

## การจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพ เพื่อการเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด

สาคร วันทอง<sup>1,2</sup> กุลนภา พุเจริญ<sup>3\*</sup> เชี่ยวชาญ สระคูพันธ์<sup>2</sup> กนกวรรณ แสนไชยสุริยา<sup>3</sup>  
ณัฐยา แซ่อึ้ง<sup>3</sup> สุพรรณ พุเจริญ<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด เป็นโรงพยาบาลที่ดำเนินงานตามแผนการส่งเสริม ป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของกระทรวงสาธารณสุข การดำเนินงานที่ผ่านมาพบปัญหาจากผลการตรวจคัดกรองไม่สอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินบ่อยครั้ง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพเพื่อการเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KCU-OF และ KCU-DCIP-Clear ของโรงพยาบาล โดยทำการศึกษาใน 3 ระยะ **ระยะที่ 1** เป็นการค้นหาและวิเคราะห์ปัญหาโดยรวมผลการตรวจคัดกรองและผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน จากข้อมูลในปีงบประมาณ 2549 พบผลการตรวจกรอง DCIP เป็นผลบวกลวงร้อยละ 5.4 และผลลบลวงร้อยละ 5.4 แต่ไม่สามารถประเมินผลการตรวจ OF ได้ เนื่องจากไม่มีผลการตรวจยืนยันยีน  $\alpha$ -thalassemia 1 **ระยะที่ 2** จัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพ โดยการให้บุคลากรที่มีหน้าที่รับผิดชอบงานการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย เข้ารับการฝึกอบรมเทคนิคการตรวจและการอ่านผลจากผู้ชำนาญการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น แล้วให้จัดทำคู่มือมาตรฐานการปฏิบัติงาน สำหรับการตรวจคัดกรองด้วยชุดน้ำยาดังกล่าวและประกาศใช้ **ระยะที่ 3** เป็นการประเมินผลการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจ ภายหลังจากการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพ โดยการเก็บรวบรวมตัวอย่างเลือดที่เข้ามารับการตรวจคัดกรองที่โรงพยาบาลทั้งที่ให้ผลบวกและผลลบจำนวน 130 ราย ส่งเข้ารับการตรวจยืนยันที่ ศวป. คณะเทคนิคการแพทย์ พบ  $\alpha$ -thalassemia 1,  $\beta$ -thalassemia และ Hb E ร้อยละ 3.9, 0.8 และ 40.0 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองกับผลการตรวจยืนยันได้ค่า ความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบเท่ากับร้อยละ 100 ร้อยละ 95.5 ร้อยละ 95.0 และร้อยละ 100 ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของโรงพยาบาลเมืองสรวง ได้รับการพัฒนาให้ดีขึ้น ส่งผลให้การดำเนินงานตามแผนการป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ดำเนินต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

**คำสำคัญ :** ธาลัสซีเมีย การตรวจกรอง ระบบควบคุมคุณภาพ OF / DCIP

<sup>1</sup> นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 (หลักสูตรพิเศษ) ปีการศึกษา 2550

<sup>2</sup> โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด

<sup>3</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\* ผู้รับผิดชอบบทความ

## Implementation of quality control system for improvement of thalassemia screening at Maung Saung hospital, Roiet province

Sakorn Wunthong<sup>1,2</sup>, Goonnapa Fucharoen<sup>3\*</sup>, Chaewchan Sakoopan<sup>2</sup>, Kanokwon Sanchaisuriya<sup>3</sup>, Nattaya Sae-ung<sup>3</sup>, Supan Fucharoen<sup>3</sup>

