

การเปรียบเทียบผลการตรวจวัดปริมาณ HbA1c โดยใช้หลอดเก็บเลือด Lithium Heparin กับ K₃EDTA ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ HPLC Analyzer Premier Hb9210

วีระยุทธ บุปผามาศ¹ และพัฒนพงศ์ ชูส่งแสง^{2*}

¹หน่วยเคมีคลินิก โรงพยาบาลสตูล อำเภอเมือง จังหวัดสตูล ประเทศไทย 91000

²สาขาวิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ประเทศไทย 90110

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail: cphattanapong@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการใช้หลอดเก็บเลือดหลอดเลือดเดียว สำหรับการตรวจ HbA1c และ Glucose ในเครือข่ายการดูแลผู้ป่วยกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) ของ โรงพยาบาลสตูล เพื่อลดต้นทุนและความไม่สะดวกของผู้ป่วย ปัจจุบันใช้หลอดเก็บเลือด Lithium Heparin (LH) สำหรับตรวจ Glucose ส่วนหลอดเก็บเลือด K₃EDTA สำหรับตรวจ HbA1c วิธีการศึกษา โดยเปรียบเทียบผลการตรวจ HbA1c จากหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA โดยใช้เครื่อง HPLC Analyzer Premier Hb9210 วิเคราะห์ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยเบาหวานที่เหลือจากงานประจำ จำนวน 400 ตัวอย่าง (ช่วงค่า HbA1c: 4.1 – 18.5%) ผลการศึกษาพบว่า ค่าผลการตรวจวัดปริมาณ HbA1c จากหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p = 0.000$) แต่พบค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน (Mean = 7.66, S.D. = 2.17 และ Mean = 7.64, S.D. = 2.17 ตามลำดับ) การวิเคราะห์ Bland-Altman และความแตกต่างของค่า Allowable Total Error (ATE) ($\pm 8\%$) พบว่าค่าความแตกต่างอยู่ในช่วงเกณฑ์ที่กำหนดร้อยละ 99.5 การวิเคราะห์ ความสัมพันธ์ด้วย Linear Regression พบว่ามีความสัมพันธ์กันสูง ($r = 0.998$) ผลการศึกษานี้ สรุปได้ว่า หลอดเก็บเลือด LH สามารถใช้แทนหลอดเก็บเลือด K₃EDTA ในการตรวจ HbA1c ได้ ซึ่งช่วยเพิ่มความ สะดวก ลดการเจาะเลือดซ้ำซ้อน และลดต้นทุนของโรงพยาบาล

คำสำคัญ : หลอดเก็บเลือด, หลอดเก็บเลือด K₃EDTA, หลอดเก็บเลือด Lithium Heparin, ฮีโมโกลบินเอวันซี, โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

A Comparative Study of HbA1c Measurements Using Lithium Heparin and K₃EDTA Blood Collection Tubes Analyzed by HPLC Premier Hb9210

Weerayut Bubpamas¹ and Phattanapong Choosongsang^{2*}

¹Clinical Chemistry unit, Satun Hospital, Mueang Satun District, Satun Province, Thailand 91000

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla Province, Thailand 90110

*Corresponding author E-mail: cphattanapong@gmail.com

Abstract

This study aimed to assess the feasibility of using a single blood collection tube for both HbA1c and glucose testing in Satun Hospital's NCDs care network to reduce costs and patient discomfort. Currently, Lithium heparin (LH) blood collection tubes are used for glucose, while K₃EDTA blood collection tubes are used for HbA1c. The study compared HbA1c results from LH and K₃EDTA blood collection tubes using the HPLC Analyzer Premier Hb9210. A total of 400 leftover routine blood samples from patients with diabetes (HbA1c range: 4.1–18.5%) were analyzed using the HPLC Analyzer Premier Hb9210. Results showed a statistically significant difference in HbA1c values between LH and K₃EDTA blood collection tubes ($p = 0.000$), although the means were similar (Mean = 7.66, S.D. = 2.17 and Mean = 7.64, S.D. = 2.17, respectively). Bland-Altman analysis and Allowable Total Error (ATE) ($\pm 8\%$) revealed that 99.5% of values fell within acceptable limits. A strong correlation was observed using linear regression analysis ($r = 0.998$). The findings suggest that LH blood collection tubes can be reliably used for HbA1c testing, potentially eliminating the need for multiple blood draws and reducing hospital costs.

