

Comparative Study of HbA_{1c} Measurement using EDTA Blood and NaF-EDTA Blood by Automatic Analyzer Furuno CA-800

Pussadee Tobunluepop* and Praewnapa Khlaithong

*Health Care Service Center, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus,
Pathum Thani Province, Thailand*

Abstract

According to Clinical practice guideline for Diabetes (2017), analysis of hemoglobin A1c (HbA_{1c}) or glycated hemoglobin is used to assess glucose levels during the past 1-2 months, and it is recommended for diagnosis and monitoring of blood glucose level in diabetes mellitus patients. At present, HbA_{1c} analysis by HPLC, affinity chromatography, immunoassay or enzymatic assay methods uses blood sample collected in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) anticoagulant tube. However, the sample required for blood glucose testing uses sodium fluoride as anticoagulant and glycolysis inhibitor, and mostly, HbA_{1c} was requested concurrently with blood glucose. The commonly found problems were no EDTA blood sent for HbA_{1c} determination, and collecting of blood in EDTA tube added one more tube in the practice which can cause confusion, as well more amount of blood was drawn. Thus the aim of this study was to introduce the use of NaF-EDTA blood for HbA_{1c} and glucose determination in the one tube. HbA_{1c} measurement using NaF-EDTA blood samples were compared with those of EDTA blood. A total of 199 blood samples were collected from people who attended the annual checkup in both EDTA tube and NaF 3.0 mg plus Na₂EDTA 6.0 mg (NaF-EDTA) tube in the same person to analyze for HbA_{1c} by Furuno CA-800 automatic analyzer using turbidimetric immunoassay principle. The results showed the mean $\pm$ SD of HbA_{1c}, obtained from EDTA blood and NaF-EDTA blood samples which were 5.9549 ± 0.9553 (%) and 5.8567 ± 0.9519 (%) respectively. There was no significant difference between the HbA_{1c} obtained from EDTA blood and NaF-EDTA blood samples ($p > 0.05$), linear regression equation showed good correlation in which $y = 0.9854x - 0.0315$, $r = 0.9869$ ($p = 0.001$). In conclusion, HbA_{1c}

measured from NaF-EDTA blood and EDTA blood are almost equal. The NaF-EDTA blood can also be used for HbA_{1c} measurement. However, it should be further studied in samples with various HbA_{1c} levels or with different Hb variants. The evaluation of glucose level in NaF-EDTA and NaF blood is also needed

Keywords: HbA_{1c}, Diabetes mellitus, EDTA blood, NaF-EDTA blood, Turbidimetric immunoassay

การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} โดยใช้เลือดจากหลอด EDTA Blood กับ NaF-EDTA Blood โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Furuno CA-800

ผุสดี โทบ้นลือภพ* และ แพรวนภา คล้ายทอง

ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพสหเวชศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

การวินิจฉัยโรคเบาหวานด้วยการตรวจวัดระดับ hemoglobin A1c (HbA_{1c}) หรือ glycated hemoglobin ถือเป็นแนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน พ.ศ. 2560 ที่กำหนดไว้เพื่อช่วยในการประเมินระดับน้ำตาลกลูโคสย้อนหลัง 1-2 เดือน ปัจจุบันนิยมใช้หลอดเก็บเลือดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง (EDTA blood) ในการตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} และใช้หลอดที่มี NaF เป็นสารกันเลือดแข็ง (NaF blood) เพื่อตรวจหาระดับกลูโคส และส่วนใหญ่แพทย์จะสั่งตรวจ HbA_{1c} ควบคู่กับการตรวจหาระดับกลูโคส แต่ปัญหาที่พบบ่อย คือ การไม่ได้เก็บเลือดด้วยหลอด EDTA blood เพื่อส่งตรวจหาระดับ HbA_{1c} ดังนั้นหากมีการสั่งตรวจ HbA_{1c} จึงมีความจำเป็นต้องเจาะเลือดใส่ในหลอดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งเพิ่มอีกหนึ่งหลอด และต้องเจาะเลือดในปริมาณมาก ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA_{1c} ที่ใช้เลือดจากหลอด EDTA และเลือดจากหลอดที่มีส่วนผสมของ NaF กับ Na₂EDTA ปริมาณ 3.0 มิลลิกรัมและ 6.0 มิลลิกรัมในเลือดปริมาตร 2 มิลลิลิตร (NaF-EDTA) จากผู้รับบริการรายเดียวกัน จำนวน 199 ราย ที่เข้ารับการตรวจสุขภาพประจำปี ของศูนย์บริการสุขภาพคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และนำไปวิเคราะห์ระดับ HbA_{1c} ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Furuno CA-800 โดยใช้หลักการ turbidimetric immunoassay ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} ในหลอด EDTA blood และหลอด NaF-EDTA blood มีค่าเท่ากับ $5.9549 \pm 0.9553\%$ และ $5.8567 \pm 0.9519\%$ ตามลำดับ และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยค่าที่ได้จากหลอดเลือดทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์ กันดี ($r = 0.9869$) และมีสมการถดถอยเชิงเส้นตรง $y = 0.9854x - 0.0315$ ($p = 0.001$) ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าการตรวจวัด HbA_{1c} ด้วยหลอด NaF-EDTA blood ให้ผลไม่แตกต่างจากหลอด EDTA blood จึงสามารถใช้ NaF-EDTA blood สำหรับตรวจ HbA_{1c} ได้ ทั้งนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมใน ตัวอย่างที่มีระดับ HbA_{1c} หลายช่วงค่าหรือ ในกลุ่มตัวอย่างที่มี Hb variant รวมถึง การศึกษาผลการ

ตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างที่เก็บในหลอด NaF-EDTA blood เปรียบเทียบกับหลอดที่มี NaF เพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ: ฮีโมโกลบินเอวันซี โรคเบาหวาน เลือดที่มีสารกันเลือดแข็ง EDTA เลือดที่มีสารกันเลือดแข็ง NaF-EDTA การตรวจวิเคราะห์โดยใช้หลักการอิมมูโนวิทยาด้วยการวัดความขุ่น

บทนำ

โรคเบาหวานคือโรคเรื้อรังที่เป็นสาเหตุนำไปสู่ปัญหาสุขภาพต่างๆ โดยเฉพาะถ้าตรวจพบโรคช้าและควบคุมโรคได้ไม่ดี ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงอยู่นาน จะทำลายเส้นเลือดแดงฝอยขนาดเล็กในตา ไต และเส้นประสาท ซึ่งเรียกรวมเป็น โรคแทรกซ้อนต่อหลอดเลือดขนาดเล็ก (microvascular complications) นอกจากนั้นยังก่อให้เกิดผลเสียต่อหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ ทำให้หลอดเลือดแข็งตัวทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลาย ที่เรียกรวมว่า โรคแทรกซ้อนต่อหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ (macrovascular complications) ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการเกิดและการเสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดต่างๆ เหล่านี้เพิ่มขึ้น 2 เท่า นอกจากนั้นยังมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและฟัน โรคติดเชื้อ โรคมะเร็ง และโรคซึมเศร้าด้วย⁽¹⁻³⁾

การมีระดับกลูโคสสูงกว่าปกติในเลือด (hyperglycemia) เป็นตัวบ่งชี้โรคเบาหวาน อย่างไรก็ดี การตรวจระดับกลูโคสในเลือดอาจไม่เพียงพอเนื่องจากไม่สามารถบ่งบอกภาวะการควบคุมโรคเบาหวานระหว่างวันหรือระหว่างสัปดาห์ได้ และระดับน้ำตาลในเลือดของแต่ละวันแปรเปลี่ยนไปตามปัจจัยต่างๆ เช่น ปริมาณและชนิดของอาหาร การออกกำลังกาย กิจกรรมประจำวัน ฮอร์โมน ยา ตลอดจนความรุนแรงของโรคเบาหวาน จึงมีผู้นำการตรวจ HbA_{1c} หรือ glycated hemoglobin มาใช้ประโยชน์เพื่อช่วยในการวินิจฉัย ติดตามผลการรักษา หรือประเมินผลการควบคุมระดับกลูโคสในผู้ป่วยเบาหวาน⁽⁴⁾

การวินิจฉัยโรคเบาหวานด้วยการตรวจวัดระดับ hemoglobin A1c (HbA_{1c}) เป็นหนึ่งในสี่วิธีของแนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน พ.ศ. 2557 ที่กำหนดไว้ เพื่อช่วยในการวินิจฉัย ติดตามผลการรักษา หรือประเมินผลการควบคุมระดับกลูโคส

ในผู้ป่วยเบาหวานหากค่าเท่ากับหรือมากกว่า 6.5% ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน^(1, 5)

