่วน คือ ตัวแปลงสัญญาณ และสารชีวภาพ

1. ตัวแปลงสัญญาณ (Transducer) เป็นอุปกรณ์สำหรับแปลงสัญญาณเฉพาะต่างๆ เช่น อิเล็กตรอน แสง เป็นสัญญาณไฟฟ้าเพื่อเป็นดัชนีระบุถึงปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์

2. สารชีวภาพ (Biological substance) เป็นสารที่มีความสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างจำเพาะเจาะจง

หลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์

ขั้นตอนแรก ทำการตรึงสารชีวภาพเข้ากับตัวแปลงสัญญาณเพื่อสร้างไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์สารที่ต้องการ

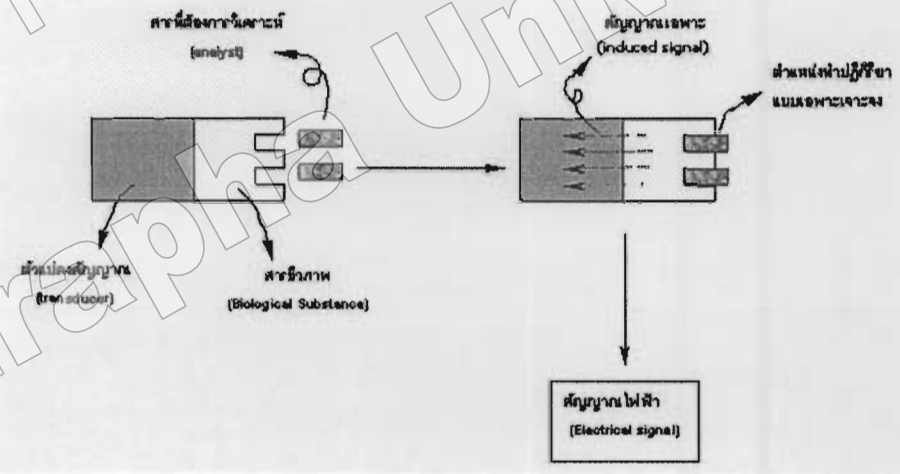
ขั้นตอนที่สอง นำไบโอเซนเซอร์ที่ได้มาทำการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ ในขั้นตอนนี้สารที่ต้องการวิเคราะห์จะจับกับไบโอเซนเซอร์ที่ตำแหน่งจำเพาะเจาะจงตรงส่วนของ

306364

สารชีวภาพที่เราตึงบนตัวไบโอเซนเซอร์ เราเรียกขั้นตอนนี้ว่า กลไกการจดจำทางชีวภาพ (Biological recognition mechanism) จากการเข้าจับกันทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีและมีการถ่ายทอดสัญญาณเฉพาะ (Indicated signal) ซึ่งอาจเป็น อิเล็กตรอน แสง และอื่นๆ เข้าสู่ตัวแปลงสัญญาณ

ขั้นตอนที่สาม ตัวแปลงสัญญาณรับและเปลี่ยนสัญญาณเฉพาะเป็นสัญญาณไฟฟ้าผ่านเครื่องอ่านสัญญาณออกมา ทำให้เราสามารถอ่านค่าได้ เรียกขั้นตอนนี้ว่า เทคนิคของการรับและแปลงสัญญาณทางกายภาพ (Physical transduction technique) และเมื่ออ่านค่าได้ก็ทำให้ทราบว่าสารที่เราวิเคราะห์นั้นเป็นสารใด (ภาพที่ 7)

เมื่อนำมาประยุกต์ใช้พบว่านำมาไปใช้ตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ ได้มากมายเพียงอาศัยหลักการที่ว่าการตรวจวัดสารตัวอย่างแต่ละชนิด จะใช้ตัวแปลงสัญญาณและสารทางชีวภาพที่เฉพาะเจาะจงแตกต่างกันไป ซึ่งมีประโยชน์ในหลายด้าน ไดแก่ ด้านการแพทย์ ด้านอุตสาหกรรม อาหารและการเกษตร ด้านสิ่งแวดล้อม ด้านการทหาร ตัวอย่างไบโอเซนเซอร์ทางด้านการแพทย์ เช่น การตรวจกลูโคสในผู้ป่วยเบาหวาน



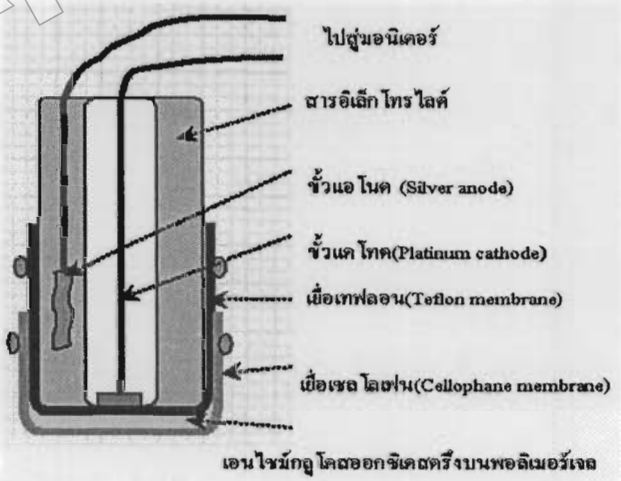
ภาพที่ 7 หลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์
ที่มา : มหาวิทยาลัยมหิดล. (2554)