Keywords: Blood collection tube, K₃EDTA blood collection tube, Lithium Heparin blood collection tube, HbA1c, HPLC

บทนำ (Introduction)

โรงพยาบาลสตูลเป็นผู้ให้บริการผู้ป่วยกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-Communicable Disease, NCDs) ทั้งยังให้บริการผู้ป่วยของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลในจังหวัดสตูล ซึ่งจะมีการเจาะเก็บเลือดของผู้ป่วยมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและตรวจติดตามอาการ หลอดเลือดที่ใช้ในการจัดเก็บเลือดปัจจุบัน คือหลอดชนิดลิเทียมเฮปาริน (Lithium Heparin, LH) ใช้ตรวจการทดสอบทางเคมีคลินิกทั่วไป และระดับน้ำตาลกลูโคส และใช้หลอดชนิดไตรโปแตสเซียมเอทิลีนไดเอมีนเตตราอะซิเตต (Tripotassium Ethylenediamine tetraacetate, K_3EDTA) ในการตรวจระดับน้ำตาลสะสมในเลือด (HbA1c) ซึ่งเป็นการตรวจติดตามผู้ป่วยเบาหวาน โดยแพทย์ใช้ติดตามระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดในช่วง 2 - 3 เดือนที่ผ่านมา หากผู้ป่วยไม่ได้ควบคุมโรคและดูแลสุขภาพอย่างถูกต้อง จะมีความเสี่ยงในการเกิดโรคแทรกซ้อนได้ (Pongruea & Teerajetgul, 2021; Choosongsang et al., 2023) การเจาะเลือดติดตามผลเบาหวานทุก 3 - 6 เดือน ระดับของ HbA1c มีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับน้ำตาลในเลือด โดยพบว่าระดับของ HbA1c จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 1 เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้น 35 mg/dL (2 mmol/L) (Rohlfing et al., 2002) หลักการตรวจ HbA1c ที่ใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันมี 5 หลักการ ได้แก่ 1) หลักการ Immunoassay และ 2) หลักการ Enzymatic Assay ข้อดีคือ เป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก เหมาะกับห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก (Weykamp, 2013) ข้อจำกัดคือ ไม่สามารถแยก Hemoglobin Variants ได้ 3) หลักการ Boronate Affinity ข้อดีคือ มีความจำเพาะต่อ Glycated Hemoglobin (Gupta et al., 2017) ข้อจำกัดคือ การบำรุงรักษาต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญ (Weykamp, 2013) 4) หลักการ Capillary Electrophoresis (CE) ข้อดีคือ สามารถแยก Hemoglobin Variants ได้ มีความทนทานต่อระดับ HbF ที่สูง (National Glycohemoglobin Standardization Program, 2024) ข้อจำกัดคือ ต้องมีความชำนาญในการอ่านผล และไม่สามารถรายงานผลกลุ่ม HbH Disease, Beta⁰-Thalassemia/HbE และพาหะชนิด Homozygous HbE ได้ (Choosongsang et al., 2023) และ 5) หลักการ Ion Exchange HPLC ข้อดีคือ สามารถแยก Hemoglobin Variants ได้บางชนิด ความแม่นยำสูงและเป็นมาตรฐานอ้างอิง (Weykamp, 2013) ข้อจำกัดคือ Hemoglobin Variants บางชนิดรบกวนการอ่านผล ทำให้ค่าคลาดเคลื่อน (Li et al., 2018)

ทั้งนี้หลักการในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีแนวคิดว่าหากผลการวิจัยพบความสัมพันธ์กันระหว่างค่าที่ตรวจวิเคราะห์ HbA1c จากหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K_3EDTA ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ HPLC Analyzer Premier Hb9210 ที่สามารถใช้หลอดเก็บเลือด LH ในการตรวจทั้ง HbA1c น้ำตาลกลูโคส และตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกทั่วไปได้ในหลอดเดียวกัน จะเป็นประโยชน์โดยสามารถช่วยให้ห้องปฏิบัติการบรรลุ

วัตถุประสงค์การพัฒนาเทคนิคหรือวิธีการที่มีความรวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์ได้เร็วขึ้น ลดต้นทุนการซื้อหลอดเก็บเลือด และช่วยแก้ปัญหาหระยาวยาว ในกรณีที่เจ้าหน้าที่เจาะเลือดในโรงพยาบาลหรือโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลมีเจาะเลือดใส่ในหลอด K_3EDTA ทำให้ไม่ต้องเจาะเลือดผู้ป่วยซ้ำ ซึ่งอาจก่อให้เกิดความกดดันและผลกระทบต่อผู้ป่วยหรือผู้มารับบริการ อีกทั้งเสี่ยงปริมาณในการขนส่งตัวอย่างตรวจมาที่โรงพยาบาลสตูลช้าซ้อน และยังถือเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการบริการของห้องปฏิบัติการ