ปกติฮีโมโกลบินของผู้ใหญ่ประกอบด้วย HbA ร้อยละ 96, HbA₂ ร้อยละ 3 และ HbF ร้อยละ 1⁽⁶⁾ จากการวิเคราะห์ HbA ประกอบด้วย HbA_{1a}, HbA_{1b} และ HbA_{1c} (ร้อยละ 80 ของ HbA) หรือองค์ประกอบทั้งหมดรวมเรียกว่า HbA หรือ fast hemoglobins หรือ glycosylated hemoglobin หรือ glycohemoglobin หรือ glycated hemoglobin⁽⁷⁾ ระดับของ HbA_{1c} ทุก fractions จะสูงในผู้ป่วยเบาหวาน แต่ส่วนใหญ่จะเป็นชนิด HbA_{1c} ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไรเอนไซม์^(3, 5) (nonenzymatic reaction) เรียกว่า glycation ระหว่างกลูโคส กับส่วน N-terminal valine amino acid ของแต่ละ β -chain ของ HbA ซึ่งมีความเสถียรมาก กระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นตราบเท่าที่เม็ดเลือดแดงยังคงมีอายุอยู่ (120 วัน) การเกิด HbA_{1c} จะมีมากขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคส ในเลือดกับเวลา ดังนั้นการวัดระดับของ HbA_{1c} ในเลือดของผู้ป่วยสามารถสะท้อนให้เห็นสถานภาพการควบคุมโรคเบาหวานของผู้ป่วยตลอดช่วงระยะเวลา 2-3 เดือนที่ผ่านมา⁽⁴⁾

ในงานตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก (automated chemistry analyzer) ที่ใช้หลักการ immunoassay ในปัจจุบันมีการพัฒนาคุณภาพของ antibody ให้มีความจำเพาะต่อ HbA_{1c} และมีความแม่นยำสูง และสามารถตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ส่วนหลักการ enzymatic assays จะมีเอนไซม์ protease ย่อย N-terminal hemoglobin β -chain ใน glycated hemoglobin ได้ fructosylated dipeptides และทำปฏิกิริยากับ fructosyl peptide oxidase จนได้ hydrogen peroxide ที่ทำปฏิกิริยากับ chromogen เกิดเป็นสารสีและวัดด้วยหลักการ colorimetric โดย

สีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ HbA_{1c} ในสิ่งส่งตรวจ⁽⁷⁾

การตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} ด้วยหลักการส่วนใหญ่ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้แก่ HPLC, affinity chromatography, immunoassay หรือ enzymatic assay สิ่งส่งตรวจที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เป็นเลือดรวมที่ใช้ ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) เป็นสารกันเลือดแข็งที่เรียกว่า EDTA blood มีผลการศึกษาในต่างประเทศ ใน พ.ศ. 2526 โดย Sinclair และ MacDonald ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณ HbA_{1c} ระหว่างสิ่งส่งตรวจจาก EDTA blood และ NaF/oxalate ด้วยวิธี electrophoresis พบว่ามีความสัมพันธ์กันดี⁽⁸⁾ หน้าที่ของสารกันเลือดแข็ง EDTA เป็น chelating effect ของแคลเซียมในเลือด โดยจะจับกับแคลเซียมทำให้เลือดไม่สามารถแข็งตัวได้ ส่วน NaF เป็นสารกันเลือดแข็ง และมีสมบัติยับยั้งการทำงานของ enzyme ในกระบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งเป็นกระบวนการใช้หรือสลายน้ำตาลของเซลล์ ปัจจุบันได้มีการนำสาร EDTA และ NaF มาผสมกันในหลอดบรรจุเลือดสุญญากาศ ผลิตโดย BD Vacutainer[®] มีส่วนประกอบของสารกันเลือดแข็ง sodium fluoride 3.0 มิลลิกรัม + Na₂EDTA 6.0 มิลลิกรัม รุ่น BD HemogardR /Grey เป็นต้น⁽¹³⁾

ปัจจุบันส่วนใหญ่แพทย์ส่งตรวจหาระดับ HbA_{1c} ควบคู่กับระดับกลูโคสในเลือด แต่ปัญหาที่พบบ่อยของการตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} คือ ผู้เจาะเลือดอาจลืมเจาะสำหรับหลอด EDTA blood ด้วยไม่เห็นว่าแพทย์ได้ส่งตรวจ HbA_{1c} เป็นต้น⁽⁴⁾ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการลดจำนวนการใช้หลอดเลือดที่บรรจุสารกันเลือดแข็ง โดยการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA_{1c} ในหลอดเดียวที่มีสารกันเลือดแข็งสองชนิด (one tube concept) ที่สามารถทดแทนทั้งหลอดบรรจุสารกันเลือดแข็ง EDTA และ NaF

