

## การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c โดยใช้เลือดจากหลอด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay

จินตนา เตชาพิทักษ์ เทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก

โรงพยาบาลศูนย์สกลนคร อำเภอเมืองสกลนคร 47000

### บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์:** เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA blood และ Li-Heparin Blood ในผู้เข้ารับบริการโรงพยาบาลสกลนคร ด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay

**วัสดุและวิธีการศึกษา :** การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง เพื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay โดยใช้เครื่อง Cobas 6000 ที่ใช้ตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood โดยใช้ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวันของผู้เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสกลนคร ที่มีการส่งตรวจระดับ HbA1c จากหลอดตัวอย่าง EDTA Blood และมีการส่งเจาะหลอดเลือด Li-Heparin Blood ในวันและเวลาเดียวกัน จำนวน 370 ตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้สถิติ Kolmogorov Smirnov test (KS test) ถ้าค่า  $p \geq 0.05$  ถือว่าข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ (normal distribution) ทดสอบความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood โดยใช้สถิติ Pearson correlation กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ และใช้สถิติ Spearman's correlation กรณีข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ทดสอบความแตกต่างของระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood โดยใช้สถิติ Pair T- test กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ และใช้สถิติ Wilcoxon Signed Rank Test กรณีข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ค่าพหุคูณค่าทางสถิติใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูปกำหนดค่านัยสำคัญ  $P < 0.05$

**ผลการศึกษา :** พบว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c เท่ากับร้อยละ 7.25 และ 7.23 ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 2.38 และ 2.37 และเมื่อนำมาทดสอบหาความแตกต่างโดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่าระดับ HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p=0.237(p > 0.05)$  โดยค่าที่ได้จากหลอดเลือดทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์กันดี ( $r=0.9901$ )

**ข้อสรุป :** สามารถใช้ตัวอย่างเลือดจาก Li-Heparin Blood แทน EDTA Blood ในการตรวจวัดระดับ HbA1c ด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay โดยต้องตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน

**คำสำคัญ :** ฮีโมโกลบินเอวันซี, ลิเฮียมเฮปาริน, อีดีทีเอ, Turbidimetric Inhibition Immunoassay

## Comparative Study of HbA1c levels Measurement using EDTA Blood and By Turbidimetric Inhibition Immunoassay

Jintana Dechapitak, Medical Technologist

Department of Medical Technology and Clinical Pathology,

Sakon Nakhon Hospital, Muang, Sakon Nakhon 47000.

### Abstract

**Objective:** The objective of this study was to compare the HbA1c levels measured from EDTA blood samples and Li-Heparin blood samples of patients at Sakon Nakhon Hospital using the Turbidimetric Inhibition Immunoassay method.

**Materials and Methods:** This experimental study aimed to compare HbA1c levels measured using the Turbidimetric Inhibition Immunoassay principle with the Cobas 6000 analyzer. The study used residual blood samples from routine tests of patients at Sakon Nakhon Hospital who had HbA1c tests ordered from both EDTA blood and Li-Heparin blood samples on the same day and time. A total of 370 samples were collected. Data analysis and statistical tests were performed. The distribution of data was tested using the Kolmogorov-Smirnov test (KS test), and if  $p \geq 0.05$ , the data were considered normally distributed. Pearson correlation was used to test the relationship between HbA1c levels from EDTA blood and Li-Heparin blood for normally distributed data, while Spearman's correlation was used for non-normally distributed data. The difference in HbA1c levels from EDTA blood and Li-Heparin blood was tested using a paired t-test for normally distributed data and the Wilcoxon Signed Rank Test

**Corresponding :** fahplien@gmail.com

**Received :** December 2024

**Accepted :** 14 March 2025

วารสารโรงพยาบาลนครพนม

ปีที่ 12 ฉบับที่ 1

E 277504

for non-normally distributed data. Statistical analyses were performed using statistical software, with significance set at  $p < 0.05$ .

