

การศึกษาระดับ HbA1c ของผู้มีฮีโมโกลบินปกติและผิดปกติ ในตัวอย่างเลือดที่ใช้ EDTA, NaF และ Lithium-Heparin โดยวิธี Capillary Electrophoresis

พิทยา ตรีรัตน์ นภธร พรศรีวิทย์ เพ็ญศิริ ชูแสง และ พัฒนพงศ์ ชูแสง*

สาขาวิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา

บทคัดย่อ

Hemoglobin A1c (HbA1c) มีการใช้อย่างแพร่หลายสำหรับประเมินระดับน้ำตาลเฉลี่ยในช่วง 2-3 เดือนที่ผ่านมา การตรวจวิเคราะห์ทำได้โดยเจาะเลือดตัวอย่างใส่หลอดเอทิลีนไดอามีนเตตระอะซิติกแอซิด (EDTA) แต่ปัจจุบันพบปัญหาว่าผู้ป่วยต้องเจาะเลือดใส่หลอดหลายประเภท ปริมาณมาก เจาะเลือดยาก ทำให้ผู้ป่วยบางรายไม่สามารถเจาะเลือดได้ครบถ้วน อีกทั้งกรณีแพทย์ขอเพิ่มการทดสอบ HbA1c ทำให้ผู้ป่วยต้องเจาะเลือดซ้ำ จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ โดยทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด EDTA ตัวอย่างเลือดโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) และตัวอย่างเลือดลิเทียมเฮปาริน (LH) ที่ตรวจวัดด้วยวิธี capillary electrophoresis ซึ่งสามารถรายงานผลตรวจคัดกรองหมู่เลือด (screening typing) ควบคู่กับผล HbA1c โดยใช้เลือดจำนวน 234 ตัวอย่าง แยกเป็นกลุ่มที่มีฮีโมโกลบินปกติ 104 รายและกลุ่มที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติ 130 ราย มีค่า HbA1c อยู่ในช่วงร้อยละ 4.6-16.4 ผลการเปรียบเทียบระดับ HbA1c พบว่ากลุ่มที่มีฮีโมโกลบินปกติ ตัวอย่างเลือด EDTA และเลือด NaF มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) แต่ตัวอย่างเลือด EDTA และเลือด LH มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.328$) กลุ่มที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติพบว่า ตัวอย่างเลือด EDTA เทียบกับเลือด NaF และเลือด LH มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.233, 0.126$) ผลการวิเคราะห์ Bland Altman analysis พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีค่า HbA1c แตกต่างกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($\pm$ ร้อยละ 8) การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (linear regression) ของตัวอย่างเลือด EDTA เลือด NaF และเลือด LH ที่มีฮีโมโกลบินปกติและผิดปกติเท่ากับ $R^2 = 0.996, 0.995, 0.995, 0.994$ ตามลำดับ สรุปได้ว่า สามารถใช้ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ในการตรวจ HbA1c ด้วยเครื่อง Sebia Capillarys 3 Tera พร้อมทั้งสามารถรายงานผลตรวจคัดกรองชนิดฮีโมโกลบิน (hemoglobin typing screening) ควบคู่กับค่า HbA1c ได้ภายในวันเดียวกัน

คำสำคัญ: โซเดียมฟลูออไรด์ ลิเทียมเฮปาริน อีทีทีเอ ฮีโมโกลบินเอวันซี

*ผู้นิพนธ์หลัก: cphattanapong@gmail.com

วันที่ส่ง: 22 กรกฎาคม 2568

วันที่แก้ไข: 19 กันยายน 2568

วันที่ตอบรับ: 29 ตุลาคม 2568



Study of HbA1c Levels in Normal Hemoglobin and Hemoglobinopathies using EDTA Blood, NaF Blood and Lithium-Heparin Blood by Capillary Electrophoresis

Pittaya Treerat, Naphatohn Bhornsrivathanyou, Pensiri Choosongsang
and Phattanapong Choosongsang*

Department of Pathology, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla Province, Thailand

Abstract

Hemoglobin A1c (HbA1c) is widely used for monitoring glycemic control in diabetic patients, reflecting average plasma glucose over the past 2-3 months. It is typically measured using blood collection in EDTA tubes. However, patients are often required to provide multiple types of blood samples in large volumes, which can be problematic for those with difficult venipuncture, leading to incomplete collection. In cases when HbA1c testing is requested after the initial blood draw without an EDTA sample, re-venipuncture may be necessary. This study compares HbA1c levels among EDTA blood, NaF blood, and LH blood using the Sebia Capillarys 3 Tera system with capillary electrophoresis, which simultaneously reports hemoglobin screening types. A total of 234 leftover clinical samples were analyzed, including 104 with normal hemoglobin and 130 with abnormal hemoglobin profiles. HbA1c values ranged from 4.6% to 16.4%. In the normal hemoglobin group, EDTA and NaF samples showed statistically significant differences ($p < 0.001$), while EDTA and LH samples did not ($p = 0.328$). In abnormal hemoglobin cases, no significant differences were found across all tube types ($p = 0.233, 0.126$). Bland-Altman analysis revealed acceptable bias within $\pm 8\%$. Linear regression yielded R^2 values of 0.996, 0.995, 0.995, and 0.994 for comparisons across groups. In conclusion, NaF and LH blood samples are viable alternatives to EDTA blood for HbA1c analysis using the Sebia Capillarys 3 Tera system, with the added benefit of simultaneous hemoglobin typing screening within the same day.

Keywords: EDTA blood, HbA1c, Lithium-heparin blood, NaF blood

*Corresponding author: cphattanapong@gmail.com

Received date: July 22, 2025 Revised date: September 19, 2025 Accepted date: October 29, 2025

1. บทนำ

HbA1c หรือ glycated hemoglobin เป็นการทดสอบที่แพทย์ใช้ในการประเมินและตรวจติดตามระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดในช่วง 2-3 เดือนที่ผ่านมาในผู้ป่วยเบาหวาน เพื่อลดความเสี่ยงในการเกิดโรคแทรกซ้อน ซึ่งพบว่าระดับของ HbA1c จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 1 เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้น 35 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (2 มิลลิโมลต่อลิตร)⁽¹⁾