หากผลการศึกษาให้ผลดีอาจช่วยลดค่าใช้จ่ายหรือลดการเจาะเลือดของผู้มารับบริการได้ และอาจใช้ตอบสนองการให้บริการเชิงรุกสำหรับการออกหน่วยตรวจสุขภาพได้อีกทางหนึ่ง

วัสดุและวิธีการ ตัวอย่างทดสอบ

กลุ่มตัวอย่างเป็นกลุ่มประชากรที่มารับบริการตรวจสุขภาพในศูนย์บริการสุขภาพ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ช่วงระยะเวลาระหว่างเดือนมกราคม 2560 ถึงเดือนตุลาคม 2560 โดยใช้ตัวอย่างตรวจที่เหลือจากการตรวจวัดในงานประจำ (left-over specimen) ในการตรวจสุขภาพประจำปี ทั้งหลอดที่เป็น EDTA blood และ NaF-EDTA blood โดยหลอด NaF-EDTA blood มีปริมาณ NaF 3.0 มิลลิกรัม + Na₂EDTA ปริมาณ 6.0 มิลลิกรัม ในเลือดปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตัวอย่างที่ศึกษาเป็นตัวอย่างจากผู้รับบริการรายเดียวกัน จำนวน 199 ราย โดยได้คัดตัวอย่างของคนที่มีความผิดปกติของค่า Hct น้อยกว่าร้อยละ 32 ออกจากการศึกษา

วิธีการศึกษา

ใช้หลอดเก็บเลือดจากบริษัท BD Vacutainer[®] (ประเทศสหรัฐอเมริกา) และตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} ด้วยหลักการ turbidimetric immunoassay โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก รุ่น Furuno CA-800 (ประเทศญี่ปุ่น) ที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณ HbA_{1c} ด้วยตัวอย่างตรวจแบบ hemolysate, whole blood และ centrifuged blood โดยใช้ตัวอย่างตรวจแบบ centrifuged blood นำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} ภายใน 6 ชั่วโมง หลังจากเจาะเลือดที่หน่วยบริการตรวจสุขภาพภายนอกศูนย์

ตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} ในหลอด EDTA blood และ NaF-EDTA blood ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ โดยในขั้นตอน pre-treatment เลือดครบส่วน (EDTA whole blood) จะถูกผสมกับ hemolysing reagent ภายใน cuvette โดยอัตโนมัติ เพื่อ lyse เม็ดเลือดแดงให้แตก จากนั้นเครื่องจะดูด hemolysate ไปใส่ใน cuvette ที่ได้ดูดน้ำยาที่มี anti-human HbA_{1c} monoclonal antibody เพื่อจับกับ HbA_{1c} เกิดเป็น latex- HbA_{1c} -mouse anti-human HbA_{1c} antibody complex ที่เกาะกลุ่มกัน และวัดความขุ่นของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเทียบเป็นความเข้มข้น HbA_{1c} (%)^(9, 10) ค่าการตรวจวิเคราะห์ที่แสดงออกมาเป็นหน่วยร้อยละของ HbA_{1c} (% HbA_{1c})

นำข้อมูลการวิเคราะห์ระดับ HbA_{1c} ด้วยหลอด EDTA เปรียบเทียบกับหลอด NaF-EDTA เพื่อหาความสัมพันธ์ด้วยสมการถดถอยเชิงเส้นตรง (linear regression) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และหาความแตกต่างโดยใช้สถิติ t-test โดยโปรแกรม MedCalc โดยข้อมูลมีการกระจายตัวเป็นแบบ normal distribution