**Results:** The average HbA1c levels measured from EDTA blood and Li-Heparin blood were 7.25% and 7.23%, respectively, with standard deviations of 2.38% and 2.37%. A t-test was used to test the difference between the two methods, and no significant difference was found ( $p = 0.237$ ,  $p > 0.05$ ). The results from both blood sample types showed a strong correlation ( $r = 0.9901$ ).

**Conclusion:** Li-Heparin blood samples can be used as an alternative to EDTA blood samples for HbA1c measurement using the Turbidimetric Inhibition Immunoassay method, as long as the analysis is performed within the same day.

**Keywords:** HbA1c, Li-Heparin Blood , EDTA Blood, Turbidimetric Inhibition Immunoassay

**ความสำคัญ**

โรคเบาหวานเป็นปัญหาสาธารณสุขที่คุกคาม สุขภาพคนไทยเพิ่มขึ้นทุกปี<sup>(1)</sup> และเป็นโรคเรื้อรังที่ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพของผู้ป่วยในหลายๆด้าน โดยเกิดจากความผิดปกติของระบบเมแทบอลิซึม หรือความผิดปกติของตับอ่อนในการสร้างฮอร์โมนอินซูลินซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ทำให้เกิดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง และหากไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เหมาะสมจะก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่อระบบต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจโคโรนารี ซึ่งผู้ป่วยเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจโคโรนารีมากถึง 2-9 เท่า เสี่ยงต่อการเกิดภาวะหัวใจวายซึ่งเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆ ในผู้ป่วยเบาหวาน โรคเส้นเลือดในสมองตีบนำมาซึ่งภาวะอัมพฤกษ์อัมพาต โรคไตวายเรื้อรังซึ่งเกิดขึ้นถึงร้อยละ 44 ของผู้ป่วยเบาหวาน โรคเบาหวานขึ้นจอประสาทตาซึ่งเกิดขึ้นถึงร้อยละ 31 ของผู้ป่วยเบาหวาน ให้นำมาซึ่งภาวะตาบอดการเกิดแผลที่เท้าซึ่งเป็นปัญหาเรื้อรังที่พบบ่อย และเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นสาเหตุระดับต้นๆ ในการเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล และตามมาด้วยการตัดเท้าหรือขา ภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวานมักเกิดมากขึ้นเป็นสัดส่วนตามระดับน้ำตาลที่สูงเกินค่าปกติ ทำให้เป้าหมายหลักในการรักษาเบาหวานคือการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและปัจจัยเสี่ยงสุขภาพได้ตามกำหนด เพื่อป้องกันและชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อน ซึ่งจะนำมาซึ่งภาวะพิการหรือทุพพลภาพ การเสียชีวิต และผลกระทบทางเศรษฐกิจ International Diabetes Federation (IDF) ได้รายงานยอดผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกที่มีอายุตั้งแต่ 20-79 ปี ในปี พ.ศ. 2562 พบมากกว่า 463 ล้านราย ซึ่งคาดว่าจะมีผู้ป่วยเบาหวาน 578 ล้านรายในปี พ.ศ. 2573 และ 700 ล้านรายในปี พ.ศ. 2588<sup>(2-4)</sup>

ในประเทศไทยตามข้อแนะนำของสมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยใช้การตรวจระดับน้ำตาลกลูโคสในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน และใช้ค่า HbA1c ในการตรวจติดตามการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วย Hemoglobin A1c (HbA1c) เป็นส่วนหนึ่งของ Glycated Hemoglobin ที่มีโมเลกุลของกลูโคสจับอยู่กับ N-terminal ของกรดอะมิโน Valine ของสาย  $\beta$ -globin อย่างถาวร HbA1c เป็นส่วนหนึ่งใน HbA ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินส่วนใหญ่ในเม็ดเลือดแดงปกติ (HbA ประมาณ 96-97.5 %, HbA2 ประมาณ 2.2-3.4 % และ HbF น้อยกว่า 1% ในคนปกติระดับของ HbA1c จะสะท้อนถึงระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในช่วง 2-3 เดือนที่ผ่านมา ทำให้สามารถนำมาใช้ในการติดตามควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานได้<sup>(17)</sup>