วัตถุประสงค์วิจัย (Objectives)

เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ HbA1c จากตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K_3EDTA ด้วยวิธี HPLC ในกลุ่มผู้ป่วยโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) โรงพยาบาลสตูล

กรอบแนวคิดการวิจัย (Conceptual Framework)



ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

รูปแบบการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองและเปรียบเทียบ (Experimental and Comparative Study) เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง (Population and Sample)

ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยโรคเบาหวานรายเดียวกันที่เจาะใส่ในหลอดเก็บเลือด LH ที่มีรายการตรวจทางเคมีคลินิก และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA มีรายการส่งตรวจ HbA_{1c} โดยคำนวณตัวอย่างจากความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่าง 2 กลุ่ม (Difference Between Two Independent Means) (MedCalc Software Ltd, 2025) จำนวน 400 ตัวอย่าง โดยแยกวิเคราะห์ข้อมูลตามระดับการควบคุมโรคเบาหวานเป็น 2 กลุ่ม คือ ควบคุมโรคไม่ดี HbA_{1c} > ร้อยละ 7.0 จำนวน 221 ตัวอย่าง และควบคุมโรคดี $\leq$ ร้อยละ 7.0 จำนวน 179 ตัวอย่าง (American Diabetes Association, 2025; Sriwimol et al., 2022)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย (Research Instruments)

1. เครื่อง HPLC Analyzer Premier Hb9210 ที่ใช้หลักการของ HPLC ตามมาตรฐาน IFCC และ NGSP ในการแยกและวิเคราะห์ปริมาณ HbA_{1c} โดยอาศัยการแยกชนิดของฮีโมโกลบินตามคุณสมบัติทางเคมี
2. หลอดเก็บเลือดชนิด LH ที่มี Lithium Heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ยี่ห้อ Innomed ที่สามารถตรวจ Glucose กับการทดสอบสารเคมีอื่นๆ ทางเคมีคลินิก (Moonla et al., 2025)
3. หลอดเก็บเลือดชนิด K₃EDTA ที่มี K₃EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ยี่ห้อ Meditube
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนยี่ห้อ Kokusan H-19

การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือวิจัย (Validation of Instruments)

การควบคุมคุณภาพเครื่อง HPLC Analyzer Premier Hb9210 สำหรับตรวจ HbA_{1c} โดยสารทดสอบควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Control Material) 2 ระดับของบริษัท Trinity Biotech ผลิตเมื่อวันที่ 07 สิงหาคม 2567 หมดอายุ วันที่ 31 สิงหาคม 2568 ระดับปกติ Control 1 Lot 15211 และระดับผิดปกติ Control 2 Lot 15212 ค่าที่ได้ต้องอยู่ในช่วงเกณฑ์ที่กำหนด และค่า Coefficient of Variation (%CV) ต้องน้อยกว่า 1 ใน 3 ของ Allowable Total Error (ATE) ของการทดสอบ HbA_{1c} (8%) (Westgard, 2025) พบว่าค่า %CV สารควบคุมคุณภาพ Control 1 Lot 15211 เฉลี่ยเท่ากับ 0.52 สารควบคุมคุณภาพ Control 2 Lot 15212 เท่ากับ 0.49 น้อยกว่าร้อยละ 2.67 (ATE = 8, ATE/3 = 2.67) ค่าของสารควบคุมคุณภาพมีความแม่นยำดีทั้ง 2 ระดับ

การเก็บรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

นำหลอดเก็บเลือด LH ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบ/นาที่ นาน 5 นาที แล้วตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกตามปกติ หลังจากตรวจวิเคราะห์แล้วนำหลอดเก็บเลือดมา ปิดจุกและทำการผสมให้เข้ากันก่อนนำไปตรวจหาปริมาณ HbA1c ส่วนหลอดเก็บเลือด K₃EDTA ไม่ต้อง นำไปปั่นเหวี่ยง จากนั้นนำหลอดทั้งสองชนิดมาตรวจหาปริมาณ HbA1c ภายในระยะเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากเจาะเลือด บันทึกข้อมูลของผลการตรวจวัดค่า HbA1c จากหลอดเก็บเลือด LH และ K₃EDTA

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลทั้งหมดโดยใช้ Kolmogorov-Smirnov test และเปรียบเทียบ ความแตกต่างผลของการตรวจ HbA1c ด้วยหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA ใช้การ ทดสอบทางสถิติ paired t-test (Normal Distribution), Mann-Whitney U test (Non Normal Distribution) และค่าความแตกต่างทางคลินิกไม่เกิน Allowable Total Error (HbA1c = 8%) (Westgard, 2025) และความแตกต่างเพื่อดูความสอดคล้อง Bland-Altman Analysis และหาค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์โดยใช้สถิติ Linear Regression Analysis (r) โดยมีเกณฑ์ที่ CLSI EP09-A2 กำหนดไว้ ($r \geq 0.975$ หรือ $r^2 \geq 0.95$) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018)