ผลการศึกษา

เมื่อนำผลการวิเคราะห์ระดับ HbA_{1c} จากตัวอย่าง EDTA blood และ NaF-EDTA blood จำนวน 199 ราย ซึ่งมีช่วงของค่า HbA_{1c} ระหว่างร้อยละ 4.7-13.5 มาหาค่าเฉลี่ย พบว่าค่า HbA_{1c} จาก EDTA blood ได้ค่าเฉลี่ยร้อยละ 5.9549 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.9553 พิสัย (ร้อยละ 4.7 - 13.5) และค่า HbA_{1c} จาก NaF-EDTA blood ได้ค่าเฉลี่ยร้อยละ 5.8567 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.9519 พิสัย (ร้อยละ 4.5-13.4) และเมื่อนำมาทดสอบหาความแตกต่างโดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ค่า HbA_{1c} ที่ได้จาก EDTA blood และ NaF-EDTA blood ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p = 0.0509$ ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Table 1 ส่วนผลการทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ HbA_{1c} ของหลอด EDTA blood และหลอด NaF-EDTA blood พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9869 ซึ่งมีความสัมพันธ์กันเป็นอย่างดี สมการถดถอยเชิงเส้นตรง $y = 0.9854x - 0.0315$ ดังแสดงใน Fig. 1

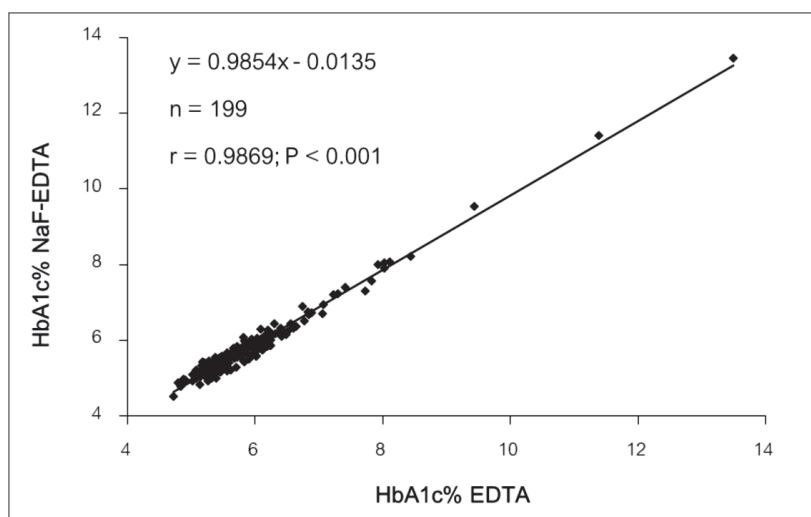


Fig. 1 Correlation of HbA_{1c} values between EDTA blood and NaF-EDTA blood determined by immunoturbidimetric immunoassay on Furuno CA-800.

Table 1 The statistic description of HbA_{1c} values from EDTA blood and NaF-EDTA blood

Samples (n = 199)	Mean (%)	SD (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
EDTA blood	5.9549	0.9553	4.7	13.5
NaF-EDTA blood	5.8567	0.9519	4.5	13.4

* $p = 0.0509$ ($p > 0.05$)

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้ควบคุมคุณภาพประจำวันด้วยสารควบคุมคุณภาพ HbA_{1c} control normal และ HbA_{1c} control high lot 636201-362 ของบริษัท Centronic GmbH การทดสอบสารควบคุมคุณภาพช่วงค่าปกติได้ร้อยละ 5.45 (ช่วงค่าที่ยอมรับได้ที่ร้อยละ 4.3 - 6.3) และผลการทดสอบสารคุณภาพช่วงค่าสูงได้ร้อยละ 12.54 (ช่วงค่าที่ยอมรับได้ที่ร้อยละ 11.3-14.3) ตามลำดับ และการทดสอบสารควบคุมคุณภาพ 20 วัน (between run) ได้ค่า % CV ของ HbA_{1c} control normal และ HbA_{1c} control high = 1.7 และ 1.6% ตามลำดับ และผลจาก EQA Center Thailand อยู่ในช่วงเกรด B (very good)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA_{1c} และระดับกลูโคสในหลอดเลือดเดียวกัน จะต้องมีการเก็บเลือดแข็งที่ช่วยยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในกระบวนการไกลโคไลซิส ดังนั้นผู้ทำการทดสอบจึงเลือกใช้หลอดเลือดสำเร็จรูปที่มีส่วนผสมสารกันเลือดแข็งระหว่าง NaF กับ EDTA ซึ่งมีส่วนผสมในสัดส่วน NaF 3.0 มิลลิกรัม + Na₂EDTA 6.0 มิลลิกรัม (บริษัท BD Vacutainer[®]) วัตถุประสงค์ของการใช้หลอดนี้เพื่อยับยั้งกระบวนการไกลโคไลซิส และรักษาสภาพของเม็ดเลือด เป็นการลดต้นทุนค่าใช้จ่ายในการตรวจสุขภาพของศูนย์บริการสุขภาพ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในการตรวจหาระดับ HbA_{1c} และระดับกลูโคสในหลอดเลือดเดียวกัน ลดการ