เป้าหมายของการรักษาโรคเบาหวานคือ ผู้ป่วยโรคเบาหวานสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้ใกล้เคียงกับภาวะปกติมากที่สุด สามารถดำรงชีวิตได้อย่างมีความสุข นอกจากนี้การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด จะช่วยลดการเกิดภาวะแทรกซ้อนแบบเรื้อรังที่อาจเกิดขึ้นทั้งทางตา ไต ระบบประสาทส่วนปลาย หัวใจ หลอดเลือด และภาวะแทรกซ้อนเฉียบพลันชนิดอื่น อาทิเช่น ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ หรือภาวะน้ำตาลในเลือดสูงรุนแรง โดยแนวทางการตรวจติดตามผู้ป่วยเบาหวานมีความแตกต่างกันตามระดับการควบคุมเบาหวาน ซึ่งการตรวจหาระดับน้ำตาลสะสมในเลือดหรือที่เรียกว่าการตรวจหาระดับฮีโมโกลบินเอวันซี

hemoglobin A1c (HbA1c) จัดเป็นหนึ่งในวิธีของแนวทางเวชปฏิบัติ สำหรับโรคเบาหวาน พ.ศ.2557 ที่กำหนดไว้ เพื่อช่วยในการวินิจฉัย ติดตามผลการรักษา หรือประเมินผลการควบคุมระดับกลูโคสในผู้ป่วยเบาหวาน หากค่าเท่ากับหรือมากกว่า 6.5% ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน<sup>(5)</sup>

นิยมใช้ระดับ HbA1c ในการควบคุมโรคเบาหวานกรณี(1) การตรวจกลูโคสในปัสสาวะให้ข้อมูลไม่เพียงพอ 2) ระดับพลาสมากลูโคสของผู้ป่วยในแต่ละวัน และระหว่างวันมีความแปรปรวนมาก 3) ผู้ป่วยแรกเริ่มเป็นโรคเบาหวานและต้องการคำแนะนำในการควบคุม 4) ต้องการยืนยันให้ผู้ป่วยเห็นว่าสามารถควบคุมตัวเองได้ดี โดยยืนยันระดับของ HbA1c กับอาการทางคลินิกที่ปรากฏว่าดี 5) ผู้ป่วยละเลยการควบคุมและต้องการเตือนผู้ป่วยให้เคร่งครัดเรื่องการควบคุมมากขึ้น 6) ผู้ป่วยตั้งครุฑและจำเป็นต้องมีการควบคุมโรคเบาหวานอย่างใกล้ชิด เป็นต้น ปัจจัยที่จะทำให้ระดับของ HbA1c เปลี่ยนแปลงไปได้ คือในกรณีที่ผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานร่วมกับโรค hemolytic ที่เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้นกว่าปกติหรือมีการทำลายเม็ดเลือดแดงมากกว่าปกติเช่น ธาลัสซีเมีย ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ จะทำให้การวิเคราะห์ระดับ HbA1c ผิดพลาดไป คนปกติจะมี HbA1c ประมาณร้อยละ 4.8-6.8 ค่า HbA1c ที่ระดับร้อยละ 6.5 - HbA1c 8.5 บ่งว่าผู้ป่วยควบคุมโรคเบาหวานได้ดี แต่ถ้าระดับสูงกว่าร้อยละ 12 แสดงว่าการควบคุมโรคเบาหวานของผู้ป่วยไม่ดี ระดับของ HbA1c อาจสูงถึงร้อยละ 30 ได้ ถ้าไม่มีการควบคุมโรค<sup>(3)</sup>

ปัจจุบันวิธีการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการส่วนใหญ่ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ได้แก่ HPLC, affinity chromatography, immunoassay หรือ enzymatic assay สิ่งส่งตรวจที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เป็นเลือดรวมที่ใช้ ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นสารกันเลือดแข็ง ที่เรียกว่า EDTA blood<sup>(3, 8, 9)</sup>

โดยสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA นิยมใช้เป็นสารกันเลือดแข็งมากที่สุดทางโลหิตวิทยา เนื่องจากมีคุณสมบัติจับกับแคลเซียมเอาไว้ ซึ่งแคลเซียมจำเป็นสำหรับกระบวนการแข็งตัวของเลือด ทำให้เลือดไม่แข็งตัว และยังใช้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c เนื่องจากสามารถรักษาสภาพเม็ดเลือดได้ดี แต่พบว่าหากเจาะเลือดได้ปริมาตรต่ำกว่าสัดส่วนเลือดต่อสารกันเลือดแข็งที่กำหนดจะทำให้เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนรูปร่างและเสื่อมสภาพได้ ส่วนสารกันเลือดแข็งชนิด Heparin จะยับยั้งการเกิด thrombin ทำให้ไม่เกิดการแข็งตัวของเลือด และมักใช้ในการตรวจวิเคราะห์ด้านเคมีคลินิกเนื่องจากสามารถลดการแตกของเม็ดเลือดแดงนอกร่างกายได้ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการจับกับสารอื่นต่ำ รักษาสมดุลของน้ำในและนอกเซลล์ได้ดี มีไอออนประจุบวกต่ำ จึงเหมาะสำหรับเป็นสารกันเลือดแข็งเพื่อตรวจวัดไอออน เช่น การตรวจหาโซเดียม ในงานเคมีคลินิกอีกด้วย<sup>(10-13)</sup>

ปัจจุบันโรงพยาบาลสกลนคร อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร มีผู้เข้ารับบริการในคลินิกเบาหวานเป็นจำนวนมาก และส่วนใหญ่แพทย์ส่งตรวจหาระดับ HbA1c ควบคู่กับระดับกลูโคสในเลือด รวมทั้งดูผลทางเคมีของค่าเลือดตัวอื่นไปพร้อมกัน หรือแม้กระทั่งผู้เข้ารับบริการตรวจสุขภาพในโรงพยาบาลที่มีการตรวจหา

ระดับ HbA1c ร่วมด้วย นอกจากนี้โรงพยาบาลสกลนครยังให้บริการตรวจเลือดให้กับหน่วยสุขภาพจากภายนอกที่มีการตรวจติดตามระดับ HbA1c ในผู้ป่วยเบาหวาน ซึ่งปัญหาที่พบบ่อยของการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c คือ ผู้เจาะเลือดอาจลืมเจาะสำหรับหลอด EDTA Blood ด้วยไม่เห็นว่าเป็นแพทย์ได้ส่งตรวจระดับ HbA1c หรือคนใช้บางรายไม่สามารถเจาะเลือดได้ในปริมาณที่ต้องการทำให้ไม่เพียงพอต่อการแบ่งใส่หลอดเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งครบทุกชนิด และในบางกรณีแพทย์ส่งตรวจระดับ HbA1c เพิ่มเติมหลังจากที่มีการเจาะเลือดในหลอด Lithium Heparin ไปแล้ว ทำให้ต้องเจาะเลือดผู้ป่วยซ้ำ ส่งผลต่อความพึงพอใจของผู้รับบริการ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการลดจำนวนการใช้หลอดเลือดที่บรรจุสารกันเลือดแข็ง โดยการตรวจวิเคราะห์หาระดับ HbA1c ที่สามารถทดแทนทั้งหลอดบรรจุสารกันเลือดแข็ง EDTA Blood และ Li-Heparin Blood หากผลการศึกษาให้ผลดีอาจช่วยลดค่าใช้จ่ายหรือลดการเจาะเลือดของผู้มารับบริการได้ และอาจใช้ตอบสนองการให้บริการเชิงรุกสำหรับการออกหน่วยตรวจสุขภาพได้อีกทางหนึ่ง

### วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง เพื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay โดยใช้เครื่อง Cobas 6000 ที่ใช้ตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood โดยได้รับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์โรงพยาบาลสกลนคร เลขที่ SKNH REC No.048/2567

### ตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวันของผู้เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสกลนครที่มีการส่งตรวจระดับ HbA1c จากหลอดตัวอย่าง EDTA Blood และมีการส่งเจาะหลอดเลือด Li-Heparin Blood ในวันและเวลาเดียวกัน จำนวน 370 ตัวอย่าง วิจัย การศึกษา ตรวจวัดระดับ HbA1c จากหลอดตัวอย่าง Li-Heparin Blood ที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวัน ที่มีผลการตรวจระดับ HbA1c จากตัวอย่าง EDTA Blood ในรายเดียวกันด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay และวิเคราะห์ข้อมูลการตรวจวัดระดับ HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ แบ่งเป็นข้อมูล 3 กลุ่มตามระดับ HbA1c เป้าหมายการควบคุมเบาหวานของแนวทางเวชปฏิบัติ คือ กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวดมาก  $HbA1c < 6.5$ , กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด  $HbA1c = 6.5-6.9$  และกลุ่มที่มีการควบคุมไม่เข้มงวด  $\geq 7$  การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้สถิติ Kolmogorov Smirnov test (KS test) ถ้าค่า  $p \geq 0.05$  ถือว่าข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ (normal distribution) ทดสอบความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood โดยใช้สถิติ Pearson correlation กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ และใช้สถิติ Spearman's correlation กรณีข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่

ปกติ ทดสอบความแตกต่างของระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood โดยใช้สถิติ Pair T- test กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ และใช้สถิติ Wilcoxon Signed Rank Test กรณีข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ คำนวณค่าทางสถิติใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป กำหนดค่านัยสำคัญ  $P < 0.05$

**ผลการศึกษา**

ผลการศึกษากการตรวจวัดระดับ HbA1c ของผู้เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสกลนครจำนวน 370 ราย ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ของผู้เข้ารับบริการรายเดียวกัน ซึ่งเจาะเก็บตัวอย่างเลือดพร้อมกัน พบค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 7.25 และ 7.23 ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ ร้อยละ 2.38 และ 2.37 และเมื่อนำมาทดสอบหาความแตกต่างโดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่าระดับ HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p=0.237 (p > 0.05)$  ดังแสดงใน Table 1 ส่วนผลการทดสอบหาความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9901 ซึ่งมีความสัมพันธ์เป็นอย่างดี ดังแสดงใน Fig. 1

Table 1 : The statistic description of HbA1c values from EDTA Blood and Li-heparin Blood

Sample ( n=370)	Mean (%)	SD (%)	Minimum (%)	Maximum (%)
EDTA Blood	7.2597	2.3771	4.00	18.80
Li-heparin Blood	7.2391	2.3739	4.00	19.17

\*  $p=0.237 (p > 0.05)$

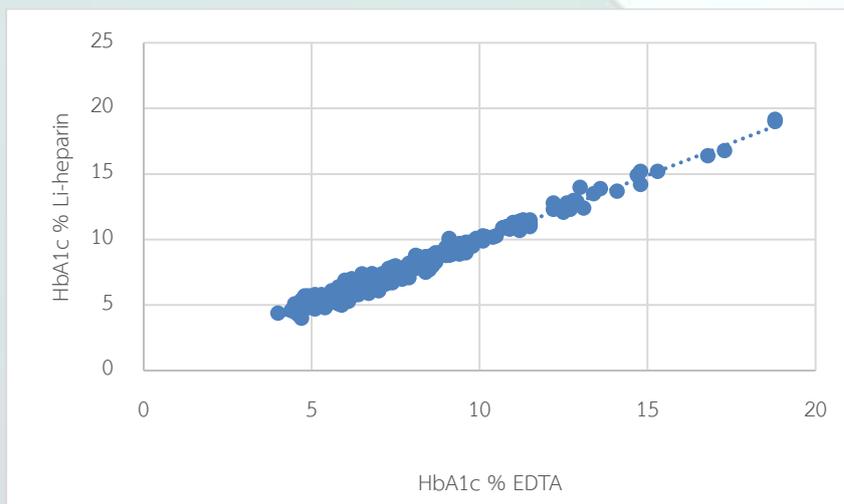


Fig.1 Correration of HbA1c value between EDTA Blood and Li-heparin Blood determinate by Turbidimetric Inhibition Immunoassay .