กลูโคสเซนเซอร์ (Glucose sensor) เกิดขึ้นในปี ค.ศ. 1962 ลีแลนด์ คลาค (Leland C. Clark) นักวิทยาศาสตร์ชาวสหรัฐ ได้ตีพิมพ์ผลงานในการประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์ (ตอนนั้นเรียกเอนไซม์เซนเซอร์) เพื่อตรวจวัด ปริมาณกลูโคสในเลือดมนุษย์ได้เป็นผลสำเร็จครั้งแรก นั่นเป็นเหตุการณ์ที่นักวิทยาศาสตร์รู้จักคำว่าไบโอเซนเซอร์เป็นครั้งแรก ในการศึกษาของเขานั้น เขาสนใจ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในการตรวจวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนก่อนเป็นอันดับแรก เขาได้อธิบายว่า สามารถติดตามการทำงานของเอนไซม์โดยการตรวจวัดระดับออกซิเจนที่เอนไซม์นั้นใช้ไปโดยใช้อิเล็กโทรดแพลทินัม (Platinum electrode) เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีความจำเพาะเจาะจงกับสารเคมีตั้งต้นหรือสับสเตรท (Substrate) อย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น ในการเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ในสิ่งมีชีวิตจำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์เพื่อมาลดพลังงานกระตุ้นลง การทำงานของเอนไซม์เป็นอย่างไร ในตอนแรกเอนไซม์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสำหรับทำงานแล้วก็จะจับกับสับสเตรท หลังจากที่เอนไซม์จับกับสับสเตรทแล้วเกิดการเปลี่ยน สับสเตรทไปเป็นผลิตภัณฑ์ และได้เอนไซม์ซึ่งอยู่ในอีกสภาวะหนึ่งซึ่งไม่เหมาะที่จะจับกับสับสเตรท ก็จะต้องมีการถ่ายโอนพลังงานบางชนิดให้เอนไซม์เพื่อให้เอนไซม์กลับมาสู่สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานใหม่ วิธีการอย่างหนึ่งคือการถ่ายโอนอิเล็กตรอน เราสามารถนำเอนไซม์มาทำปฏิกิริยากับสับสเตรทตัวใหม่ได้โดยการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นในระบบนั้น เมื่อเอนไซม์อยู่ในภาวะเหมาะสมที่จะกระตุ้นสับสเตรทอันใหม่มันก็สามารถทำงานได้ต่อไป ในการทำงานของเอนไซม์กับสับสเตรทต้องใช้แก๊สบางชนิดหรืออาศัยน้ำ ซึ่งการใช้แก๊สเหล่านี้จะขึ้นกับปริมาณสับสเตรทที่เอนไซม์ทำปฏิกิริยาด้วย จากหลักการนี้ถ้าเรามีเซนเซอร์ที่สามารถวัดปริมาณแก๊สที่เอนไซม์ใช้ไปเราก็สามารถที่จะรู้ปริมาณสารเคมีที่เราต้องการวัดได้

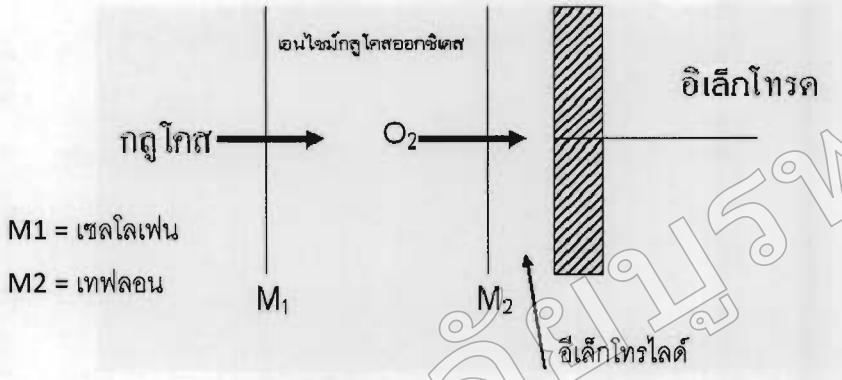
ในการวัดปริมาณกลูโคสในเลือด ตามวิธีของคลาค เขาได้ใช้เอนไซม์ชนิดหนึ่งเรียกว่าเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase; GOD) เนื่องจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจะมีความจำเพาะเฉพาะกับกลูโคสเท่านั้น เพราะฉะนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นก็เป็นผลมาจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสทำกับกลูโคส อิเล็กโทรดที่เขาใช้มีลักษณะเป็น (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ขั้วไฟฟ้าของกลูโคสเซนเซอร์
ที่มา : มหาวิทยาลัยมหิดล. (2554)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขั้วบวกทำจากโลหะแพลทินัม ขั้วลบทำจากโลหะเงิน ตรงส่วนรับสัญญาณก็จะบรรจุเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่ตรึงบนพอลิเมอร์ โดยหุ้มไว้ด้วยเยื่อ 2 ข้างด้านที่ติดกับขั้วไฟฟ้าเป็นเยื่อเทฟลอน แต่ด้านที่ติดกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Analyte) จะเป็นเยื่อเซลโลเฟน (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 กระบวนการที่ขั้วไฟฟ้ากลูโคสเซนเซอร์
ที่มา : มหาวิทยาลัยมหิดล. (2554)

หลักการในการตรวจวัดกลูโคสของคลาคมีลักษณะดังภาพที่ 10

ภาพที่ 10 หลักการในการตรวจวัดกลูโคสของลีแลนด์ คลาค (Leland C. Clark)
ที่มา : มหาวิทยาลัยมหิดล. (2554)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เริ่มต้นจากเมื่อ กลูโคสแทรกผ่านเยื่อเซลโลเฟนเข้ามาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส กลูโคสจะกลายเป็น กรดกลูโคนิก ส่วนเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเมื่อถูกออกซิไดซ์ด้วยกลูโคส จะให้ 2 อิเล็กตรอนและ 2 ไฮโดรเจนไอออนหรือ 2 โปรตอน ดังสมการ (10) แล้วกลายเป็นอยู่อีกรูปหนึ่ง ต่อมาออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายจะแทรกผ่านเยื่อเทฟลอนรับเอา 2 อิเล็กตรอนและ 2 โปรตอน กลายไปเป็น แก๊สไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ขั้วบวก เกิดเป็นสัญญาณไฟฟ้าต่อไป ดังสมการ (11) ส่วนกลูโคสตัวใหม่ก็สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้อีกเช่นเดียวกันเรื่อยไป เมื่อนำอิเล็กโทรดไปวัดสารตัวอย่างเพื่อหาปริมาณกลูโคส ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ไปจะสัมพันธ์กับปริมาณของเอนไซม์ที่จับกับกลูโคส ดังนั้นปริมาณกลูโคสที่มีอยู่ก็สามารถวัดได้โดยการวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนที่เอนไซม์ใช้ไปนั่นเอง ปฏิกิริยารวมที่เกิดขึ้นทั้งหมดคือ

$$Glucose + O_2 + H_2O \xrightarrow{GOD} Gluconic\ acid + H_2O_2 \quad \text{.....(10)}$$

โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาคือเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และที่ขั้วบวก จะเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีดังนี้

$$O_2 + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_3 \quad \text{.....(11)}$$

จากสมการ จะพบว่า ออกซิเจนมีเลขออกซิเดชันเปลี่ยนจาก 0 เป็น -1 นั่นแสดงว่าที่อิเล็กโทรดมีการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าเคมีเกิดขึ้น จากการเปลี่ยนแปลงนี้เราก็สามารถวัดปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นหรือปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงได้ ถ้าเป็นการวัดกระแส ทรานดิวเซอร์ของเซนเซอร์ชนิดนี้ก็จะเป็น Amperometric transducer แต่ถ้าเป็นการวัดความต่างศักย์ก็จะเป็น Potentiometric transducer (มหาวิทยาลัยมหิดล, 2554)

ตัวอย่างเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดที่มีใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

เครื่องตรวจเบาหวาน แอคคิว-เช็ค เพอร์ฟอร์มา (ACCU-CHEK Performa blood) ซึ่ง เป็นเครื่องที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

คุณสมบัติเด่น

1. เทคโนโลยีล่าสุด พร้อมระบบตรวจสอบปัจจัยทางกายภาพต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจ เช่น ความเข้มข้นของเลือด ความชื้น อุณหภูมิของสภาพแวดล้อมในขณะตรวจ พร้อมปรับค่าต่างๆ ให้เข้าสู่สภาพสมดุล โดยอัตโนมัติ

2. เก็บข้อมูลในหน่วยความจำได้มากถึง 500 ค่า

3. สามารถดูค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือด 7 วัน 14 วัน และ 30 วันที่ผ่านมาได้ ทำให้สามารถติดตามแนวโน้มการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้

4. ใช้เลือดน้อยมาก เพียง 0.6 ไมโครลิตร (เล็กกว่าหัวเข็มหมุด)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. ประมวลผลได้รวดเร็ว ภายในเวลาเพียง 5 วินาที

6. สามารถตรวจเลือดได้จากแหล่งต่างๆ 5 แห่ง ได้แก่ ปลายนิ้ว ฝ่ามือ หน้าขา น่อง และแขน

7. มีระบบตรวจสอบแผ่นตรวจเลือด โดยอัตโนมัติ

8. สามารถจำแนกได้ว่า เลือดเพียงพอหรือไม่ สิ่งที่หยดลงไปภายในแถบวัด เป็นเลือดหรือ น้ำยาตรวจสอบคุณภาพ ได้

9. ความถูกต้องแม่นยำมีค่าอยู่ระหว่าง 0.94 และ 1.06

10. ช่วงการวัดค่าของเครื่องตรวจ 10 – 600 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

เครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด เทอร์รูโม (TERUMO)

คุณสมบัติเด่น

1. วัดค่าได้รวดเร็วและใช้งานง่าย (ไม่ต้องใส่รหัสใดๆเข้าเครื่องอ่าน)

2. ใช้ปริมาณเลือดในการตรวจค่าน้ำตาลเพียง 1.2 ไมโครลิตร

3. วัดค่าได้รวดเร็วเพียง 10 วินาที ด้วยค่าที่แม่นยำ

4. มีปุ่มปลดทิ้งกระเปาะที่ใช้งานแล้ว ทำให้ไม่ต้องสัมผัสเปื้อนเลือด จึงให้ความปลอดภัยและสะดวกมากขึ้น

5. รูปแบบทันสมัย กะทัดรัด และน้ำหนักเบา ขนาดและรูปแบบที่ถูกออกแบบให้จับถือได้มั่นคงใช้งานง่ายและเคลื่อนย้ายได้สะดวก พร้อมหน้าจอแอลซีดี (LCD) ขนาดใหญ่ เพื่อการอ่านค่าอย่างชัดเจน

6. ปากกาเจาะปลายนิ้วออกแบบเพื่อความปลอดภัยจะถูกซ่อนอยู่ภายในทั้งก่อนและหลังใช้งาน เพื่อป้องกันอุบัติเหตุจากเข็มทิ่มตำ และสามารถปรับระดับความลึกของเข็มได้ 5 ระดับ

7. บันทึกข้อมูลสูงสุด 150 ครั้งโดยอัตโนมัติ

8. ขนาด 108 มิลลิเมตร x 40 มิลลิเมตร x 18 มิลลิเมตร น้ำหนัก 45 กรัม (รวมแบตเตอรี่ 2 ก้อน)

9. ช่วงการวัด 20-600 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

เครื่องตรวจเบาหวาน กลูโคลีดเดอร์ (GlucoLeader) รุ่น CS 100

คุณสมบัติเด่น

1. ขนาด 55 x 94 x 16 มิลลิเมตร (กว้าง x ยาว x หนา)

2. น้ำหนักเครื่องรวมแบตเตอรี่ 56 กรัม

3. เป็นการตรวจวัดโดยอาศัยหลักการ อีเล็คโตรเคมิคอล ไบโอเซนเซอร์

4. สามารถแสดงค่าก่อนอาหาร / หลังอาหาร

5. บันทึกผลทดสอบได้ 150 ครั้งตามวันเวลา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