เสียเลือดของผู้รับบริการ และป้องกันความผิดพลาดจากการเจาะเลือดไม่ครบถ้วนในกรณีที่มีผู้รับบริการตรวจสุขภาพจำนวนมาก

ผลการศึกษาที่ได้ครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของเพ็ญศิริ ชูแสง และคณะ (พ.ศ. 2547) ที่ได้ตรวจวัดปริมาณ HbA_{1c} ใน NaF blood โดยเก็บตัวอย่างในเลือดที่เป็น EDTA blood และ NaF blood จากผู้ป่วยรายเดียวกันจำนวน 212 ราย นำมาวิเคราะห์ปริมาณ HbA_{1c} โดยวิธี turbidimetric inhibition immunoassay ผลการศึกษาพบว่า ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ HbA_{1c} ที่ใช้ EDTA blood และ NaF blood ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และค่าที่ได้จากทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กันดี ($r = 0.994$) และสรุปได้ว่าสามารถใช้ NaF blood มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณ HbA_{1c} ได้⁽⁴⁾

ในงานวิจัยของ Mailankot และคณะ ในปี พ.ศ. 2555 ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณ HbA_{1c} ระหว่างเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งต่างกัน ได้แก่ EDTA, heparin, citrate และ fluoride และตรวจวัด HbA_{1c} ด้วยเครื่อง BioRad D10 cation exchange HPLC ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างเลือดจากหลอด EDTA, heparin, citrate และ fluoride ไม่มีผลกระทบต่อการศึกษาวิเคราะห์ HbA_{1c} เมื่อทดสอบหลังจากการเจาะเลือด 3 ชั่วโมง⁽¹¹⁾ แต่ในการศึกษานี้ใช้เวลาก่อนการตรวจวัดภายใน 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่ใช้ในการขนส่งจากหน่วยตรวจ

นอกศูนย์ มายังห้องปฏิบัติการศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต แสดงว่าหลอดเก็บเลือดที่มีส่วนผสมของสารกันเลือดแข็งทั้งสองชนิดนี้สามารถรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงหลังจากเจาะเลือดได้นานกว่า ซึ่งเหมาะที่จะนำมาใช้ในงานประจำ

ในปี พ.ศ. 2557 Chakraborty และคณะ ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณ HbA_{1c} โดยใช้หลักการ HPLC ในตัวอย่างเลือดจากหลอด EDTA, EDTA-fluoride และ buffered EDTA-fluoride และตรวจวัดด้วยเครื่อง Bio-Rad D10 ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ hemolysate จากหลอด EDTA, EDTA-fluoride และ buffered EDTA-fluoride สามารถวัดได้ดีเท่ากัน⁽¹²⁾