จากข้อมูลกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ แนวทางการตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างสมเหตุผล (rational laboratory use, RLU) การใช้ HbA1c ในการวินิจฉัย และติดตามผลการรักษา โรคเบาหวาน ต้องเป็นวิธีที่บริษัทผู้ผลิตได้รับการรับรองจาก National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) มีการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญกับผู้ให้บริการ (proficiency testing) ที่ดำเนินการสอดคล้องตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 และควรเปรียบเทียบค่ากับค่าเป้าหมาย (target value) (accuracy-based PT program) และการใช้ HbA1c ควรพิจารณาปัจจัยด้านเชื้อชาติและชาติพันธุ์ด้วย เนื่องจาก hemoglobin variants บางชนิด อาจมีผลรบกวนต่อค่า HbA1c⁽²⁾ ซึ่งห้องปฏิบัติการหน่วยเคมีคลินิกมีการตรวจวิเคราะห์ HbA1c กับผู้ผลิตที่ได้รับการรับรองจาก NGSP และมีการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญกับโปรแกรม Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS) โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ capillary electrophoresis (CE) ซึ่งสามารถตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินผิดปกติ ได้แก่ HbS, HbC, HbE, HbD-Punjab และ HbO-Arab นอกจากนี้ยังสามารถตรวจวิเคราะห์ α -thalassemia และ β -thalassemia รวมถึงการวัดปริมาณ HbA2 และ HbF^(3,4) ปัจจุบันโรงพยาบาลสงขลานครินทร์รายงานผล HbA1c ควบคู่กับผลตรวจคัดกรองชนิดฮีโมโกลบิน (screening Hb typing) หรือฮีโมโกลบินที่ผิดปกติทุกราย ทำให้แพทย์สามารถใช้ค่า HbA1c ติดตามและรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยผู้ป่วยที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติค่า HbA1c จะสะท้อนค่าที่แท้จริงของน้ำตาลเฉลี่ยที่ผ่านมา และมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับน้ำตาลในเลือด มีรายงานว่าผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบินสามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ทำให้ค่าที่ได้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง⁽⁵⁻⁹⁾ ซึ่งจากการศึกษาพบผู้ป่วยเบาหวานมีฮีโมโกลบินผิดปกติถึงร้อยละ 19.58⁽¹⁰⁾

สำหรับการตรวจ HbA1c โดยทั่วไปจะมีการเจาะเลือดที่ใช้หลอดเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (EDTA blood) และส่วนใหญ่จะมีการเจาะเลือดเพื่อตรวจวิเคราะห์การทดสอบอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count, CBC) ซึ่งใช้ตัวอย่างเลือด EDTA เช่นกัน การตรวจน้ำตาลโดยใช้หลอดโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF blood) การตรวจสารชีวโมเลกุลและเมตาบอลิซึมโดยใช้หลอดลิเทียมเฮปาริน (LH blood) หรือการตรวจทางภูมิคุ้มกันโดยใช้หลอด clotted blood เป็นต้น ทำให้พบปัญหาผู้ป่วยที่เจาะเลือดยาก ต้องใช้เลือดปริมาณมากในการทดสอบ อีกทั้งอาจเกิดปัญหาการเจาะเลือดไม่ครบจำนวนหลอดที่ต้องการ และบางรายแพทย์ขอเพิ่มการทดสอบ HbA1c แต่ไม่ได้เจาะเลือดใส่หลอด EDTA ทำให้ผู้ป่วยต้องเจาะเลือดซ้ำ และมีการศึกษาที่ผ่านมาสามารถใช้ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ด้วยหลักการต่าง ๆ ได้⁽¹¹⁻¹³⁾ แต่ยังไม่พบการศึกษาด้วยหลักการ CE จึงเป็นที่มาของการศึกษาครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด EDTA ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH โดยใช้เครื่อง Sebia Capillarys 3 Tera เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ได้ในกรณีที่ไม่ได้ส่งเลือด EDTA

2. วัสดุและวิธีการศึกษา

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ประกอบด้วยกลุ่มผู้ป่วยที่ส่งตรวจ HbA1c ในหน่วยเคมีคลินิก สาขาวิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา จำนวน 234 ราย คำนวณขนาดตัวอย่างจากความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ระหว่างตัวอย่าง 2 กลุ่ม (difference between two independent means)⁽¹⁴⁾ โดยแบ่งเป็นกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (Hb typing = A₂A, 2 ≤ A₂ < ร้อยละ 3.5) ทั้งหมด 104 ตัวอย่าง และกลุ่มฮีโมโกลบินไม่ปกติ 130 ตัวอย่าง ประกอบด้วย Hb typing A₂A, A₂ < ร้อยละ 2, EA, A₂A, A₂ ≥ ร้อยละ 3.5, EFA, A₂A with high HbF, HbH disease, CS A₂A และ Hb abnormal โดยใช้เกณฑ์ในการคัดเลือกรูปแบบฮีโมโกลบินไม่ปกติที่พบบ่อยในผู้ป่วยเบาหวานจากการศึกษาของ Choosongsang P และคณะ⁽¹⁰⁾ โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ลงทะเบียนจริยธรรม การวิจัยในมนุษย์ของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รหัส REC.66-360-5-8

2.2 วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองและเปรียบเทียบ (comparative experimental study) แบบไปข้างหน้า โดยใช้เลือดที่เหลือจากงานตรวจวิเคราะห์ ที่มีการส่งตรวจ HbA1c พร้อมกับการส่งตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ที่มีปริมาณเลือดเพียงพอ เพื่อนำมาตรวจ HbA1c ภายในวันเดียวกัน

2.3 เครื่องมือ

2.3.1 เครื่องตรวจวิเคราะห์

การตรวจ HbA1c ใช้ตัวอย่างเลือดครบส่วนจากเลือด EDTA โดยหลักการ capillary electrophoresis (CE) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Capillars 3 Tera (Sebia group) ซึ่งฮีโมโกลบินจะถูกแยกออกจากกันตามคุณสมบัติ electrophoretic mobility และ electro-osmotic flow (EOF) ในหลอดคาพิลลารีซิลิกาขนาดเล็กที่ภายในบรรจุสารละลายอิเล็กโทรไลต์โดยปลายของหลอดคาพิลลารี ทั้งสองด้านจุ่มอยู่ในภาชนะที่บรรจุสารละลายอิเล็กโทรไลต์ เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูงจะมีการเคลื่อนที่ของฮีโมโกลบินจากขั้วบวก (anode) ไปยังขั้วลบ (cathode) ตามแรงของ EOF จากนั้นโซนของฮีโมโกลบินที่แยกจากกัน จะเคลื่อนที่ผ่าน detection window ซึ่งสัญญาณจาก detector จะถูกส่งผ่านต่อไปยังส่วนประมวลผล (data processor) ซึ่งผลที่ได้เรียกว่า electrophoregram โดยฮีโมโกลบินแต่ละชนิดที่แยกออกจากกันจะแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ส่วนค่า HbA1c จะคำนวณตาม IFCC recommendation: $HbA1c = HbA1c / (HbA1c + HbA0)$ นอกจากนี้ส่วน phoresis software จะแสดงผลโปรไฟล์ของฮีโมโกลบิน ทั้งโปรไฟล์ปกติ (normal profile) ที่ประกอบด้วย HbA1c, other HbA, HbA₀ และ HbA₂ และโปรไฟล์ผิดปกติ (atypical profile) เช่น มี HbA₂ สูง HbF สูง หรือมีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่น ๆ (abnormal Hb)