### Abstract

The prevention and control program of thalassemia and hemoglobinopathies has been carried out at Maung Saung Hospital, Roiet province according to the policy of the Ministry of Public Health. Discrepancy between the result of thalassemia screening and confirmatory test is commonly encountered. This study aimed to implement the quality control system at the hospital for improvement of thalassemia and hemoglobinopathies screening using a combined osmotic fragility test (KKU-OF) and dichlorophenolindophenol test (KKU-DCIP-Clear). Study plan was designed and made into 3 phases. In Phase I, a retrospective data in the year 2006 was collected and analyzed to identify to the screening problems. There were 5.4 % false positive and 5.4 % false negative for DCIP test but the effectiveness of OF test could not be determined as  $\alpha$  - thalassemia 1 has not been examined. Phase II was an implementation of quality control system for thalassemia screening. Staffs performing screening tests were re-trained at the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL), Khon Kaen University. Standard operating procedures (SOP) for KKU-OF and KKU-DCIP-Clear were then prepared. Phase III was set to evaluate the effectiveness of screening after implementation of the system. Prospective screening was carried out at Maung Saung hospital on 130 subjects and the remaining blood specimens were sent to the CMDL for further confirmatory tests. Among 130 subjects examined,  $\alpha$  - thalassemia 1,  $\beta$  - thalassemia and Hb E were identified in 3.9 %, 0.8% and 40.0 %, respectively. The sensitivity, specificity, positive predictive and negative predictive values were found to be 100 %, 95.5 %, 95.0 % and 100 %, respectively. This result indicates that thalassemia and hemoglobinopathies screening at Maung Saung Hospital has been improved which should consequently lead to a more effective prevention and control program.

**Key words :** Thalassemia, Screening, Quality control system, OF/DCIP

<sup>1</sup> The 4th year Medical Technology student, Faculty of Associated Medical Sciences,

<sup>2</sup> Maung Srung Hospital, Roiet province

<sup>3</sup> Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kean university

\* Corresponding author (e-mail: goonnapa@kku.ac.th)

## บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นภาวะโลหิตจางกรรมพันธุ์ที่มีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย<sup>(1)</sup> เกิดจากมีความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์สายโกลบิน (globin chain) ทำให้การสังเคราะห์สายโกลบินสายใดสายหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งสายไม่ได้หรือสังเคราะห์ได้ในปริมาณที่น้อยลง ผู้ที่เป็นธาลัสซีเมียชนิดต่างๆจะมีอาการมากน้อยแตกต่างกัน บางชนิดมีอาการรุนแรงและเสียชีวิตก่อนคลอดหรือภายหลังคลอดไม่กี่นาที เช่น กรณีได้รับยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ( $\alpha$  - thalassemia 1) จากทั้งพ่อและแม่เรียกภาวะนี้ว่า ฮีโมโกลบินบาร์ทส์ไฮดรอปส์ฟีทาลิส (Hemoglobin Bart's hydrops fetalis) บางชนิดอาจมีชีวิตอยู่รอด แต่ร่างกายเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ มีอาการซีดมากตั้งแต่เด็ก ระดับฮีโมโกลบินต่ำและต้องได้รับเลือดเป็นประจำ ตับม้ามโตจนอาจต้องตัดออก เช่น Homozygous  $\beta^0$ - thalassemia หรือ  $\beta^0$ - thalassemia / Hb E แต่ถ้าเป็นพาหะจะมีอาการซีดเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ทำให้แยกได้ยากจากคนปกติ แต่มีความสำคัญ เพราะสามารถถ่ายทอดยีนที่ผิดปกติต่อไปได้ เมื่อพาหะเหล่านี้ไปแต่งงานกัน ก็จะมีโอกาสให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้<sup>(2)</sup> เป้าหมายตามแผนงานของโครงการการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของประเทศไทยกำหนดไว้ 3 โรค คือ Hb Bart's hydrops fetalis, Homozygous  $\beta$  -thalassemia และ  $\beta$  - thalassemia / Hb E<sup>(3)</sup> ในการดำเนินงานจึงต้องค้นหาผู้ที่เป็น พาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 พาหะบีตาธาลัสซีเมีย และผู้ที่มีฮีโมโกลบินอี โดยวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้กันมากในการค้นหาพาหะทั้ง 3 ชนิด คือ การทดสอบ OF และ DCIP กรณีที่ให้ผลตรวจกรองอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างเป็นบวก ก็จะทำการตรวจยืนยันโดยการตรวจหาชนิดและปริมาณด้วยวิธีมาตรฐานต่อไป<sup>(4)</sup>