จริยธรรมการวิจัย (Research Ethics)

ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จังหวัดสตูล รหัสจริยธรรมเลขที่ ET-ST 30/2567 อนุมัติวันที่ 21 พฤศจิกายน พ.ศ. 2567

ผลการศึกษา (Results)

1. ผลการเปรียบเทียบปริมาณ HbA1c จากตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA ด้วยวิธี HPLC

ตัวอย่างทั้งหมด 400 ตัวอย่าง มีช่วงค่าที่ทำการศึกษานี้ต่ำสุดร้อยละ 4.1 สูงสุดร้อยละ 18.5 โดยแยกเป็น 2 กลุ่มของการควบคุมเบาหวานคือควบคุมไม่ดี HbA1c > ร้อยละ 7.0 จำนวน 221 ตัวอย่าง และควบคุมดี $\leq$ ร้อยละ 7.0 จำนวน 179 ตัวอย่าง ผลการตรวจปริมาณ HbA1c จากหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA กลุ่มควบคุมโรคไม่ดีพบค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.98 และ 8.95 ตามลำดับ (Mean = 8.98, S.D. = 2.13 และ Mean = 8.95, S.D. = 2.15 ตามลำดับ) กลุ่มควบคุมโรคดีพบค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.06 และ 6.03 ตามลำดับ (Mean = 6.06, S.D. = 0.42 และ Mean = 6.03, S.D. = 0.42 ตามลำดับ) (ตาราง

ที่ 1) เมื่อนำมาทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้ Kolmogorov-Smirnov test ของตัวอย่างทั้งหมด และกลุ่มควบคุมโรคไม่ดี มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ($p = 0.000$) แต่ตัวอย่างกลุ่มควบคุมโรคดี มีการกระจายตัวแบบปกติ ($p = 0.062$) เมื่อวิเคราะห์ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA เมื่อทดสอบทางสถิติของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดและกลุ่มควบคุมโรคไม่ดี มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p = 0.000$) และกลุ่มควบคุมโรคดี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p = 0.497$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่า HbA1c ของหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA

Parameter	HbA1c (%)					
	ทั้งหมด (n = 400)		กลุ่มควบคุมโรคไม่ดี (n = 221)		กลุ่มควบคุมโรคดี (n = 179)	
			LH	K ₃ EDTA	LH	K ₃ EDTA
Mean	7.66	7.64	8.98	8.95	6.06	6.03
SD	2.17	2.17	2.13	2.15	0.42	0.42
Min	4.1	5.0	7.1	7.1	4.9	5.0
Max	18.5	18.5	18.5	18.5	7.0	6.9
Kolmogorov-Smirnov test (p - value)	0.000		0.000		0.062	
Mann-Whitney U test (p - value)	0.000		0.000		-	
paired t-test (p - value)	-		-		0.497	

2. การวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่า HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA

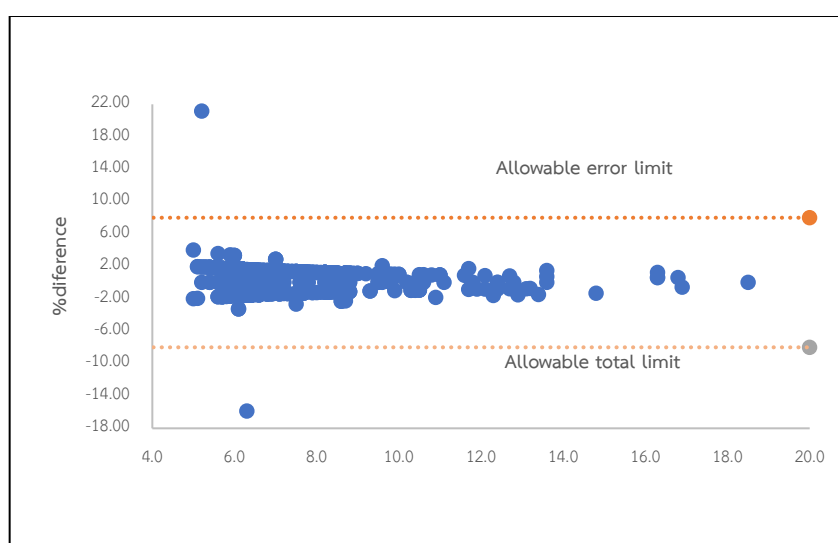
2.1 วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางคลินิกโดยใช้เกณฑ์ค่าไม่เกิน Allowable Total Error ของการทดสอบคือไม่เกิน $\pm$ ร้อยละ 8 โดยจำกัดค่าของความสอดคล้อง (Limit of Agreement) ที่ร้อยละ 95 พบความแตกต่างของทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.45 (Mean = 0.45, S.D. = 1.88) และพบว่า 398 ตัวอย่าง จาก 400 ตัวอย่าง มีความแตกต่างอยู่ในช่วง $\pm$ 8 % คิดเป็นร้อยละ 99.5 มี 2 ค่า ในกลุ่มควบคุมโรคดี เกินร้อยละ 8 เกิน Allowable Total Error ที่กำหนดคิดเป็นร้อยละ 0.5 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1)