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลตามระดับ HbA1c แบ่งเป็นข้อมูล 3 กลุ่ม ตามระดับ HbA1c เป้าหมายการควบคุมเบาหวานของแนวทางเวชปฏิบัติ คือ กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวดมาก HbA1c < 6.5, กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด HbA1c = 6.5-6.9 และกลุ่มที่มีการควบคุมไม่เข้มงวด HbA1c ≥ 7 พบว่าในกลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวดมาก ( HbA1c < 6.5 ) มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 171 ตัวอย่าง ค่าเฉลี่ยระดับ HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood เท่ากับร้อยละ 5.57 และ 5.60 ( ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 0.49 และ 0.51 ตามลำดับ ) กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด (HbA1c = 6.5-6.9) จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 49 ตัวอย่าง ค่าเฉลี่ยระดับ HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood เท่ากับร้อยละ 6.69 และ 6.63 (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 0.13 และ 0.34 ตามลำดับ) และกลุ่มที่มีการควบคุมไม่เข้มงวด (HbA1c ≥ 7) จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 150 ตัวอย่าง ค่าเฉลี่ยระดับ HbA1c ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood เท่ากับร้อยละ 9.36 และ 9.30 (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 2.43 และ 2.48 ตามลำดับ) จากนั้นทดสอบหาความแตกต่างโดยใช้สถิติ t-test ของทั้ง 3 กลุ่ม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าระดับ HbA1c ราย ที่ได้จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value เท่ากับ 0.224, 0.186 และ 0.075 ตามลำดับ) ดังแสดงใน Table 2.

ส่วนผลการทดสอบหาความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยแบ่งข้อมูลตามกลุ่มการควบคุมเบาหวาน 3 กลุ่ม พบว่าควบคุมเข้มงวดมาก (HbA1C < 6.5) และกลุ่มที่มีการควบคุมไม่เข้มงวด (HbA1C ≥ 7) พบว่ามีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับดี ( r = 0.8117 และ 0.9899 ตามลำดับ ) กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด (HbA1C = 6.5-6.9) มีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับอ่อน ( r = 0.2795 )

**Table 2.** The statistic description of HbA1c values from EDTA Blood and Li-heparin Blood ( Classified by group )

Parameter	HbA1c (%)					
	HbA1C < 6.5 (n=171)		HbA1C = 6.5-6.9 (n=49)		HbA1C ≥ 7 (n=150)	
	EDTA	Li-heparin	EDTA	Li-heparin	EDTA	Li-heparin
Mean (%)	5.57	5.56	6.69	6.63	9.36	9.30
SD (%)	0.49	0.51	0.13	0.34	2.43	2.48
Minimum (%)	4.00	4.00	6.50	5.90	7.00	6.10
Maximum (%)	6.40	7.00	6.90	7.40	18.80	19.70
p-value	0.224		0.186		0.075	