ห้องปฏิบัติการชันสูตรสาธารณสุข โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด ได้ดำเนินการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในกลุ่มผู้รับบริการด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear เมื่อพบผลตรวจ

กรองอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างเป็นบวก จะส่งตัวอย่างเลือดไปยังโรงพยาบาลร้อยเอ็ดเพื่อตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ การตรวจคัดกรองจึงเป็นขั้นตอนสำคัญในการคัดเอาคนปกติหรือผู้ที่มีความผิดปกติชนิดที่ไม่รุนแรงออกไป กระบวนการของการดำเนินการตรวจคัดกรองจึงต้องมีคุณภาพและมาตรฐานที่ดี จากการปฏิบัติงาน การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียตามมาตรฐานการปฏิบัติงานห้องปฏิบัติการชันสูตรสาธารณสุข โรงพยาบาลเมืองสรวงมักพบปัญหาจากผลการตรวจคัดกรองกับผลการตรวจยืนยันไม่สอดคล้องกันบ่อยครั้ง ทำให้เกิดการสับสนในการปฏิบัติงานทั้งจากผู้ปฏิบัติงานและผู้ให้บริการงานห้องปฏิบัติการ ปัญหาที่เกิดขึ้นจำเป็นต้องได้รับการแก้ไขเพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อผู้รับบริการ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการชันสูตรสาธารณสุขจังหวัดร้อยเอ็ด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียให้ดีขึ้นกว่าเดิม

## วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE500231) แบ่งขั้นตอนของการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

### 1. การค้นหาปัญหาและการวิเคราะห์ปัญหา

โดยทำการศึกษาข้อมูลผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ดย้อนหลังไป 1 ปี คือปี พ.ศ. 2549

### 2. จัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรอง

โดยผู้ที่รับผิดชอบการปฏิบัติงานเข้ารับการฝึกอบรมเทคนิคการตรวจคัดกรองที่ถูกต้องจากผู้เชี่ยวชาญแล้วจัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน (Standard Operating Procedure; SOP) การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP แล้วประกาศใช้

### 3. ประเมินผลการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรอง

ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด ภายหลังจากจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพ โดยการเก็บรวบรวมตัวอย่างเลือดที่เข้ามารับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสรวงด้วยชุดนี้ยาสำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP ทั้งที่ให้ผลบวกและผลลบจำนวน 130 ราย ส่งไปรับการตรวจยืนยัน ด้วยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน<sup>(5)</sup> และตรวจยีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย<sup>1(6)</sup> ที่โครงการวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

#### การวิเคราะห์ผลการศึกษา

ทำการวิเคราะห์ปัญหาก่อนการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย จากอัตราการเกิดผลบวกปลอมและอัตราการเกิดผลลบปลอมจากข้อมูลย้อนหลัง 1 ปี และประเมินประสิทธิภาพผลการตรวจคัดกรองอีกครั้งหนึ่งภายหลังจากการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรอง โดยวิเคราะห์ค่า ความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ

### ผลการศึกษา

#### 1. การค้นหาปัญหาและการวิเคราะห์ปัญหา

จากการศึกษาข้อมูลผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจากตัวอย่างเลือดหญิงตั้งครรภ์และบุคคลทั่วไปที่มารับบริการ ณ โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด ในปีงบประมาณ 2549 พบว่า จากหญิงตั้งครรภ์จำนวน 194 ราย พบว่าผลการตรวจคัดกรองด้วย KKU-OF/KKU-DCIP- Clear แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ (- / -) จำนวน 104 ราย (53.6 %) (- / +) จำนวน 19 ราย (9.8 %) (+ / -) จำนวน 31 ราย (16.0 %) และ (+ / +) จำนวน 40 ราย (20.6 %) ส่วนในกลุ่มบุคคลทั่วไปจำนวน 37 ราย มีผลการตรวจคัดกรองด้วย KKU-OF / KKU-DCIP-Clear เป็น (+ / -) จำนวน 9 ราย ผลการตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินเป็น A<sub>2</sub>A 7 ราย EA 2 ราย ผลการตรวจเป็น (- / +) จำนวน 5 ราย มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น EA ทั้ง 5 ราย และผลการตรวจกรองเป็น (+ / +) จำนวน 23 ราย มีผลการตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินเป็น A<sub>2</sub>A 2 ราย EA 18 ราย และ EE 3 ราย (ตารางที่ 1) จากข้อมูลในกลุ่มบุคคลทั่วไปจำนวน 37 ราย เมื่อนำผลการตรวจคัดกรองเปรียบเทียบกับผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินจากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด พบผลการตรวจ DCIP เป็นบวกลวง 2 ราย และผลลบลวง 2 ราย

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองและผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินของบุคคลทั่วไปที่มารับบริการ ณ โรงพยาบาลเมืองสรวง จ.ร้อยเอ็ด ปีงบประมาณ 2549 จำนวน 37 ราย ที่มีผลการตรวจ Hb Typing

OF/DCIP	No.	Hb Typing	%A <sub>2</sub> /E
+/-	7	A <sub>2</sub> A	2.8 ± 0.6
+/-	2	EA	29.9 , 27.5
-/+	5	EA	29.2 ± 3.2
+/+	3	EE	84.1 ± 1.6
+/+	18	EA	29.4 ± 2.0
+/+	2	A <sub>2</sub> A	3.2 , 3.1

## 2. จัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรอง

ได้ดำเนินการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดย

2.1 เชิญบุคลากรทางห้องปฏิบัติการชั้นสูงตรสารณสุข โรงพยาบาลเมืองสรวง ผู้มีหน้าที่รับผิดชอบในการดำเนินงานการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย เข้ารับการฝึกอบรมเทคนิคและวิธีการในการตรวจ KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear โดยผู้ชำนาญการจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2.2 จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน (Standard Operating Procedure; SOP) ของการตรวจด้วยวิธี KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear โดยมีรายละเอียดของมาตรฐานการปฏิบัติงานดังแสดงในภาคผนวก

## 3. การประเมินผลการพัฒนาประสิทธิภาพ

### 3.1 ผลการตรวจคัดกรอง ตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน และตรวจยีน $\alpha$ - thalassemia 1

หลังจากการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียแล้ว ได้ทำการประเมินประสิทธิภาพการตรวจคัดกรอง โดยตรวจตัวอย่างเลือดของผู้มารับ

บริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ณ โรงพยาบาลเมืองสรวง จำนวน 130 ราย ผลการตรวจคัดกรองด้วยน้ำยา KKU-OF / KKU-DCIP-Clear แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ (- / -), (- / +) , (+ / -) และ (+ / +) โดยกลุ่ม (- / -) มีจำนวน 70 ราย มีฮีโมโกลบินเป็นชนิด  $A_2A$  68 ราย และ ConSp  $A_2A$  2 ราย กลุ่ม (- / +) มีจำนวน 31 ราย มีฮีโมโกลบินเป็นชนิด EA จำนวน 30 ราย และ  $A_2A$  จำนวน 1 ราย กลุ่ม (+ / -) จำนวน 7 ราย มีฮีโมโกลบินชนิด  $A_2A$  จำนวน 6 ราย และ  $A_2ABart'sH$  จำนวน 1 ราย และกลุ่ม (+ / +) จำนวน 22 ราย มีฮีโมโกลบินเป็นชนิด EA 13 ราย EE 7 ราย และ EE/EF 2 ราย จากการตรวจชนิดของฮีโมโกลบินพบว่า มีพาหะ  $\beta$ - thalassemia จำนวน 1 ราย ที่มี Hb  $A_2$  เท่ากับ 5.3 % และจากการตรวจยีน  $\alpha$ - thalassemia 1 ชนิด SEA deletion ด้วยวิธี PCR พบผลบวก 5 ราย สรุปการแปลผลการตรวจได้ดัง ตารางที่ 2