6. ใช้เลือดในการตรวจวัดเพียง 1.50 ไมโครลิตร อ่านค่าภายในเวลา 8 วินาที

7. ช่วงของการวัดผล 20-600 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

8. มาตรฐานแผ่นทดสอบ (Test Strip : GOD-DS4-A, GOD-DS4-B , และ GDH-DS4-A)

9. ประหยัดพลังงาน ปิดอัตโนมัติเมื่อไม่ได้ใช้งานภายใน 2 วินาที

10. สามารถเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ได้

เครื่องวัดน้ำตาลในเลือด วัดเบาหวาน กลูโคดอกเตอร์ บลัดกลูโคส เทสต์มิเตอร์ (GlucoDr. Blood Glucose Test Meter AGM 3000)

คุณสมบัติเด่น

1. เป็นการตรวจวัดโดยอาศัยหลักการ Electrochemical biosensor

2. ใช้เลือดในการตรวจวัดเพียง 1.50 ไมโครลิตร อ่านค่าภายในเวลา 5 วินาที

3. ช่วงของการวัดผล 20-900 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

4. แบตเตอรี่ใช้ถ่าน AAA 2 ก้อน อายุแบตเตอรี่ 5000 ครั้ง

5. หน้าจอแอลซีดี

6. หน่วยความจำ 2000 ครั้ง รวมวันที่และเวลา

3. การตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี ฮีโมโกลบินเอวันซี ในปัจจุบันห้องปฏิบัติการสามารถที่จะให้การตรวจหาระดับน้ำตาลที่มีประสิทธิภาพในการติดตามผลการรักษาได้ดีกว่าการทดสอบทั้งสองในรูปของไกลโคไซเลตโปรตีน (Glycosylate proteins) ในภาวะปกติจะมีการจับระหว่างน้ำตาล กับโปรตีนทุกชนิดในลักษณะที่เรียกว่านอนเอนไซม์เมติคไกลเคชัน (Non-enzymatic glycation) ในอัตราที่ต่ำ แต่ในกรณีที่มีระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มสูงขึ้นเป็นระยะเวลานาน จะทำให้ระดับของไกลโคไซเลตโปรตีน สูงตามไปด้วยสม่ำเสมอ และมีความสัมพันธ์โดยตรงกับครึ่งชีวิตของโปรตีนแต่ละชนิด การตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดด้วยวิธีฮีโมโกลบินเอวันซีเป็นการตรวจ ไกลโคไซเลต ฮีโมโกลบิน ซึ่งเกิดจากการจับตัวกันของน้ำตาลกลูโคสในกระเลือดกับฮีโมโกลบินเอวันซีซึ่งตรวจได้โดยวิธี ไฮเพอร์ฟอร์มแมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี (High-performance liquid chromatography; HPLC) เอนไซม์ อิมมูโน แอสเสย์ (Enzyme immunoassay; EIA)

การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจสำหรับการตรวจวิเคราะห์ระดับน้ำตาลในเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดโดยการเจาะเลือดที่เส้นเลือดดำที่แขน (Whole blood) ผสมกับสารกันเลือดแข็งตัวในขนาดที่เหมาะสม สารกันเลือดแข็งตัวที่ใช้ได้แก่อีดีทีเอ (Ethylene diamine tatra-acitic acid; EDTA) สารนี้ มีผลทำให้เลือดไม่แข็งตัวโดยไปรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) มักอยู่ในรูปของเกลือไดโซเดียม (Disodium salt) และเกลือไดโพแทสเซียม

(Dipotassium salt) แต่นิยมใช้เกลือไดโซเดียม มากกว่า เพราะละลายน้ำได้ดี อีดีทีเอ เป็นสารกันเลือดแข็งตัวที่เหมาะสำหรับ เก็บเลือดเพื่อ ตรวจค่าโลหิตวิทยา เพราะป้องกันการแข็งตัวของเลือดได้อย่างสมบูรณ์ ไม่ทำให้รูปร่างและปริมาตรของเม็ดเลือดเปลี่ยนแปลง รวมทั้งยังสามารถป้องกันการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด (Surface adhesion) ได้ด้วย

การเจาะหาน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี ฮีโมโกลบินเอวันซีใช้หลักการที่ว่า ฮีโมโกลบินเอวันซีสามารถจับกับกลูโคส ได้ง่าย ซึ่งปริมาณ ฮีโมโกลบินเอวันซีจะมากหรือน้อยขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส และอายุของเม็ดเลือดแดง ซึ่งค่าเฉลี่ยในคนปกติประมาณ ร้อยละ 4-6 ส่วนผู้ป่วยเบาหวานค่าเฉลี่ยไม่ควรเกิน ร้อยละ 7 นอกจากนี้ ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง ฮีโมโกลบินเอวันซีและ ระดับ พาสมา กลูโคส เฉลี่ยต่อวัน สำหรับใช้เป็นค่าในการติดตามผู้ป่วย สรุปได้ว่าปริมาณ ฮีโมโกลบินเอวันซีเพิ่มขึ้นร้อยละ 1 จะเท่ากับระดับน้ำตาลเฉลี่ยทั้งวันที่เพิ่มขึ้น 35 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิลิตร

ทั้งนี้ การตรวจด้วยวิธี ฮีโมโกลบินเอวันซีมีประโยชน์/ข้อดี ดังนี้ คือ 1) ทราบระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสมในรอบ 3 เดือน 2) ไม่ต้องงดอาหารก่อนตรวจ และ 3) มีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดโรคแทรกซ้อน ซึ่งถ้า ฮีโมโกลบินเอวันซีสูง มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนมากขึ้น ส่วนข้อเสีย มีดังนี้ คือ 1) ราคาแพงกว่าฟาสติ้ง บลัด ซูการ์ 2) ค่าจะต่ำในบางภาวะ เช่น การตั้งครรภ์ ซีด หรือเป็นโรคที่มีเม็ดเลือดแดงอายุสั้น เช่น ธาลาสซีเมีย และ 3) ค่าที่ได้จะบอกค่าเฉลี่ยน้ำตาลในเลือดระยะ 3 เดือน ไม่สามารถบอกการเปลี่ยนแปลงในระยะสั้นๆ ได้ คือ ไม่สามารถทดแทน ฟาสติ้ง บลัด ซูการ์ได้ รวมทั้งไม่สามารถใช้ในการวินิจฉัยได้เนื่องจากความไวต่ำ ในคนปกติที่ไม่เป็นเบาหวาน มีฮีโมโกลบินเอวันซี 4-6.5%