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละของความแตกต่างของค่า HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และ K₃EDTA

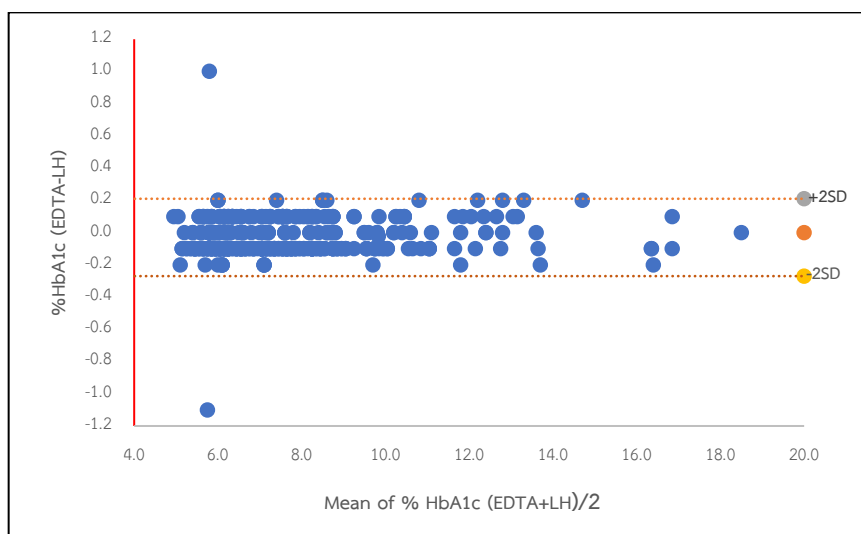
Parameter	ร้อยละความแตกต่าง*		
	ทั้งหมด (n = 400)	กลุ่มควบคุมโรคไม่ดี (n = 221)	กลุ่มควบคุมโรคดี (n = 179)
Mean	0.45	0.35	0.55
S.D.	1.88	1.15	2.49
Min	-15.87	-2.67	-15.87
Max	21.15	2.86	21.15

*% Difference = {(HbA1c of LH - % HbA1c of K₃EDTA) / % HbA1c of K₃EDTA} X 100

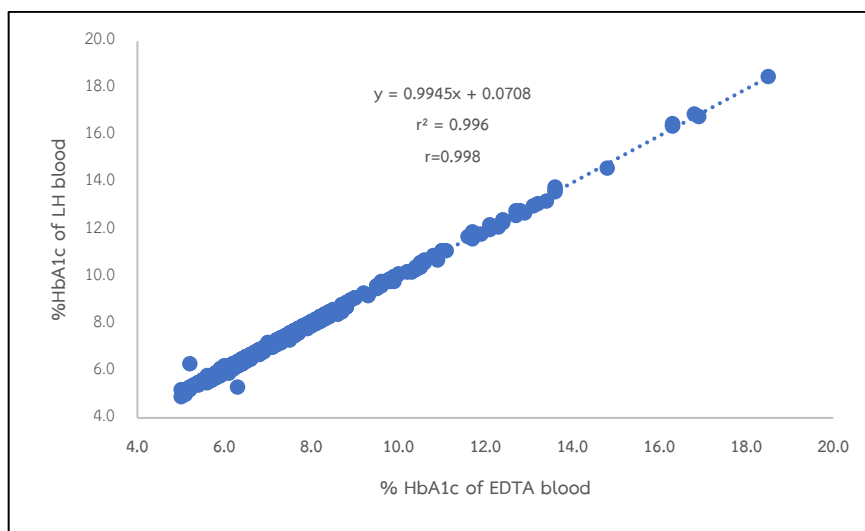
2.2 วิเคราะห์ความแตกต่างเพื่อดูความสอดคล้องโดยใช้ Bland-Altman Analysis โดยจำกัดค่าของความสอดคล้อง (Limit of Agreement) ที่ร้อยละ 95 พบว่า 398 ตัวอย่าง จาก 400 ตัวอย่าง มีความแตกต่างอยู่ในช่วง ± 2 S.D. คิดเป็นร้อยละ 99.5 พบตัวอย่างเกิน 2 ตัวอย่าง เป็นช่วงค่าที่ควบคุมโรคดีทั้ง 2 ค่า คิดเป็นร้อยละ 0.5 และกลุ่มควบคุมโรคไม่ดีค่าอยู่ในช่วง ± 2 S.D. ทั้งหมด (ภาพที่ 2) สำหรับผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์และสมการถดถอยโดย Linear Regression พบตัวอย่างทั้งหมดมีความสัมพันธ์กันสูง ($r = 0.998$) สมการถดถอยเท่ากับ $y = 0.9945x + 0.0708$ (ภาพที่ 3) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์แยกตามกลุ่มควบคุมโรคไม่ดีและกลุ่มควบคุมโรคดี ระหว่างหลอดเลือดทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์กันสูงทั้ง 2 กลุ่ม ($r = 0.998$ และ $r = 0.941$) สมการถดถอยเท่ากับ $y = 0.9932x + 0.0881$ และ $y = 0.9309x + 0.4478$ ตามลำดับ (ภาพที่ 4-5)