อภิปราย

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c โดยใช้เลือดจากหลอด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay ของผู้เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสกลนครที่มีนัดตรวจติดตามอาการ, ตรวจหาระดับการควบคุมเบาหวาน หรือเข้ามาตรวจสุขภาพ ถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือดทั้งสองชนิด คือหลอด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood สำหรับการตรวจวิเคราะห์ ระดับ HbA1c ด้วยหลอดตัวอย่าง EDTA Blood ต้องเจาะเลือดผู้ป่วย ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แต่นำ ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ เพียง 5 ไมโครลิตร ในขณะที่ตัวอย่างเลือดจากหลอด Li-Heparin Blood สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ได้หลายรายการ ผลการศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในหลอดตัวอย่าง EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ตรวจวัดด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay ด้วยเครื่องตรวจ วิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas 6000 ของผู้เข้าใช้บริการโรงพยาบาลสกลนคร จำนวนทั้งหมด 370 ตัวอย่าง พบว่าระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดจากหลอด EDTA Blood มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า ในตัวอย่างเลือด Li-Heparin Blood คือมีค่าเฉลี่ย เท่ากับร้อยละ 7.25 และ 7.23 และค่า SD เท่ากับ 2.38 และ 2.37 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยสถิติ t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ( $p = 0.237$ ) ถึงแม้จะแยกวิเคราะห์ความแตกต่างตามกลุ่มการควบคุมเบาหวาน คือ กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวดมาก ( $HbA1c < \text{ร้อยละ } 6.5$ ) กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด ( $HbA1c = \text{ร้อยละ } 6.5-6.9$ ) และกลุ่มที่มีการควบคุมไม่เข้มงวด ( $HbA1c \geq \text{ร้อยละ } 7.0$ ) ก็ยังพบว่า ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน  $p$ -value เท่ากับ 0.224, 0.186 และ 0.075 ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากปฏิกิริยาการเกิด HbA1c เป็น ปฏิกิริยาไม่ใช้เอนไซม์ที่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ จึงมีความเสถียรมาก (10-13) การศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจวิเคราะห์ ภายในวันเดียวกัน หลังจากที่มีการเจาะเก็บตัวอย่าง จึงอาจทำให้ระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือดที่ใส่สารกันเลือดแข็งทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นกรณีที่แพทย์สั่งตรวจ HbA1c เพิ่มเติมหลังจากเจาะเลือดชนิดลิเทียมเฮปาริน ไปแล้ว ภายในวันเดียวกันจะสามารถใช้ตัวอย่างเลือดจากลิเทียมเฮปารินมาตรวจวัดระดับ HbA1c ได้

ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของเพ็ญศิริ ชูสงแสง และคณะ ในปี พ.ศ.2547 ที่ได้ตรวจวัดปริมาณ HbA1c ใน NaF blood โดยเก็บตัวอย่างเลือดที่เป็น EDTA blood และ NaF blood จากผู้ป่วยรายเดียวกันจำนวน 212 ราย นำมาวิเคราะห์ปริมาณ HbA1c โดยวิธี turbidimetric inhibition immunoassay ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ HbA1c ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และค่าที่ได้จากทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กันดี ( $r=0.9994$ ) และสรุปได้ว่าสามารถใช้ NaF blood มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณ HbA1c ได้ (18)และในปี พ.ศ. 2553 วันวิสาข์ บุญเลิศ และคณะ(19) ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือด ที่ใส่สารกันเลือดแข็งชนิดอีทีทีเอกับลิเทียมเฮปาริน , อีทีทีเอกับลิเทียมเฮปารินที่ผสมอยู่กับกลีเซอรอลดีไฮด์ และอีทีทีเอกับโซเดียมฟลูออไรด์ โดยใช้เครื่อง Cobas C111 หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) และเครื่อง Bio Rad D-10 หลักการ HPLC

Corresponding : fahplien@gmail.com

Received : December 2024

Accepted : 14 March 2025

วารสารโรงพยาบาลนครพนม

ปีที่ 12 ฉบับที่ 1

E 277504

โดยใช้ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วย เบาหวาน 30 ราย และผู้ที่มีสุขภาพดี 5 ราย พบว่า ความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจด้วยเครื่อง Cobas C111 และ เครื่อง Bio-Rad D-10 ในแต่ละ ตัวอย่างไม่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์กันระดับดี และสอดคล้องกับการศึกษาของ พัชรียา ป่องเรือ <sup>(20)</sup> ในปี พ.ศ.2564 ที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในเลือดที่ใช้ EDTA และ Lithium-heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ตรวจวัดโดยวิธี Boronate Affinity Chromatography ในผู้ป่วยเบาหวานโรงพยาบาลโคกสูง จังหวัดสระแก้ว จำนวน 90 ราย ที่มีค่า HbA1c ช่วงร้อยละ 4-14 เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือดทั้ง 2 ชนิด พบว่าระดับ HbA1c ในเลือดชนิดฮีโมไลนและชนิดลิเทียมเฮปารินมีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้