2.3.2 สารควบคุมคุณภาพ

การควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control, IQC) ก่อนตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดผู้ป่วย เพื่อประเมินและติดตามความถูกต้องและแม่นยำของผลการตรวจ ทำโดยใช้สารควบคุมคุณภาพ (control) 2 ระดับ คือระดับปกติ Multi-SYSTEM HbA1c capillary control 1 และระดับผิดปกติ Multi-SYSTEM HbA1c capillary control 2 โดยค่า coefficient of variation (%CV) ของสารควบคุมคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด คือ น้อยกว่า 1 ใน 3 ของค่าผิดพลาดที่ยอมรับได้ (allowable total error, TEa)

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่า HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH มาหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ paired t-test สำหรับข้อมูลที่กระจายตัวปกติ (normal distribution), Wilcoxon sign-Rank test สำหรับข้อมูลที่กระจายตัวไม่ปกติ (non normal distribution) โดยใช้ Kolmogorov-Smirnov test ทดสอบการกระจายตัว หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์โดยใช้สถิติ linear regression analysis

ศึกษาความแตกต่างทางคลินิกโดยนำมาคำนวณค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่า HbA1c ของตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH กับตัวอย่างเลือด EDTA โดยจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์ต้องไม่เกินร้อยละ 5 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และค่าความแตกต่างต้องน้อยกว่าค่าผิดพลาดที่ยอมรับได้ (allowable total error, TEa) ซึ่งตามเกณฑ์ CLIA 2024 กำหนดไว้ที่ร้อยละ 8⁽¹⁵⁾ ทั้งนี้ จำนวนตัวอย่างที่มีร้อยละความแตกต่างของ NaF และ LH ต้องอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้มากกว่าร้อยละ 95⁽¹⁶⁾ โดยคำนวณหาค่าร้อยละความแตกต่าง (% difference) จาก (NaF blood - EDTA blood) / EDTA blood x 100 หรือ (LH blood - EDTA blood) / EDTA blood x 100

3. ผลการศึกษา

ผลการทดสอบสารควบคุมคุณภาพภายในของ HbA1c ระดับปกติ Multi-SYSTEM HbA1c capillary control 1 lot 10102 และระดับผิดปกติ Multi-SYSTEM HbA1c capillary control 2 lot 11102 พบว่าค่า %CV ของสารควบคุมคุณภาพเท่ากับ 1.32 และ 1.13 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนด คือ ร้อยละ 2.0⁽¹⁷⁾

จากตัวอย่างทั้งหมด 234 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (Hb typing = A₂A, 2 ≤ A₂ < ร้อยละ 3.5) ทั้งหมด 104 ตัวอย่าง และกลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติ 130 ตัวอย่าง ประกอบด้วย Hb typing = A₂A, A₂ < ร้อยละ 2 จำนวน 43 ตัวอย่าง

EA จำนวน 59 ตัวอย่าง, A_2A , $A_2 \geq$ ร้อยละ 3.5 จำนวน 18 ตัวอย่าง, EFA จำนวน 2 ตัวอย่าง, A_2A with high HbF จำนวน 3 ตัวอย่าง, HbH disease 2 ตัวอย่าง, CS A_2A จำนวน 1 ตัวอย่าง และ Hb abnormal อื่น ๆ จำนวน 2 ตัวอย่าง (Fig. 1-6) พบค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าต่ำสุด (minimum) และค่าสูงสุด (maximum) ดังแสดงใน Table 1

ผลทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลตัวอย่างทั้งหมดด้วย Kolmogorov-Smirnov test ทั้งกลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินไม่ปกติ พบว่ามีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ p -value = <0.001, 0.002 และ <0.001 ตามลำดับ (Table 1) และเมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างกับตัวอย่างเลือด EDTA โดยใช้เกณฑ์ทางสถิติ Wilcoxon Signed-Rank test พบตัวอย่างเลือด NaF มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ และตัวอย่างเลือด LH ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งกลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินไม่ปกติ และค่า HbA1c ของตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ของทั้ง 2 กลุ่ม มีความสัมพันธ์กันดีกับตัวอย่างเลือด EDTA โดยพบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) > 0.900 (Table 1) โดยมีสมการถดถอยเชิงเส้นตรงแสดงในภาพ (Fig. 7-8)

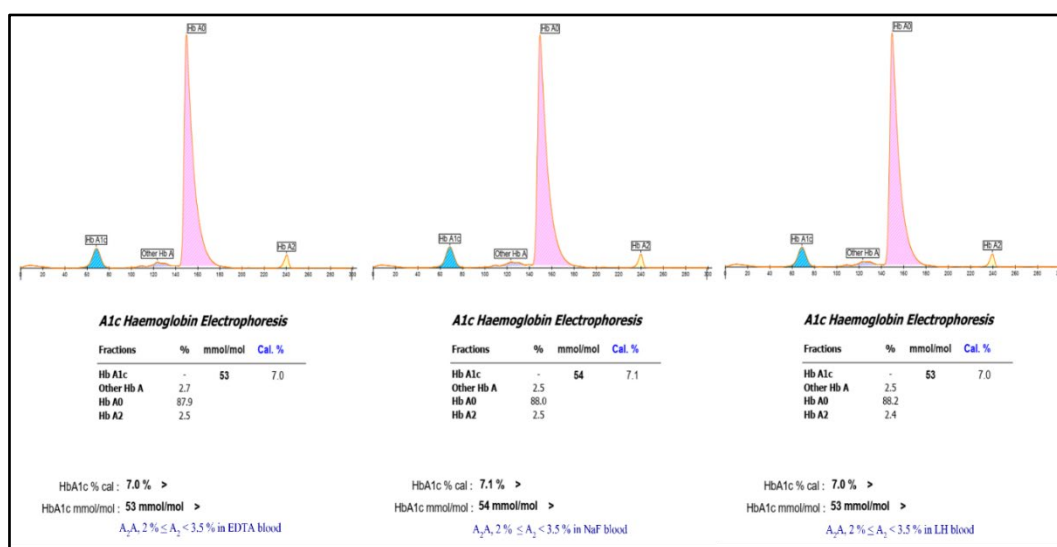


Fig. 1 Electrophoregram A_2A 2% $\leq A_2 < 3.5\%$ in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