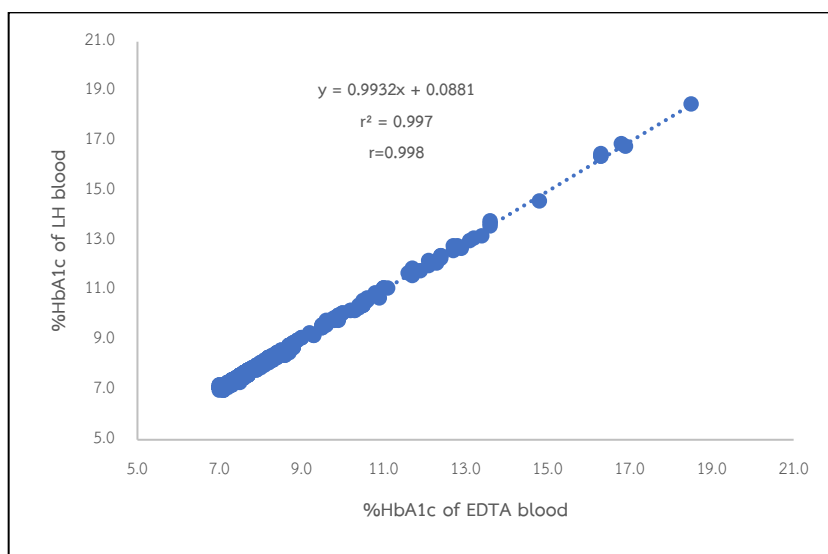
ภาพที่ 1 ค่าร้อยละของความแตกต่าง (% Difference) ของ HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA (n = 400)



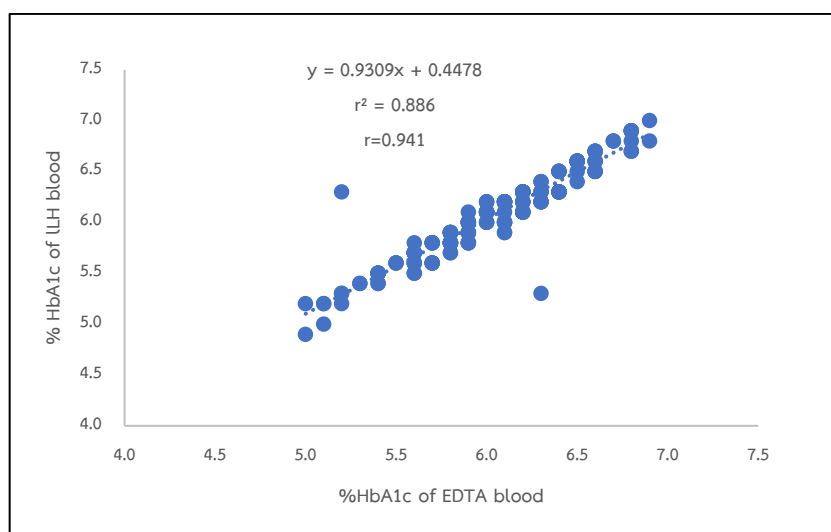
ภาพที่ 2 ความแตกต่างแบบ Bland-Altman Plot ของค่า HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA (n = 400)



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่า HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA (n = 400)



ภาพที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่า HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA (กลุ่มควบคุมโรคไม่ตี, n = 221)