### 3.2 อัตราการตรวจพบและความถี่ของยีน $\alpha$ - thalassemia 1 (SEA), $\beta$ -thalassemia และ Hb E

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่ามีอัตราการตรวจพบ  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA) ร้อยละ 3.9 ความถี่ของยีนเท่ากับ 0.019 อัตราการตรวจพบ  $\beta$ -thalassemia ร้อยละ 0.8 มีความถี่ของยีนเท่ากับ 0.004 และอัตราการตรวจพบ Hb E ร้อยละ 40.0 มีความถี่ของยีนเท่ากับ 0.2 (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 2** ผลการตรวจคัดกรอง ตรวจวิเคราะห์โมโนโคลนและตรวจ  $\alpha$  - thalassemia 1 ในตัวอย่าง 130 ตัวอย่าง  
(ตัวเลขในตารางแสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

OF/DCIP	No	Hb Typing	Hb A <sub>2</sub> / E (%)	% Hb F	PCR $\alpha$ - thal 1	Interpretation
-/-	68	A <sub>2</sub> A	2.83 $\pm$ 0.28	0.28 $\pm$ 0.41	Negative	Normal or non-clinically significant thalassemia ( $\alpha$ - thalassemia 2)
-/-	2	ConSp A <sub>2</sub> A	2.9 , 2.6	0.4 , 1.1	Negative	Heterozygous Hb Constant Spring
+/-	2	A <sub>2</sub> A	2.4 , 2.3	0 , 0	Negative	Normal or non-clinically significant thalassemia ( $\alpha$ - thalassemia 2)
+/-	3	A <sub>2</sub> A	2.3 $\pm$ 0.44	0	Positive	Heterozygous $\alpha$ - thalassemia 1
+/-	1	A <sub>2</sub> ABart'sH	1.8	0.6	Positive	Hb H disease
+/-	1	A <sub>2</sub> A	5.3	1.7	Negative	Heterozygous $\beta$ - thalassemia
-/+	1	A <sub>2</sub> A	2.9	0.5	Negative	Normal or non-clinically significant thalassemia ( $\alpha$ - thalassemia 2)
-/+	28	EA	28.77 $\pm$ 1.64	1.36 $\pm$ 0.90	Negative	Heterozygous Hb E either with or without $\alpha$ - thalassemia 2
-/+	1	EA	21.4	0.8	Negative	Heterozygous Hb E with homozygous $\alpha$ - thalassemia 2 (3.7 kb deletion)
-/+	1	EA	23.1	1.0	Negative	Heterozygous Hb E with Hb Pakse'
+/+	9	EA	28.27 $\pm$ 2.30	1.02 $\pm$ 0.56	Negative	Heterozygous Hb E with or without $\alpha$ - thalassemia 2
+/+	3	EA	19.1 $\pm$ 1.65	0.80 $\pm$ 0.70	Negative	Heterozygous Hb E with homozygous $\alpha$ - thalassemia 2 (3.7 kb deletion)
+/+	1	EA	13.7	0	Positive	Heterozygous Hb E with heterozygous $\alpha$ - thalassemia 1
+/+	6	EE	84.72 $\pm$ 3.72	2.98 $\pm$ 0.72	Negative	Homozygous Hb E with or without $\alpha$ - thalassemia 2
+/+	1	EE	79.1	3.3	Negative	Homozygous Hb E with heterozygous $\alpha$ - thalassemia 2 (4.2 kb deletion)
+/+	2	EE/EF	79.0 , 79.0	13.1 , 13.8	Negative	Homozygous Hb E with or without $\alpha$ - thalassemia 2