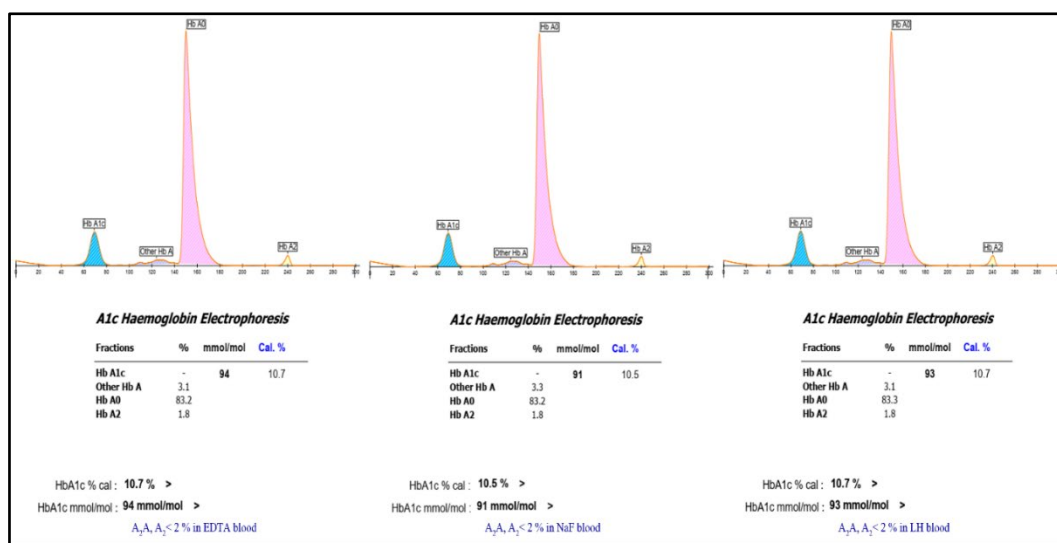


Fig. 2 Electrophoregram $A_2A, A_2 < 2\%$ in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

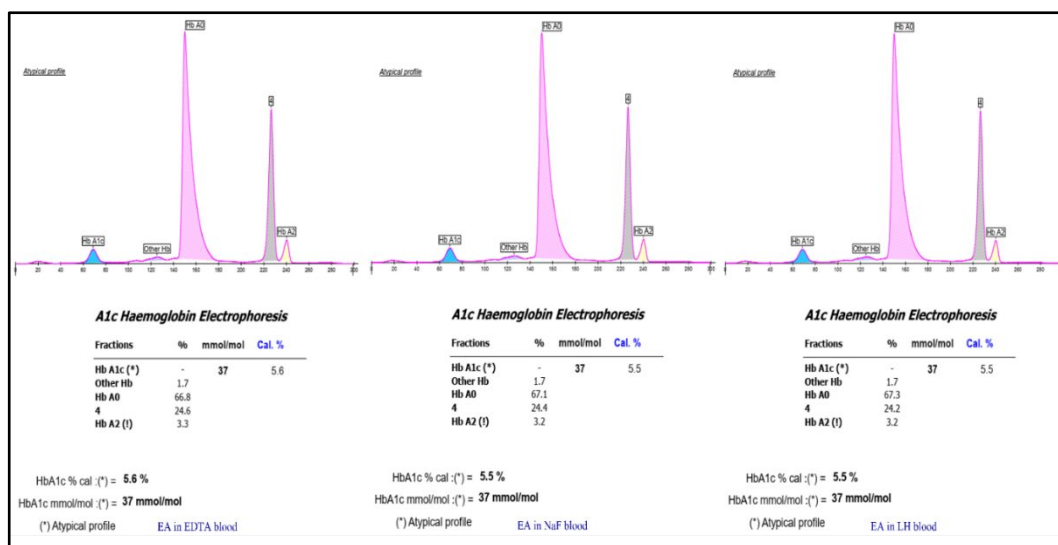


Fig. 3 Electrophoregram EA in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

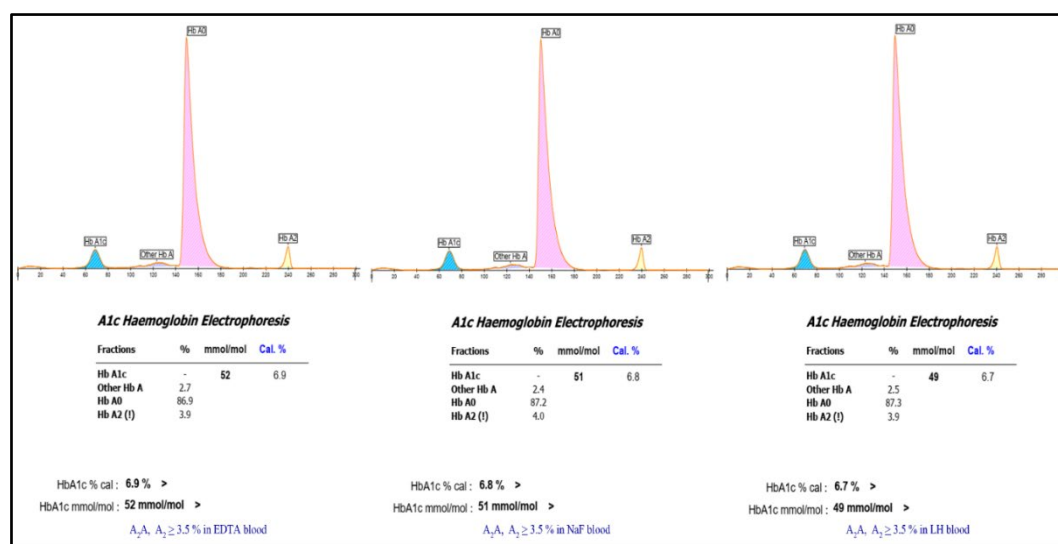


Fig. 4 Electrophoregram A₂A, A₂ > 3.5% in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

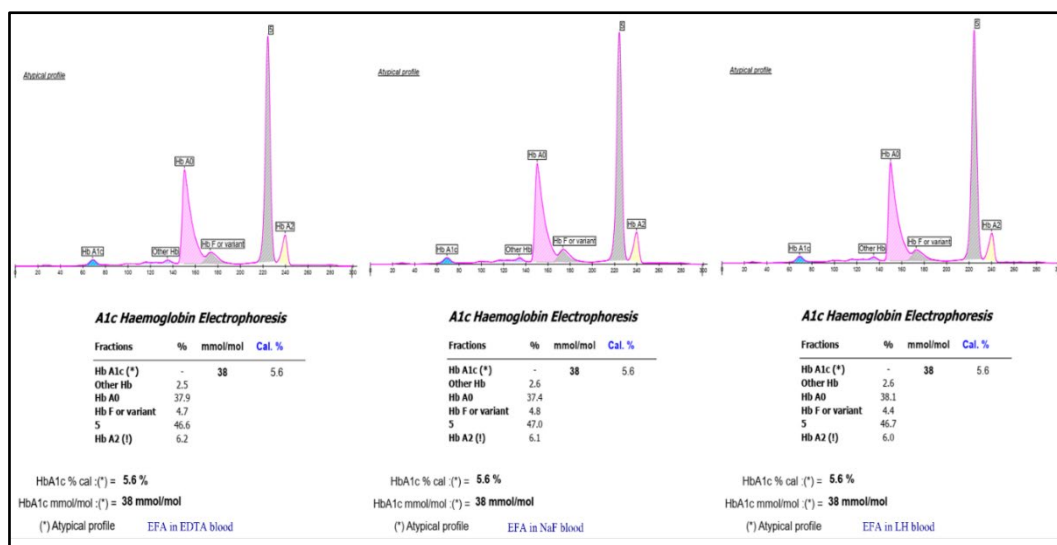


Fig. 5 Electrophoregram EFA in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