ค่าฮีโมโกลบินเอวันซี	ค่าระดับน้ำตาลในเลือด	การแปลผล
น้อยกว่า 7%	น้อยกว่า 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	ควบคุมเบาหวานได้ดี
7-8%	126 – 179 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	ควบคุมเบาหวานได้เกือบดี
มากกว่า 8%	มากกว่า 180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	ยังคุมเบาหวานได้ไม่ดีเท่าที่ควร

ในอดีตหลักการที่ใช้วิเคราะห์ ฮีโมโกลบินเอวันซีมีอยู่หลายหลักการ ซึ่งหลักการที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย คือไอออนเอ็กซ์เชนจ์โครมาโตกราฟี (Ion exchange chromatography) และแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี (Affinity chromatography) แต่ยังพบข้อจำกัดบางประการของหลักการวิเคราะห์ทั้ง 2 หลักการนี้อยู่บ้าง เช่น ไอออนเอ็กซ์เชนจ์โครมาโตกราฟี ขาดความจำเพาะต่อ ฮีโมโกลบินเอวันซีเนื่องจาก ฮีโมโกลบินแวเรียน หรือ สารอนุพันธ์ของฮีโมโกลบิน จะถูกละลาย ออกมาปะปน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กับ ฮีโมโกลบินเอวันซีและถูกวัดรวมไปด้วย นอกจากนี้ยังถูกรบกวนด้วยสารที่มีความคล้ายคลึงกับ ฮีโมโกลบินเอวันซีเช่นคาร์บาไมเลชัน (Carbamylation) มีปริมาณของยูเรียในเลือดสูง เป็นต้น แอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี สามารถวัดได้เพียงไกลเคตฮีโมโกลบิน (Glycated hemoglobin) ดังนั้นจึงต้องทำการคำนวณกลับเป็นค่าร้อยละ ฮีโมโกลบินเอวันซีภายหลัง

ส่วนหลักการอิมมูโนโลจิคอล (Immunological methods) นั้นได้พัฒนาแอนติบอดี้ (Antibody) ที่จำเพาะต่อโมเลกุลของกลูโคสที่จับกับกรดอะมิโน (Amino acid – valine) ตรงตำแหน่งเอนเทอร์มินอล (N- terminal) ของสายโปรตีนบี (B- chain) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่กำหนดให้ทำการวัดค่าของ ฮีโมโกลบินเอวันซีหลักการอิมมูโนเอสเสย์นั้น ในปัจจุบันมีอยู่หลายหลักการ เช่น เอนไซม์อิมมูโนเอสเสย์ (Enzyme immunoassay; EIA) เทอร์บิไดเมตตริคอลอินฮิปปิชันอิมมูโนเอสเสย์ (Turbidimetrical inhibition immunoassay) เป็นต้น หลักการอิมมูโนเอสเสย์นี้ไม่ถูกรบกวนด้วย ฮีโมโกลบินแวเรียน หรือ สารอนุพันธ์ของฮีโมโกลบินอื่นๆ

ตามที่สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทยได้จัดการบรรยายวิชาการเรื่อง “Adding Value to Hb A_1c Results”เมื่อวันที่ 19 เมษายน 2554 ณ โรงแรมโนโวเทล สยามสแควร์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มพูนความรู้และแลกเปลี่ยนประสบการณ์ของการพัฒนาเกี่ยวกับระบบการตรวจวิเคราะห์ ฮีโมโกลบินเอวันซีสำหรับการวินิจฉัยและตรวจติดตามการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานให้กับบุคลากรห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ในการพัฒนาปรับปรุงคุณภาพการบริการทางด้านห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ในการวินิจฉัยและตรวจติดตามการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ได้รับการสนับสนุน จากบริษัทไบโอ-ราด แลบบอราทอรี่ส์ จำกัด ทั้งนี้ได้รับการตอบรับอย่างดีจากหน่วยงานภาครัฐและเอกชน โดยการบรรยายวิชาการซึ่งมีบทสรุปดังนี้

1. ฮีโมโกลบินเอวันซีไม่ได้เป็นเพียงการตรวจวิเคราะห์แต่ในปัจจุบันมีวัตถุประสงค์เพื่อการตรวจวินิจฉัยและหรือคัดกรองโรคเบาหวาน

2. ความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ ฮีโมโกลบินเอวันซีสำหรับห้องปฏิบัติการมีค่ายอมรับได้ที่ น้อยกว่าร้อยละ(Within),น้อยกว่าร้อยละ5 (Between) โดยเป็นอิสระจากค่าอคติ (Bias = ร้อยละ 0)

3. ฮีโมโกลบินแวเรียนสามารถรบกวนและส่งผลกระทบต่อผลการตรวจวิเคราะห์ ฮีโมโกลบินเอวันซีสิ่งสำคัญคือห้องปฏิบัติการควรทราบต่ออุบัติการณ์หรือความชุกของฮีโมโกลบินแวเรียนเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกใช้หลักการตรวจวิเคราะห์ ฮีโมโกลบินเอวันซีที่เหมาะสม ถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือและห้องปฏิบัติการควรแจ้งต่อแพทย์เมื่อมีการตรวจพบฮีโมโกลบินแวเรียนเพื่อเตือนให้ทราบถึงผลการวิเคราะห์ที่อาจคลาดเคลื่อนจากปัจจัยดังกล่าว ทั้งนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เป็นข้อมูลสำหรับแพทย์ในการตัดสินใจต่อการให้การปรับระดับยาในการรักษาผู้ป่วยอย่างเหมาะสม