**ตารางที่ 3** อัตราการตรวจพบและความถี่ของยีน  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA),  $\beta$ -thalassemia และ Hb E ในตัวอย่างที่เข้ารับการตรวจคัดกรองที่โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด จำนวน 130 ตัวอย่าง

Type	No (%)	Gene frequency
$\alpha$ -thalassemia 1 (SEA)	5 (3.9)	0.019
$\beta$ -thalassemia	1 (0.8)	0.004
Hb E	52 (40)	0.2

**3.3 ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP ของโรงพยาบาลเมืองสรวง**

ตารางที่ 4 แสดงค่า ความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ (specificity) ค่าการทำนายผลบวก (positive

predictive value) และค่าการทำนายผลลบ (negative predictive value) ของผลการตรวจคัดกรองเทียบกับผลการวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและการตรวจยีน  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA) ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 100 ร้อยละ 95.9 ร้อยละ 95.0 และร้อยละ 100 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4** ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP ของโรงพยาบาลเมืองสรวง จากตัวอย่างจำนวน 130 ราย

Screening test OF / DCIP		Confirmation test			
		Positive for $\alpha$ -thal 1, $\beta$ -thal , Hb E		Negative for $\alpha$ -thal 1, $\beta$ -thal , Hb E	
+	+/-	5		2	
	-/+	30	57	1	3
	+/+	22	(TP)	0	(FP)
-	-/-	0	0 (FN)	70	70 (TN)

Sensitivity	=	$[57 / (57 + 0)] \times 100$	=	100	%
Specificity	=	$[70 / (70 + 3)] \times 100$	=	95.9	%
Negative Predictive value	=	$[70 / (70 + 0)] \times 100$	=	100	%
Positive Predictive value	=	$[57 / (57 + 3)] \times 100$	=	95.0	%

**3.4 ข้อมูลทางโลหิตวิทยาของธาลัสซีเมียชนิดต่างๆที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้**

ผลจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถแยก thalassemia ในกลุ่มตัวอย่างได้ 11 ชนิดโดยในแต่ละชนิด มีข้อมูลทาง

โลหิตวิทยาที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ ยี่ห้อ Bayer รุ่น ADVIA® 60 ดังแสดงใน ตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ข้อมูลทางโลหิตวิทยาของธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ (ตัวเลขในตารางแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) จำนวน 111 ราย