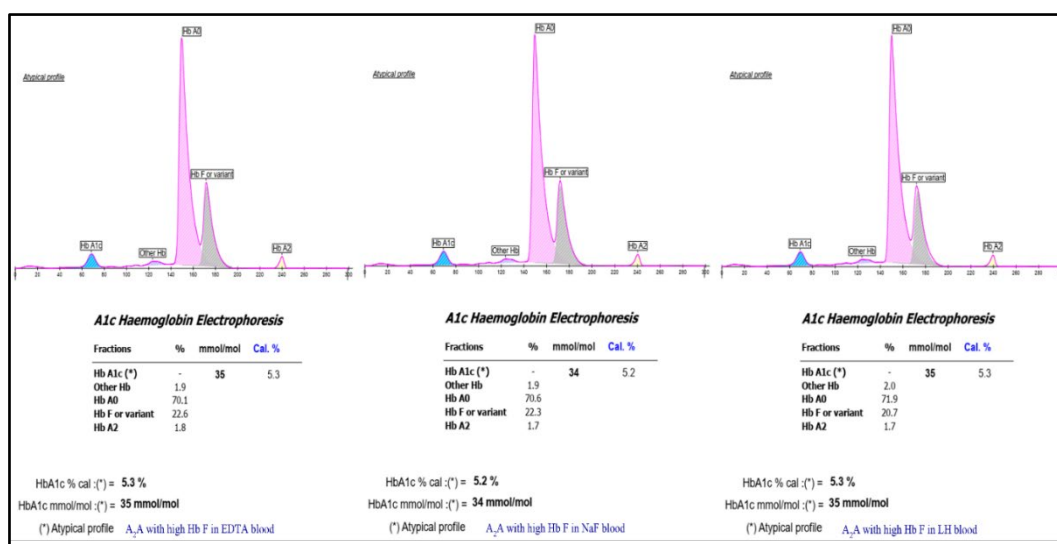


Fig. 6 Electrophoregram A₂A with high HbF in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

Table 1 HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood.

Hemoglobin	Sample	Mean (%)	SD (%)	Minimum (%)	Maximum (%)	p-value	r ²
Normal (n = 104)	EDTA	8.4	2.31	4.8	14.6	0.002*	-
	NaF	8.3	2.31	4.9	14.5	<0.001**	0.996
	LH	8.4	2.36	4.8	14.8	0.328**	0.995
Abnormal (n = 130)	EDTA	7.4	2.48	4.6	16.4	<0.001*	-
	NaF	7.4	2.51	4.6	16.8	0.233**	0.995
	LH	7.4	2.51	4.7	16.8	0.126**	0.994
All (n = 234)	EDTA	7.8	2.45	4.6	16.4	<0.001*	-
	NaF	7.8	2.46	4.6	16.8	0.001**	0.995
	LH	7.8	2.48	4.7	16.8	0.596**	0.994

* Kolmogorov-Smirnov test, ** Wilcoxon Signed Ranks test

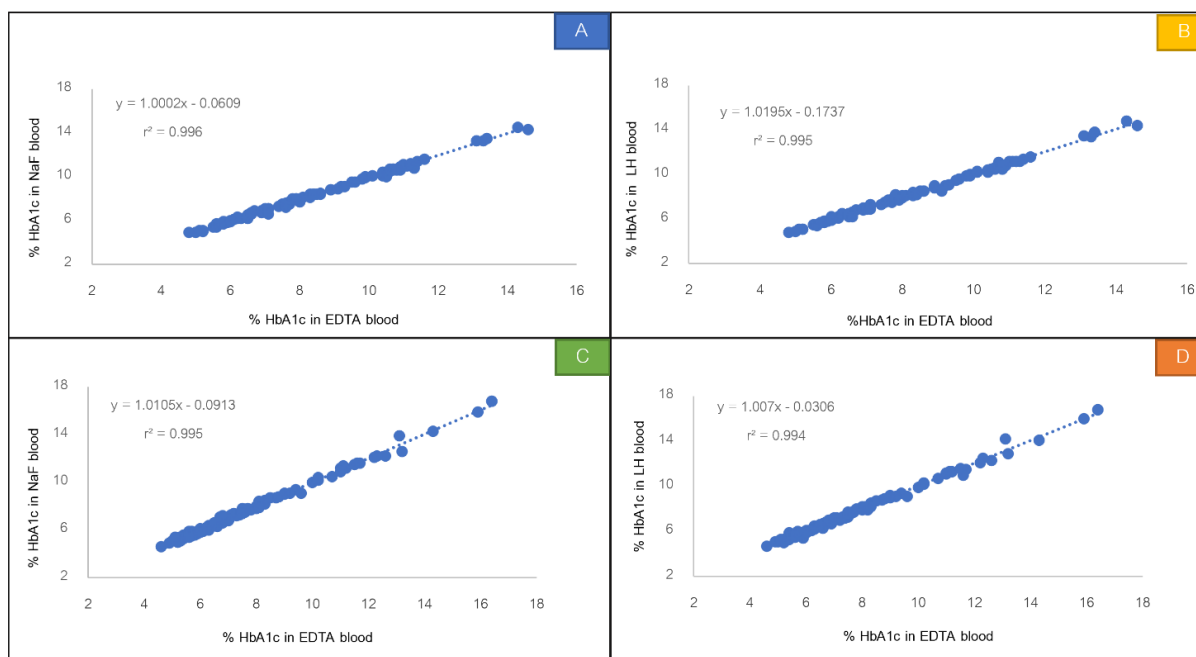


Fig. 7 Relationship between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood

- A = Relationship between HbA1c level in EDTA blood and NaF blood (normal hemoglobin, n = 104)
- B = Relationship between HbA1c level in EDTA blood and LH blood (normal hemoglobin, n = 104)
- C = Relationship between HbA1c level in EDTA blood and NaF blood (abnormal hemoglobin, n = 130)
- D = Relationship between HbA1c level in EDTA blood and LH blood (abnormal hemoglobin, n = 130)