ภาพที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่า HbA1c ระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA (กลุ่มควบคุมโรคตี, n = 179)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย (Discussion and Conclusion)

การศึกษาครั้งนี้ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรงพยาบาลสตูล เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจ HbA1c จากระหว่างหลอดเก็บเลือด LH และหลอดเก็บเลือด K₃EDTA เมื่อทดสอบความแตกต่างกันทางสถิติ พบความแตกต่างกันทางสถิติในตัวอย่างทั้งหมดและกลุ่มควบคุมโรคตี แต่กลุ่มควบคุมโรคไม่ตี ไม่พบความแตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Bland-Altman Analysis มีค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์

ร้อยละ 99.5 ความแตกต่างทางคลินิกอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (Allowable Total Error) ของ CLIA 2025 (Westgard, 2025) คือ $\pm$ ร้อยละ 8 ค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์ร้อยละ 99.5 และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ Linear Regression พบตัวอย่างทั้งหมด 400 ตัวอย่าง มีความสัมพันธ์สูง ($r = 0.998$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pongrua and Teerajet (2021) ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในหลอดเก็บเลือด EDTA และ LH ตรวจวัดโดยวิธี Boronate Affinity Chromatography พบค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์ร้อยละ 96.7 เมื่อใช้ Bland-Altman Analysis และมีความสัมพันธ์สูง และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chakraborty et al. (2014) ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในหลอดเก็บเลือด EDTA กับหลอดเก็บเลือด NaF ด้วยหลักการ HPLC พบว่า ค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันสูง สามารถใช้หลอด NaF แทนกันได้ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Boonlert et al. (2010) ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในหลอดเก็บเลือด EDTA กับหลอดเก็บเลือด LH และ NaF ด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay (TINIA) และหลักการ HPLC พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีความสัมพันธ์สูงทั้ง 2 หลักการ สามารถตรวจค่า HbA1c กับหลอดเก็บเลือด LH และ NaF ได้เช่นเดียวกัน

งานวิจัยที่ศึกษาทั้งชนิดของหลอดเก็บเลือดและระยะเวลาการจัดเก็บเลือด ได้แก่การศึกษาของ Allison and Stephen (2019) ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในหลอดเก็บเลือด EDTA กับ LH และ NaF ตรวจวัดโดยวิธี Boronate Affinity Chromatography จำนวนตัวอย่าง 30 ตัวอย่าง พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และสามารถเก็บไว้ได้นาน 3 วัน เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C และการศึกษาของ Sarmah and Sharma (2013) ได้ศึกษาเปรียบเทียบ HbA1c ในหลอดเก็บเลือด EDTA กับ LH, Na-Citrate และ NaF ด้วยหลักการ HPLC จำนวน 50 ตัวอย่าง พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติและสามารถเก็บไว้ได้นาน 7 วัน เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ซึ่งการจัดเก็บก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งของการตรวจวัดค่า HbA1c นอกจากนี้การศึกษาของ Koga et al. (2020) ได้เปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ระหว่างตรวจทันทีและตรวจซ้ำอีกครั้งหลังจากทิ้งไว้ 1 วัน ระหว่างการใช้หลักการ HPLC กับ Enzymatic Assay พบว่าผลการตรวจทันทีไม่แตกต่างกันทั้ง 2 หลักการ แต่หลังจากทิ้งไว้มาตรวจซ้ำอีก 1 วัน พบว่าหลักการ Enzymatic Assay ค่า HbA1c ต่ำกว่าหลักการ HPLC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเกิดจากการแตกของเม็ดเลือดแดง

จากการศึกษาที่ได้กล่าวมาข้างต้น สามารถใช้หลอดเก็บเลือดชนิด NaF หรือ LH ทดแทนได้ในกรณีไม่ได้เจาะเลือดใส่หลอดเก็บเลือด EDTA ผู้ป่วยเจาะเลือดยาก ปริมาณน้อยไม่เพียงพอ และก่อนนำไปเข้าเครื่องตรวจควร Mix แบบ Invert เพื่อให้สิ่งส่งตรวจเป็น Whole Blood ช่วยให้ผู้รับบริการลดความเสี่ยงของขั้นตอนและเวลาในการเจาะเลือดซ้ำ จากข้อมูลของ National Glycohemoglobin

Standardization (NGSP, 2024) การตรวจวิเคราะห์ HbA1c แต่ละหลักการมีข้อจำกัดและการรบกวนของ Hb ผิดปกติแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นกับชนิดและปริมาณ ห้องปฏิบัติการควรคำนึงถึงข้อจำกัดของการตรวจวัดในแต่ละหลักการและรายงานผลแจ้งแพทย์เพื่อให้สามารถนำผลการตรวจวิเคราะห์ HbA1c มาวินิจฉัยและตรวจติดตามได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และมีประสิทธิภาพ และจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสามารถใช้หลอดเก็บเลือด LH ตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ HPLC ได้