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อความถูกต้องแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ ฮีโมโกลบินเอวันซีคือ

1. ก่อนการตรวจวิเคราะห์ (Pre analytical) ได้แก่การเก็บสิ่งส่งตรวจ, พยาธิสภาพทางชีวภาพในตัวผู้ป่วย, ฮีโมโกลบินแวเรียน, ภาวะซีด, ยา, วิตามิน, แอลกอร์ฮอร์

2. การตรวจวิเคราะห์ (Analytical) ได้แก่ การเลือกใช้หลักการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสม

3. หลังการตรวจวิเคราะห์ (Post analytical) ได้แก่ การแปลผล, การรายงานผล

การตรวจ ไกลโคเลตซีรัมอัลบูมิน (Glycosylated serum albumin) หรือ ฟรุคโตสซามีน (Fructosamine) เนื่องจากฮีโมโกลบินและอัลบูมินหรือโปรตีนรวมมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 6-8 สัปดาห์ และ 2-3 สัปดาห์ตามลำดับ ระดับ ฮีโมโกลบินเอวันซี หรือ ฟรุคโตสซามีน ที่ตรวจพบ จะบอกถึงภาวะของน้ำตาลของผู้ป่วยในระยะเวลาดังกล่าวที่ผ่านมาได้ดีกว่าระดับของน้ำตาลในเลือด เนื่องจากระดับของ ไกลเคตเตดโปรตีน (Glycated protein) ทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยนแปลงช้า และไม่มีผลกระทบโดยเร็วจากภาวะเครียด หรือการเปลี่ยนแปลงการควบคุมโดยอาหารเหมือนกับระดับน้ำตาลในเลือด อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการทดสอบทั้งสอง ให้ความไวไม่สูงพอในการแยกกลุ่มบุคคลที่ไม่เป็นโรคเบาหวาน ออกจากกลุ่มที่มีโอกาสเป็นโรคเบาหวาน (Impaired glucose tolerance) จึงไม่ควรใช้ ฮีโมโกลบินเอวันซี หรือ ฟรุคโตสซามีน ในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน

การตรวจวัดระดับน้ำตาลในปัสสาวะ

การตรวจน้ำตาลในปัสสาวะมีความจำเป็นและสำคัญมาก ทั้งนี้เพื่อที่ตัวผู้ป่วยโรคเบาหวานจะได้ทราบว่า ระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับใดและต้องใช้วิธีการรักษาที่ถูกต้องอย่างไร เพื่อผลในการป้องกันอันตรายและอาการแทรกซ้อนที่อาจเกิดตามมา

การตรวจด้วยน้ำยาเบเนดิกต์ (Benedict test)

วิธีการตรวจหาโรคเบาหวานด้วยน้ำยาเบเนดิกต์ สามารถทำได้โดยการใส่น้ำยาเบเนดิกต์ ซึ่งเป็นน้ำยาใสและมีสีน้ำเงิน 1 ช้อนชาลงในหลอดแก้ว หรือขวดแก้วทนไฟ แล้วใช้หลอดแก้วสำหรับหยดยา ดูดปัสสาวะใส่ลงไป 8 หยด เขย่าเบาๆ แล้วนำไปแช่ในน้ำเดือดนาน 5 นาที หรือเผาลนไฟนาน 1 นาที จนน้ำยาผสมปัสสาวะเดือด แล้วดูสีของน้ำยาแล้วนำมาเปรียบเทียบสี โดยถ้ามีสีน้ำเงินเหมือนเดิมหมายความว่าไม่มีน้ำตาลปัสสาวะ ถ้าสีเขียวหมายความว่ามีน้ำตาลหนึ่งบวก (1^+) ถ้าสีเหลืองหมายความว่ามีน้ำตาลสองบวก (2^+) ถ้าสีส้มหมายความว่ามีน้ำตาลสามบวก (3^+) และสีแสดแดงหมายความว่ามีน้ำตาลสี่บวก (4^+)

การตรวจด้วยยาเม็ดตรวจปัสสาวะ (Clinitest tablet)

ใส่ปัสสาวะ 5 หยด กับน้ำเปล่า 10 หยด ลงในหลอดแก้ว แล้วใส่ยาเม็ดลงไป จะเกิดฟองเดือดขึ้นเอง (โดยไม่ต้องต้มหรือลนไฟ) รอจนหมดฟองแล้วดูสีของน้ำยาเช่นเดียวกับวิธีที่ 1

การตรวจด้วยแผ่นทดสอบ (Paper strip)

เป็นวิธีที่สะดวกแต่ไม่นิยม มีข้อจำกัดในการประเมินผล เพราะน้ำตาลจะถูกขับออกมาเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกิน 180 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ สำหรับผู้สูงอายุอาจจะพบน้ำตาลในปัสสาวะเมื่อน้ำตาลในเลือดเกิน 220 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการตรวจน้ำตาลในปัสสาวะจึงบ่งบอกถึงระดับน้ำตาลในเลือดได้ไม่ดีนัก นอกจากนั้นหากมีการอักเสบของกระเพาะปัสสาวะ หรือเก็บปัสสาวะไม่ถูกต้องก็อาจจะทำให้การแปลค่าผิดไป

ขั้นตอนปฏิบัติในการตรวจสอบปัสสาวะดังนี้

1. ถ่ายปัสสาวะให้หมด
2. ดื่มน้ำสะอาด 1-2 แก้ว
3. ให้ถ่ายปัสสาวะลงในภาชนะที่สะอาด
4. ตรวจสอบหาน้ำตาลในปัสสาวะโดยจุ่มแถบลงในภาชนะที่เก็บปัสสาวะแล้วยกขึ้นทันที
5. ถือแผ่นทดสอบไว้ 30 วินาทีถึง 1 นาที
6. เทียบสีกับข้างขวด