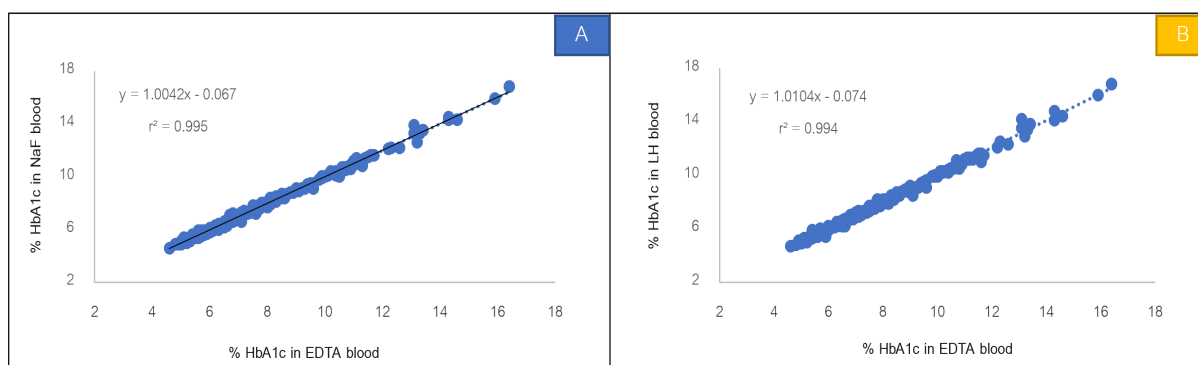


Fig. 8 Relationship between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood
A = Relationship between HbA1c level in EDTA blood and NaF blood (n = 234)
B = Relationship between HbA1c level in EDTA blood and LH blood (n = 234)

ผลการศึกษาความแตกต่างทางคลินิก โดยนำมาคำนวณร้อยละความแตกต่างของค่า HbA1c ในแต่ละกลุ่ม พบค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ของตัวอย่างเลือด EDTA เลือด NaF และเลือด LH (Table 2, Fig. 9) และพบจำนวน ตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ยอมรับมากกว่าร้อยละ 95⁽¹⁶⁾

เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างด้วย Bland-Altman analysis โดยใช้เกณฑ์ $\pm 2SD$ ตัวอย่างเลือด EDTA กับตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ของตัวอย่างทั้งหมด มีค่าเกิน $\pm 2SD$ เท่ากับ 10 และ 7 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 4.27 และ 2.99 ตามลำดับ (Fig. 10) ซึ่งความแตกต่างนี้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามที่ CLIA 2024 กำหนดไว้ไม่เกินร้อยละ 8

Table 2 Percentage of HbA1c level difference between EDTA blood, NaF blood and LH blood.

Parameter	Difference, %					
	Total (n = 234)		Normal hemoglobin (n = 104)		Abnormal hemoglobin (n = 130)	
	NaF	LH	NaF	LH	NaF	LH
mean	-0.5	0.1	-0.8	-0.3	-0.3	0.3
SD	2.08	2.19	1.78	1.90	2.28	2.37
min	-7.0	-8.5	-7.0	-6.6	-5.2	-8.5
max	6.1	9.3	3.0	5.1	6.1	9.3

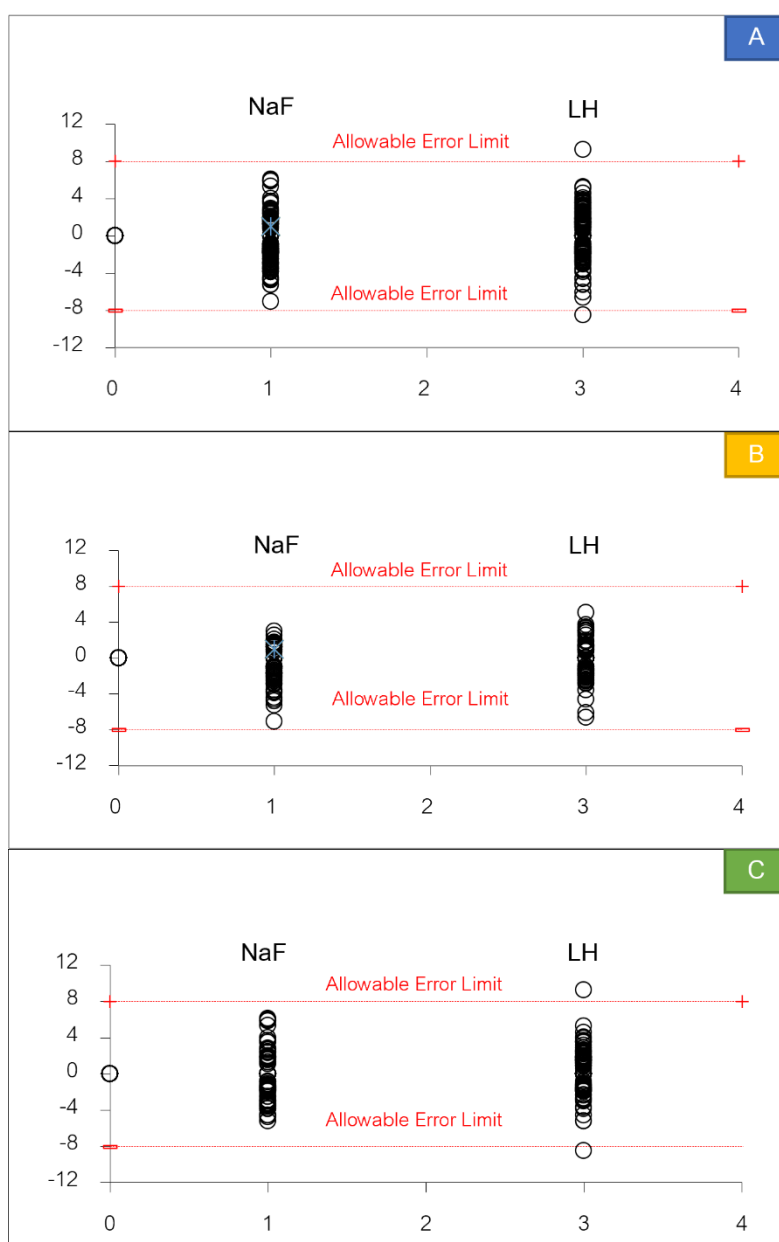


Fig. 9 Percentage differences between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood
A = Differences between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood (n = 234)
B = Percentage differences between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood (normal hemoglobin, n = 104)
C = Percentage differences between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood (abnormal hemoglobin, n = 130)