References

- Allison, F. I., & Stephen, D. U. (2019). Effect of different anti-coagulants on the accuracy of glycated hemoglobin results. *Asian Journal of Medicine and Health*, 16(4), 1–5.
<https://doi.org/10.9734/ajmah/2019/v16i430152>
- American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2025). Standards of care in diabetes—2025. *Diabetes Care*, 48(Suppl. 1), S1–S200.
<https://doi.org/10.2337/dc25-SINT>
- Boonlert, W., Narakantha, P., Onseng, S., Yamphochai, S., Nuanmuang, N., & Moophrasit, K. (2010). Hemoglobin A1c levels obtained from EDTA, lithium heparin, lithium heparin plus glyceraldehydes, and sodium fluoride blood samples. *Songklanagarind Medical Journal*, 28(3), 107–116.
<https://medinfo.psu.ac.th/smj2/28-3/08-content-e.pdf> (In Thai)
- Chakraborty, S., Ghosh, S. S., Das, A., Sawant, P., & Kallner, A. (2014). Can EDTA, EDTA-fluoride, and buffered citrate tubes be used for measurement of HbA1c on the Bio-Rad D10? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 52(12), 1698–1702.
<https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0644>
- Choosongsang, P., Muenniam, B., Choosongsang, P., Petkliang, W., & Sriwimol, W. (2023). Frequency of hemoglobinopathies reported with HbA1c results in diabetic patients in Songklanagarind Hospital. *Journal of the Medical Technologist Association of Thailand*, 51(1), 8434–8442. <https://fliphtml5.com/bookcase/lvoga> (In Thai)
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples (3rd ed., CLSI guideline EP09c). Clinical and Laboratory Standards Institute.

<https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep09/>

Koga, M., Okumiya, T., & Ishibashi, M. (2020). Sample transport and/or storage can cause falsely low HbA1c levels in blood cells measured by enzymatic assay. *Diabetology International*, 11, 155–157. <https://doi.org/10.1007/s13340-019-00416-7>

MedCalc Software Ltd. (2025). *Sample size calculation: Comparison of two means*. MedCalc Statistical Software.

<https://www.medcalc.org/manual/sample-size-comparison-of-means.php>

Moonla, K., Wiriyaprasit, R., Apiratmateekul, N., Tran, N. K., & Treebuphachatsakul, W. (2025). Novel blood collection tubes improve sample preservation in a multicenter study in Thailand. *Diagnostics*, 15(18), 2398.

<https://doi.org/10.3390/diagnostics15182398>

National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). (2024). *HbA1c assay interferences*. <http://ngsp.org/interf.asp>

Pongruea, P., & Teerajetgul, Y. (2021). Versus lithium-heparinized blood determined by boronate affinity chromatography method. *Journal of Medical Technology Association of Thailand*, 49(3), 7963–7974. <https://fliphtml5.com/bookcase/lvoga> (In Thai)

Rohlfing, C. L., England, J. D., Wiedmeyer, H., Tennill, A., Little, R. R., & Goldstein, D. E. (2002). Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c: Analysis of glucose profiles and HbA1c in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care*, 25(2), 275–278. <https://doi.org/10.2337/diacare.25.2.275>

Gupta, S., Chauhan, N., & Jain, U. (2017). Laboratory diagnosis of HbA1c: A review. *Journal of Nanomedicine Research*, 5(4), 1–6. <https://medcraveonline.com/JNMR/JNMR-05-00120.pdf>

Sarmah, D., & Sharma, B. (2013). A comparative evaluation of HbA1c measurement in different anticoagulant vials and its stability on storage. *International Journal of Current Research and Review*, 5(11), 80–86. https://ijcrr.com/uploads/1322_pdf.pdf



Sriwimol, W., Choosongsang, P., Choosongsang, P., Petkliang, W., & Treerut, P. (2022).

Associations between HbA1c-derived estimated average glucose and fasting plasma glucose in patients with normal and abnormal hemoglobin patterns.

Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 82(3), 192–198.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35175156/>

Westgard, J. (2025). *2025 CLIA acceptance limits for proficiency testing*. Westgard QC.

<https://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/2024-clia-requirements.html>

Weykamp, C. (2013). HbA1c: A review of analytical and clinical aspects. *Annals of*

Laboratory Medicine, 33(6), 393-400. <https://doi.org/10.3343/alm.2013.33.6.393>.