ข้อแนะนำสำหรับการตรวจปัสสาวะด้วยแผ่นทดสอบ

1. ต้องปิดฝาขวดให้แน่น เพราะแผ่นทดสอบอาจจะชื้นทำให้เสีย
2. แผ่นที่จุ่มในปัสสาวะแล้วควรเทียบสีทันที ถ้าหากทิ้งไว้นานเกิน 2 นาทีห้ามนำไปเทียบสีอ่านผล เพราะเป็นผลที่คลาดเคลื่อน
3. ห้ามเก็บขวดบรรจุแผ่นทดสอบไว้ในที่ร้อนจัด หรือถูกแสงแดด
4. ภาชนะที่ใช้เก็บปัสสาวะต้องล้างให้สะอาด ปราศจากผงซักฟอก เพราะอาจจะทำให้คลาดเคลื่อนต้องตรวจดูวันหมดอายุทุกครั้ง

การแปลผลการตรวจ

ถ้าตรวจพบน้ำตาลตั้งแต่หนึ่งบวกขึ้นไป ก็ให้นึกสงสัยว่าเป็นเบาหวาน ทั้งนี้ยกเว้นผู้หญิงตั้งครรภ์และผู้ที่เป็นโรคไตเนื่องจากการกินเตตราไซคลีนที่หมดอายุ ก็อาจตรวจพบน้ำตาลในปัสสาวะได้ ผู้ที่กินยาบางชนิดก่อนตรวจ เช่น แอสไพริน วิตามินซี เมทิลโดพา (แอลโดเมต) ก็อาจทำให้น้ำยาเปลี่ยนสี ให้ผลบวกที่ไม่จริงได้ ในผู้ป่วยเบาหวานบางคน อาจตรวจพบน้ำตาลในเลือดสูง โดยตรวจไม่พบน้ำตาลในปัสสาวะก็ได้ เช่นคนสูงอายุ ผู้ป่วยโรคไต

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชาลินี มนต์เสรีนุสรณ์ (2552) เปรียบเทียบระดับน้ำตาลในเลือดของทารกแรกเกิดที่ได้จากการตรวจด้วยเครื่องตรวจระดับน้ำตาล 3 ชนิด คือ แอคคิว-เช็ค เพอร์ฟอร์มา, เมดดิเซฟมินิ, สแตตสตริพ เปรียบเทียบกับการตรวจพาสมากลูโคสด้วยวิธีเฮกโซไคเนส ที่เป็นวิธีมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่า จากการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด 105 ครั้ง ด้วยเครื่องตรวจระดับน้ำตาล 3 ชนิด พบว่า เครื่องมือทั้ง 3 ชนิด มีความไวในการอ่านค่าลดลงเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่า 60 มก/ดล โดยที่ เมดดิเซฟมินิ, สแตตสตริพ และ แอคคิว-เช็ค เพอร์ฟอร์มา มีค่าความไวร้อยละ 95.89, 91.67, และ 78.43 ตามลำดับ และมีความจำเพาะร้อยละ 61.29, 87.10 และ 96.67 ตามลำดับ ที่ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่า 60 มก/ดล จึงสรุปได้ว่า ความถูกต้องของการอ่านค่าระดับน้ำตาลในเลือดเมื่อใช้เครื่องตรวจระดับน้ำตาลลดลงเมื่อระดับน้ำตาลต่ำกว่า 60 มก/ดล. เครื่อง เมดดิเซฟมินิมีความไวสูงกว่า แต่มีความจำเพาะต่ำกว่าในการวินิจฉัยภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องมือชนิดอื่น

เทพสรรค์ ศรีอร่ามรุ่งเรือง และเสวต ศรีสว่าง (2546) ทำการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดของเครื่องมือ แอคแวนเทค โดยเปรียบเทียบกับเครื่อง โคบาสมิรา โดยสิ่งส่งตรวจที่ใช้สำหรับเครื่อง แอคแวนเทค คือ เลือดรวมจากปลายนิ้ว และจากหลอดเลือดดำ ส่วนเครื่อง โคบาสมิรา ใช้พาสมา ตามหลัก การของการทดสอบ วิธีการศึกษาคือ เก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มารับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลขอนแก่น ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง กรกฎาคม 2543 จำนวน 120 ตัวอย่าง มาทำการตรวจวิเคราะห์ค่าน้ำตาลในเลือด ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือดจากปลายนิ้วและหลอดเลือดดำโดยเครื่อง แอคแวนเทค คือ 169.72 และ 166.74 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในขณะที่ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดโดยเครื่อง โคบาสมิรา คือ 187.65 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) แต่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงมีค่า $r = 0.965$ และ 0.968 ส่วนสมการถดถอยเชิงเส้นตรงเพื่อประมาณค่าระดับน้ำตาลในเลือดคือ $Y= 1.173 X– 11.382$ และ $Y =1.180X – 9.162$ ตามลำดับ

พณพัฒณ์ โตเจริญวาณิชและพรหมศิริ อำไพ (2548) ได้ทำการศึกษาในผู้มีสุขภาพแข็งแรงร้อยละ 8.3 ผู้ที่เจ็บป่วยเฉียบพลันร้อยละ 2.1 และผู้ป่วยโรคเรื้อรังร้อยละ 89.6 ในจำนวนนี้ร้อยละ 99.3 งดรับประทานอาหารมาก่อนทำการเก็บเลือดอย่างน้อย 8 ชั่วโมง และทั้งหมดมีค่าระดับน้ำตาลในพลาสมาอยู่ในช่วง 68-360 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จากการศึกษาพบว่าค่าระดับน้ำตาลที่ตรวจด้วยกลูโคมิเตอร์ โดยวิธีใช้เลือดจากหลอดเลือดดำและใช้เลือดจากปลายนิ้วมีความสัมพันธ์กับค่าระดับน้ำตาลในพลาสมา (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.975 และ 0.981 ตามลำดับ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

และมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในพลาสมาเท่ากับร้อยละ 7.3 และ 5.2 ตามลำดับ หากใช้ค่าระดับน้ำตาลที่ตรวจได้จากกลูโคมิเตอร์ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 116 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร เพื่อคัดกรองโรคเบาหวาน จะได้ความไว และความจำเพาะ เท่ากับร้อยละ 94.2 และ91.3 โดยวิธีตรวจที่ใช้เลือดจากหลอดเลือดดำ ส่วนวิธีตรวจที่ใช้เลือดจากปลายนิ้วจะมีค่าความไว และความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 94.2 และ 90.2 สำหรับการประเมินความแม่นยำโดยใช้ ตารางวิเคราะห์ความผิดพลาด (Error grid analysis) พบว่าร้อยละ 99.3 ของค่าระดับน้ำตาลที่ตรวจโดยวิธีใช้เลือดจากหลอดเลือดดำอยู่ในโซน เอ และ บี มีเพียงร้อยละ 0.7 ที่อยู่ในเขตด้านซ้ายของโซนดีส่วนค่าระดับน้ำตาลที่ตรวจโดยวิธีใช้เลือดจากปลายนิ้ว พบว่าร้อยละ 100 อยู่ในโซน เอ และ บี จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Multivariate พบว่าหากระดับน้ำตาลในพลาสมามากกว่า 180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะทำให้โอกาสที่ค่าระดับน้ำตาลที่ตรวจได้จากกลูโคมิเตอร์ โดยวิธีใช้เลือดจากหลอดเลือดดำและใช้เลือดจากปลายนิ้ว ผิดพลาดเพิ่มเป็น 4 เท่า (OR 3.93, 95% CI 1.15-13.45) และ 3 เท่า (OR 3.09, 95% CI 1.03-9.50) ของค่าระดับน้ำตาลในพลาสมาที่อยู่ในช่วง 80-180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ

สถาบันวิจัยและประเมินเทคโนโลยีทางการแพทย์ กรมการแพทย์ (2551) ทำการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ของระดับน้ำตาลในเลือดระหว่างน้ำตาลกลูโคสจากเส้นเลือดฝอย จากเครื่องตรวจน้ำตาลขนาดเล็กชนิดพกพาหรือ กลูโคมิเตอร์ 5 ยี่ห้อ ที่นิยมใช้ในสถานบริการสุขภาพ และ ฟาสติ้ง บลัด ซูการ์ ที่เจาะจากเส้นเลือดดำที่ส่งตรวจทางห้องตรวจปฏิบัติการกลางที่ได้รับการควบคุมคุณภาพด้วยวิธีมาตรฐานของสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย การศึกษาวิจัยนี้เป็นการ ศึกษาวิจัยแบบภาคตัดขวาง (Cross-sectional study) โดยศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เข้ารับการรักษาที่คลินิก เบาหวานที่โรงพยาบาลเลิดสิน และโรงพยาบาลนพรัตนราชธานี จำนวน 146 ราย ซึ่งจะได้รับการเลือด จากแขนและปลายนิ้ว เพื่อตรวจหาค่าระดับน้ำตาลในเลือดด้วยกลูโคมิเตอร์ 5 ยี่ห้อ และนำผลที่ได้ไป เปรียบเทียบกับค่าระดับน้ำตาลในพลาสมา ผลการศึกษาพบว่าเครื่องตรวจน้ำตาลขนาดเล็กชนิดพกพา ทั้ง 5 ยี่ห้อ เมื่อเทียบกับการตรวจน้ำตาลในพลาสมาที่ได้จากหลอดเลือดดำในห้อง ปฏิบัติการมาตรฐาน เป็น 0.960, 0.958, 0.942, 0.943 และ 0.917 ตามลำดับ โดยมี $p< 0.001$ สรุปและข้อเสนอแนะ ค่าระดับ น้ำตาลในเลือดที่ตรวจด้วยกลูโคมิเตอร์ทั้ง 5 ยี่ห้อที่นิยมใช้ในสถานบริการสุขภาพ ให้ผลใกล้เคียงกับการ ตรวจน้ำตาลในพลาสมาจากหลอดเลือดดำที่ตรวจในห้องปฏิบัติการมาตรฐาน จึงสามารถใช้ทดแทนการ ตรวจระดับน้ำตาลในพลาสมาด้วยวิธีมาตรฐานได้ แต่อาจมีข้อจำกัดในกรณีที่ระดับน้ำตาลในพลาสมามาก กว่า 180 มก./ดล.

Nimalie Jacintha Perera (2553) ทำการศึกษากลุ่มตัวอย่างผู้หญิงที่เป็นเบาหวาน 102 ราย เกือบทั้งหมดเป็นเบาหวานที่พบในผู้หญิงตั้งครรภ์ (Gestational diabetes) เปรียบเทียบผ่านเครื่องตรวจ 6 ชนิดเทียบกับการตรวจจากห้องปฏิบัติการมาตรฐาน (Lab test) ผลการศึกษาพบว่า

ระดับน้ำตาลในพลาสมา กลูโคสมีค่าอยู่ในช่วง 2.2 – 9.4 มิลลิโมลต่อลิตร ฮีโมโกลบินเอวันซีมีค่าเฉลี่ย 5.5% ± 0.56 (SD) ค่าความแตกต่างของระดับน้ำตาลในเลือดที่ตรวจด้วยเครื่องตรวจชนิดพกพาเทียบกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีค่าอยู่ในช่วง 0.232 ± 0.69 to 0.725 ± 0.62 มิลลิโมลต่อลิตร โดยเครื่องตรวจระดับน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา มีความผิดพลาด 6.1 – 15.8 % ของห้องปฏิบัติการมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University