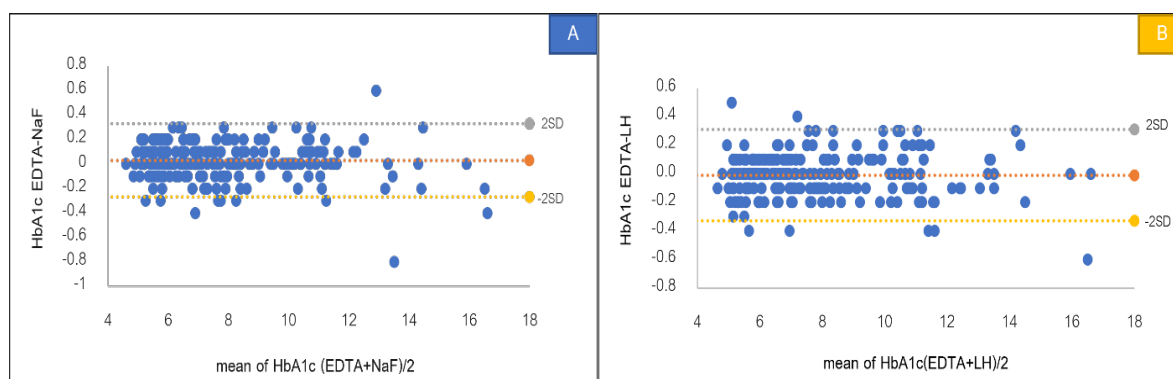


Fig. 10 Bland-Altman plot differences between HbA1c level in EDTA blood, NaF blood and LH blood

A = Bland-Altman plot differences between HbA1c level in EDTA blood and NaF blood (n = 234)

B = Bland-Altman plot differences between HbA1c level in EDTA blood and LH blood (n = 234)

4. วิจัย

การตรวจวิเคราะห์ HbA1c แบ่งหลักการที่สามารถแยก HbA1c หรือ glycated hemoglobin เป็นลักษณะกราฟ เช่น หลักการ ion exchange high performance liquid chromatography (HPLC), boronate affinity chromatography และ CE และหลักการที่เป็นปฏิกิริยาทางเคมี ประกอบด้วยหลักการ immunoassay และ enzymatic assay⁽¹⁸⁾ โดยแต่ละหลักการส่วนใหญ่มีการศึกษาการใช้ตัวอย่างเลือด NaF, เลือด LH และ เลือด sodium citrate เปรียบเทียบกับตัวอย่างเลือด EDTA^(11-12,19-20) ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้โดยใช้หลักการ CE เปรียบเทียบในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มฮีโมโกลบินไม่ปกติ พบว่าค่า HbA1c จากตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่แสดงถึงความสัมพันธ์เชิงบวกที่ดีทั้ง 2 กลุ่ม แม้ตัวอย่างเลือด NaF จะมีความแตกต่างทางสถิติในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ แต่ไม่พบความแตกต่างทางคลินิก สามารถใช้ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ได้ สอดคล้องกับการศึกษาปี 2005 ของ Chusongsang P และคณะ⁽¹¹⁾ ซึ่งเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด EDTA กับตัวอย่างเลือด NaF ด้วยหลักการ turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติและมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่แสดงถึงความสัมพันธ์เชิงบวกที่ดี เช่นเดียวกับการศึกษาปี 2010 ซึ่ง Boonlert และคณะ⁽¹²⁾ ได้เปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด EDTA กับตัวอย่างเลือด LH และตัวอย่างเลือด NaF ด้วยหลักการ TINIA และหลักการ HPLC พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่แสดงถึงความสัมพันธ์เชิงบวกที่ดีทั้ง 2 หลักการ ปี 2019 Allison F และ Stephen D⁽¹⁹⁾ ได้ศึกษา เปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด EDTA กับตัวอย่างเลือด LH และตัวอย่างเลือด NaF ตรวจวัดโดยวิธี boronate affinity chromatography พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติและทางคลินิกสามารถเก็บได้นาน 3 วัน ส่วนการศึกษาของ Sarmah D และ Sharma B ในปี 2013⁽²⁰⁾ โดยการประเมินตัวอย่างเลือด EDTA กับตัวอย่างเลือด sodium citrate ตัวอย่างเลือด LH และตัวอย่างเลือด NaF ด้วยหลักการ HPLC พบว่าค่าไม่เปลี่ยนแปลงภายใน 7 วันซึ่งสามารถเก็บได้นานกว่างานวิจัยอื่น ๆ และการศึกษาของ Pongruea P และ Teerajetgul Y⁽¹³⁾ ปี 2021 ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด EDTA และตัวอย่างเลือด LH ตรวจวัดโดยวิธี boronate affinity chromatography พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่แสดงถึงความสัมพันธ์เชิงบวกที่ดี

จากการศึกษาพบตัวอย่างเลือด LH ในกลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติ จำนวน 2 รายที่พบร้อยละความแตกต่างมีค่า 9.3 และ -8.5 มากกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับ (ร้อยละ 8) โดยไม่พบในตัวอย่างเลือด NaF ซึ่งอาจเกิดจากคุณสมบัติของสารกันเลือดแข็ง โดยที่หลอด NaF มีส่วนประกอบของโซเดียมฟลูออไรด์และโปแตสเซียมออกซาเลต โดยฟลูออไรด์ยับยั้งเอนไซม์ฮีโมโกลบินในกระบวนการไกลโคไลซิส⁽¹¹⁾ และโปแตสเซียมออกซาเลต ทำให้เกิดการตกตะกอนของแคลเซียมในรูปเกลือแคลเซียมออกซาเลต ซึ่งป้องกันการแข็งตัวของเลือด ในขณะที่หลอด LH มีเฮปารินทำหน้าที่เป็นคะตะลิสต์ สำหรับ antithrombin III (AT III) โดย AT III จะยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการแข็งตัวของเลือด โดยเฉพาะ activated factor II (thrombin) และ factor X^(21,22) อย่างไรก็ตามพบความแตกต่างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือร้อยละ 98.5 แต่ในผู้ป่วยที่มี hemoglobin

variants ควรระมัดระวังเป็นพิเศษ และพิจารณาใช้หลอด EDTA เป็นตัวเลือกแรกเพื่อให้ได้ผลการตรวจที่แม่นยำและเชื่อถือได้ที่สุด