บริษัทผลิตหลอดเลือด (BD Vacutainer®) ได้ทำการทดสอบหลอดเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งในการทดสอบ HbA_{1c} โดยใช้หลอดเลือด BD glass K_3 EDTA tube, BD plus K_2 EDTA tube เปรียบเทียบกับ BD plus fluoride/EDTA tube ด้วยหลักการ HPLC โดยใช้เครื่อง Tosoh A1c 2.2 ผลพบว่าการตรวจ HbA_{1c} ในหลอด BD plus fluoride/EDTA tube ให้ผลเท่ากับกับ BD glass K_3 EDTA tube, BD plus K_2 EDTA tube ในส่วนของการเก็บ whole blood sample ในหลอด BD plus fluoride/EDTA สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้ 24 ชั่วโมง โดยที่ค่าไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม⁽¹³⁾ จากผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าหลอดเลือด BD plus fluoride/EDTA tube สามารถช่วยรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงหลังจากเจาะเลือดที่อุณหภูมิห้องได้ 24 ชั่วโมง ซึ่งเหมาะที่จะนำมาใช้ในงานออกหน่วยตรวจสุขภาพที่ต้องใช้เวลาหลายชั่วโมงในการเดินทางกลับมายังศูนย์ส่งเสริมสุขภาพ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ถึงแม้ว่าการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ HbA_{1c} โดยใช้ EDTA blood กับ NaF-EDTA blood ในการศึกษาครั้งนี้จะมีความสัมพันธ์กันดี แต่ก็มีข้อจำกัดหลายอย่าง เนื่องจากหลอด NaF-EDTA blood ยังไม่มีการผลิตขายอย่างกว้างขวาง นอกจากนั้นตัวอย่างส่วนใหญ่ในการศึกษาครั้งนี้เป็นกลุ่มคนปกติ มีเพียงบางรายที่มีค่า HbA_{1c} สูง ($\%HbA_{1c}$; 13.5) ซึ่งเป็นรายที่มีประวัติเป็นเบาหวานและมีภาวะแทรกซ้อนร่วมด้วย ดังนั้นควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มที่เป็นผู้ป่วยเบาหวานต่อไป ในการตรวจวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสในหลอด NaF-EDTA ทางห้องปฏิบัติการได้ทำการทวนสอบหลอดเลือดก่อนที่จะนำมาให้บริการ โดยทำการเปรียบเทียบกลูโคสในหลอดเลือด NaF สำเร็จรูปยี่ห้อ Carestainer ที่ทางศูนย์ บริการเคยใช้กับหลอดเลือดที่มีส่วนผสมสารกันเลือดแข็งระหว่าง NaF กับ EDTA ซึ่งมีส่วนผสมในสัดส่วน NaF 3.0 มิลลิกรัม + Na_2 EDTA 6.0 มิลลิกรัม (บริษัท BD Vacutainer®) พบว่าค่ากลูโคสที่ได้จากทั้ง 2 หลอด มีความสัมพันธ์กันดี ($r = 0.995$) $n = 109$ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าหลอดเก็บเลือดสามารถตรวจได้ทั้งการตรวจวัด HbA_{1c} และกลูโคส แต่ควรศึกษาประเด็นต่างๆ ตามที่กล่าวไปข้างต้นก่อนนำมาใช้ในงานประจำต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพสหเวชศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกและให้คำปรึกษาในการทำวิจัย และขอขอบคุณ บริษัทอาร์เอ็นดี ไคแอกโนสติกส์ จำกัด ที่สนับสนุนทุนวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Diabetes association of Thailand under the patronage of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn. The endocrine society of Thailand, Department of Medical Services, National Health Security Office. Clinical practice guideline for Diabetes 2017. (in Thai)
2. Akeplakorn W. Health Systems Research Institute (HSRI). Population survey report 5. 2004. (in Thai)
3. Ratarasan C. Division of Endocrinology and metabolism, Department of medicine, Faculty of Medicine, Ramathibodi hospital. Outbreak of diabetes and the impact on Thailand. 2013. (in Thai)
4. Chusongsang P, Musigawan P, Wan- 10. System products division, Furuno electric Co., Ltd, Administrator Manual, Clinical Chemistry Analyzer CA-800. Nishinomiya-hama: 2016, OM-E7251-1A.
5. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2017; 40 Suppl 1: S11-S24.
6. Watanabe T, Ken Kato, Yamada D, *et al.* A nondiabetic case of hemoglobin variant (Hb Niigata) with inappropriately high and low HbA_{1c} titers detected by different methods. Clin Chem 1998; 44: 1562-4.
7. Krishnamurti U, Steffes MW. Glycohemoglobin: a primary predictor of the development or reversal of complications of diabetes mellitus. Clin Chem 2001; 47: 1157-65.
8. Sinclair FM, MacDonald DJ. Correlation between glycosylated hemoglobin in specimens containing potassium EDTA and fluoride oxalate. Clin Chem 1983 Jun; 29: 1319.
9. Centronic GmbH. HbA_{1c}. Instruction for use: 2017, TV-101-CE-004.
11. Mailankot M, Thomas T, Praveena P, Jacob J, Benjamin JR, Vasudevan DM. Various anticoagulants and fluoride do not affect HbA_{1c} Level. Indian J Clin Biochem. 2012; 27: 209.
12. Chakraborty S, Ghosh SS, Das A, Sawant P, Kallner A. Can EDTA, EDTA-fluoride, and buffered citrate tubes be used for measurement of HbA_{1c} on the Bio-Rad D10? Clin Chem Lab Med 2015; 53: 5-8.
13. Becton Dickinson. A Comparative evaluation of BD Vacutainer® plus fluoride/EDTA tubes for glucose & HbA_{1c} preservation after 24 hours storage at room temperature. VS7594-WP 2007.