### ข้อสรุป

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c โดยใช้เลือดจากหลอด EDTA Blood และ Li-Heparin Blood ของผู้เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสกลนคร จังหวัดสกลนคร จำนวนทั้งหมด 370 ตัวอย่าง ที่ตรวจวัดด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay โดยใช้เครื่อง Cobas 6000 มีระดับ HbA1c ไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) สรุปว่าสามารถใช้ตัวอย่างเลือดจาก Li-Heparin Blood แทน EDTA Blood ในการตรวจวัดระดับ HbA1c ด้วยหลักการ Turbidimetric Inhibition Immunoassay โดยต้องตรวจวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน

### คำขอบคุณ

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้ทำการศึกษขอขอบคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลสกลนคร หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิกและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิกที่สนับสนุนในการทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้และทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

บรรณานุกรม

1. Diabetes Association of Thailand Department of Medicine. Clinical Practice Guideline for Diabetes 2017. 2nd ed. Romyen Media Ltd., 2017: 9.
2. Classification of diabetes mellitus. World Health Organization. 2019: 6-15.
3. Sacks DB. Diabetes Mellitus. In: Rifal N, Horvath AR, Wittwer CT. editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2018:1160-94.
4. Nadkarni P, Weinstock RS. Carbohydrates. In: McPherson RA, Pincus MR. editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Elsevier. 23rd ed. St. Louis, Missouri: 2017: 209-12.
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 HbA1c 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. Rhea JM and Molinaro R. Pathology Consultation on HbA1c Methods and Interferences; 2014; 141: 8-13.8.
9. Weykamp C. HbA1c: A Review of Analytical and Clinical Aspects. Ann Lab Med 2013; 33: 393-5.
10. Jury C, Yutaka Y, Noriyuki N. In. Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM. Editors. Collection and handling of blood. Dacie and Lewis practical haematology. 11st ed. Elsevier: 2012: 6-7.
11. 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.

12. Lifshitz MS. Preanalysis. In: McPherson RA, Pincus MR. editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Elsevier. 23rd ed. St. Louis, Missouri: 2017: 24-5.
13. Marlon LB, Prasanna Tadi. Laboratory Tube Collection. StatPearls Publishing; 2021; PMID: 32310451
14. Royal College of Internal Medicine of Thailand, Diabetes Association of Thailand, The Endocrine Society of Thailand, Department of Medical Services, Ministry of Public Health and National Health Security Office. Practice Guidelines for Diabetes 2014. Bangkok: Arun printing; 2014. (in Thai).
15. Cressey,R. Diabetes:Basicknowledgeand related laboratory tests. Chiang Mai: Department of Medical Technology Chiang Mai University; 2015. (in Thai).
16. Cas Weykamp. HbA1c: Review of analytical and clinical aspects. Ann Lab Med 2013.
17. สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย สหิตติเบาหวานทั่วโลก [เข้าถึงเมื่อ 10 กันยายน 2567].เข้าถึงจาก: [http://i-regist.igenco.co.th/web/dmthai\\_old/sites/default/files/idf\\_atlas\\_2015\\_uk\\_0.pdf](http://i-regist.igenco.co.th/web/dmthai_old/sites/default/files/idf_atlas_2015_uk_0.pdf)
18. Chusongsang P, Musigawan P, Wannapong N, et al. Comparative study of HbA1c measurement using EDTA blood vs.NaF blood. Songkla Med J 2005; 23:73-79.
19. Boonlert W, Narakantha P, Onseng S, Yamphochai S, Nuanmuang N, Mooph prasit 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)
20. Pongruea P, Teerajetgul Y. Comparative Study of HbA1c Levels in EDTA Blood Versus Lithium-heparinized Blood Determined by Boronate Affinity Chromatography Method. Med Tech Assoc Thailand 2021; 49:7965-7974. (in Thai)