จากหลาย ๆ งานวิจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้นยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาแยกเป็นกลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติ เหมือนกับงานวิจัยที่คณะผู้วิจัยได้ศึกษาด้วยหลักการ CE ซึ่งปัจจุบันโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ตรวจ HbA1c ด้วยหลักการ CE และสามารถรายงานผล screening hemoglobin typing ควบคู่ค่า HbA1c ทุกราย จากการศึกษานี้ปี 2023 Choosongsang P และคณะ⁽¹⁰⁾ ได้ศึกษาความถี่ของความผิดปกติของฮีโมโกลบินในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ พบความผิดปกติของฮีโมโกลบินของผู้ป่วยเบาหวานที่ตรวจ HbA1c ถึงร้อยละ 19.58 ซึ่งความผิดปกติของฮีโมโกลบินมีความสำคัญในการติดตามผลการรักษาโรคเบาหวาน จากข้อมูลของ National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)⁽²³⁾ ได้อัพเดทข้อมูลปี 2567 เกี่ยวกับการรบกวนของ Hb variants ต่อการวัด HbA1c ในแต่ละหลักการพบว่า HbE, HbC, HbD และ HbS ไม่รบกวนเกือบทุกหลักการ ส่วน HbF มากกว่าร้อยละ 5⁽²³⁾ จะรบกวนบางหลักการทดสอบ ฉะนั้นห้องปฏิบัติการที่ตรวจ HbA1c ควรระบุข้อจำกัดหรือข้อมูลเทคนิคที่ส่งผลกระทบต่อการทดสอบของแต่ละหลักการ แจ้งให้แพทย์ทราบ เพื่อแพทย์จะได้ใช้ประกอบการพิจารณาค่า HbA1c ในการตรวจติดตามการรักษาที่ถูกต้องและแม่นยำ

5. สรุป

การตรวจวัดค่า HbA1c โดยปกติทั่วไปใช้ตัวอย่างเลือด EDTA ในการตรวจวัด ซึ่งจากผลการศึกษานี้สามารถใช้ตัวอย่างเลือด NaF และตัวอย่างเลือด LH ได้ ในกรณีที่จำเป็น เช่น ผู้ป่วยเจาะเลือดยาก เจาะเลือดไม่ได้หรือเจาะเลือดไม่ครบ หรือในกรณีเพิ่มการทดสอบ เพื่อลดขั้นตอนและเวลาในการเจาะเลือดซ้ำ และเพิ่มความปลอดภัยและพึงพอใจให้กับผู้รับบริการ

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก สาขาพยาธิวิทยา และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนการทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Rohlfing CL, England JD, Wiedmeyer H, Tennill A, Little RR, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c, analysis of glucose profiles and HbA1c in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2002; 25: 275-8.
2. Department of Medical Sciences. Rational Laboratory Use (RLU) guideline [Internet]. Nonthaburi: Ministry of Public Health; 2023 [cited 2025 Feb 22]. Available from: <https://rluthailand.com/RLUGuideline.pdf>. (in Thai)
3. Herpol M, Lanckmans K, Van Neyghem S, *et al.* Evaluation of the Sebia Capillars 3 Tera and the Bio-Rad D-100 Systems for the Measurement of Hemoglobin A1c. *Am J Clin Pathol* 2016; 146: 67-77.
4. Orts JA, Zúñiga A, Bello Y, Fabregat AB, Vicente AI. HbA1c Determination by Capillary Electrophoresis is an Efficient Method for Detecting β -Thalassemias and Hemoglobin Variants. *Hemoglobin* 2016; 40: 335-40.
5. Prasertwatanakorn W, Vattanaviboon P, Rerksngarm T. The effect of thalassemia and abnormal hemoglobins on HbA1c assay by ion exchange HPLC, boronate affinity chromatography and immunoassay. *J Med Assoc Thai* 2016; 44: 5842-53. (in Thai)
6. Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, *et al.* Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. *Clin Chim Acta* 2016; 455: 80-3.



7. Little RR, La'ulu SL, Hanson SE, Rohlfing CL, Schmidt RL. Effect of 49 different rare Hb variants on HbA1c measurement in eight methods. *J Diabetes Sci Technol* 2015; 9: 850-6.
8. Lin CN, Emery JT, Little RR, *et al.* Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of HbA1c by six methods. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 819-21.
9. Mongia SK, Little RR, Rohlfing CL, *et al.* Effects of hemoglobin C and S traits on the Results of 14 commercial Glycated Hemoglobin Assay. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 136-40.
10. Choosongsang P, Muenniam B, Choosongsang P, Petklian W, Sriwimol W. Frequency of hemoglobinopathies reported with HbA1c results in diabetic patients in Songklanagarind Hospital. *J Med Tech Assoc Thai* 2023; 51: 8434-42. (in Thai)
11. Chusongsang P, Musigawan P, Wannapong N, Musow A, Apirakthunyakorn P. Comparative study of HbA1c measurement using EDTA blood vs. NaF blood. *Songkla Med J* 2005; 23: 73. (in Thai)
12. Boonlert W, Narakantha P, Onseng S, Yamphochai S, Nuanmuang N, Moophrasit K. Hemoglobin A1c levels obtained from EDTA, lithium heparin, lithium heparin plus glycerides, and sodium fluoride blood samples. *Songkla Med J* 2010; 28: 107-16. (in Thai)
13. Pongruea P, Teerajetgul Y. Comparative study of HbA1c levels in EDTA blood versus lithium-heparinized blood determined by boronate affinity chromatography method. *J Med Tech Assoc Thai* 2021; 49: 7963-74. (in Thai)
14. Nonglak Wiratchai. (2555). Determining sample size and interesting new statistical analyses. [on the internet]. [cited 2023 Jun 20]. Available from: <http://llskill.com/web/files/GPower.pdf>. (in Thai)
15. Westgard QC. 2025 CLIA Acceptance Limits for Proficiency Testing [Internet]. Westgard QC; 2024 [cited 2025 Mar 28]. Available from: <http://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/2024-clia-requiremen>.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of precision and estimation of bias; approved guideline-3rd ed. Wayne, PA: CLSI; 2014. CLSI document EP15-A3.
17. Weykamp C, Siebelder C. Evaluation of Performance of Laboratories and Manufacturers Within the Framework of the IFCC model for Quality Targets of HbA1c. *J Diabetes Sci Technol*. 2018; 12: 747-52.
18. Weykamp C. The new era of accuracy in HbA1c measurement. *Ann Lab Med* 2013; 33: 393-400. doi:10.3343/alm.2013.33.6.393.
19. Allison F, Stephen D. Effect of different anti-coagulants on the accuracy of glycated haemoglobin results. *Asian J Med Health* 2019; 16: 1-5.
20. Sarmah D, Sharma B. A comparative evaluation of HbA1c measurement in different anticoagulant vials and its stability on storage. *Int J Curr Res Rev* 2013; 5: 1-7.
21. Sanford KW, McPherson RA. Preanalysis. In: McPherson RA, Pincus MR. editors. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. Philadelphia: Elsevier, 2011; 24-36.
22. Haverstick DM, Jones PM. Specimen collection and processing. In: Rifal N, Horvath AR, Wittwer CT. editors. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2018; 6: 70-2.
23. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), 2024. [home page on Internet]. HbA1c Assay Interferences; [cited 2025 Feb 20]. Available from: <http://www.ngsp.org/interf.asp>.