Thalassemia Genotype (No. of Case)	RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	Hct (%)	Hb (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	Hb Type	Hb A <sub>2</sub> /E (%)	Hb F (%)
Heterozygous $\alpha$ -thalassemia 1 (3)	5.1 $\pm$ 0	34.7 $\pm$ 1.6	11.4 $\pm$ 0.5	68.3 $\pm$ 2.9	22.3 $\pm$ 0.8	32.7 $\pm$ 0.2	14.6 $\pm$ 0.5	A <sub>2</sub> A	2.5 $\pm$ 0.1	0
Heterozygous Hb CS (2)	4.1, 4.8	32.4, 41.2	10.9, 14.3	78.0, 87.0	26.4, 30.0	33.6, 34.6	14.3, 12.1	ConSp A <sub>2</sub> A	2.9, 2.6	0.4, 1.1
Heterozygous $\beta$ -thalassemia (1)	6.1	40.3	12.6	66.0	20.7	31.4	14.5	A <sub>2</sub> A	5.3	1.7
Heterozygous Hb E either with or without $\alpha$ -thalassemia 2 (30)	4.8 $\pm$ 0.7	37.5 $\pm$ 5.4	12.7 $\pm$ 1.7	78.3 $\pm$ 3.5	26.5 $\pm$ 1.4	33.8 $\pm$ 0.9	13.8 $\pm$ 0.8	EA	28.6 $\pm$ 1.8	1.2 $\pm$ 0.8
Heterozygous Hb E										
With heterozygous $\alpha$ -thalassemia 1 (1)	5.2	32.6	10.5	63.0	20.4	32.3	14.1	EA	13.7	0
With homozygous $\alpha$ -thalassemia 2 (4)	5.1 $\pm$ 0.8	37.8 $\pm$ 5.4	12.6 $\pm$ 1.6	73.8 $\pm$ 2.8	24.6 $\pm$ 0.5	33.4 $\pm$ 1.1	13.7 $\pm$ 1.5	EA	19.7 $\pm$ 1.8	0.8 $\pm$ 0.6
With Hb Ps (1)	5.1	36.0	12.2	71.0	23.9	33.9	14.4	EA	23.1	1.0
Homozygous Hb E (6)	5.5 $\pm$ 0.9	37.6 $\pm$ 5.5	12.1 $\pm$ 1.6	68.8 $\pm$ 3.7	22.2 $\pm$ 1.3	32.2 $\pm$ 0.6	13.6 $\pm$ 0.8	EE	84.7 $\pm$ 3.7	3.0 $\pm$ 0.7
Homozygous Hb E (2)	3.8, 3.5	26.8, 24.2	9.0, 8.2	71.0, 70.0	23.6, 23.7	33.4, 34.0	15.5, 14.0	EE/EF	79.0, 79.0	13.8, 13.1
With heterozygous $\alpha$ -thalassemia 2 (1)	4.5	31.0	10.2	67.0	22.5	33.5	14.9	EE	79.1	3.3
Hb H disease (1)	5.8	33.0	9.0	51.0	15.5	30.3	18.6	A <sub>2</sub> ABart'sH	1.8	0.6
Non thalassemia (59)	4.5 $\pm$ 0.6	38.3 $\pm$ 4.6	13.2 $\pm$ 1.5	85.2 $\pm$ 6.8	29.4 $\pm$ 2.9	34.5 $\pm$ 1.0	13.1 $\pm$ 0.9	A <sub>2</sub> A	2.8 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.4

**3.5 ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโดยใช้ค่า MCV or MCH or DCIP ของโรงพยาบาลเมืองสรวง**  
เมื่อคำนวณค่าความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ (specificity) ค่าการทำนายผลบวก (positive predictive value) และค่าการทำนายผลลบ (negative predictive

value) ของผลการตรวจคัดกรองด้วย MCV หรือ MCH ร่วมกับ DCIP เทียบกับผลการวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน และการตรวจยีน  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA) พบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 100 ร้อยละ 80.3 ร้อยละ 80.6 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับดังแสดงใน ตารางที่ 6

**ตารางที่ 6** ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองด้วย MCV < 80 fL or MCH < 27 pg ร่วมกับ DCIP ของโรงพยาบาลเมืองสรวง จำนวน 111 ตัวอย่าง

Screening test MCV < 80 fl or MCH < 27 pg or DCIP positive	Confirmation test	
	Positive for $\alpha$ -thal 1, $\beta$ -thal, Hb E	Negative for $\alpha$ -thal 1, $\beta$ -thal, Hb E
+	50 (TP)	12 (FP)
-	0 (FN)	49 (TN)

Sensitivity	=	$[50 / (50 + 0)] \times 100$	=	100	%
Specificity	=	$[49 / (49 + 12)] \times 100$	=	80.3	%
Negative Predictive value	=	$[49 / (49 + 0)] \times 100$	=	100	%
Positive Predictive value	=	$[50 / (50 + 12)] \times 100$	=	80.6	%

### วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

เป้าหมายหลักของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย คือ การคัดเอาคนปกติหรือมีความผิดปกติชนิดที่ไม่รุนแรง ออกไป เพื่อจะได้ไม่ต้องตรวจเลือดต่อให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ดังนั้นวิธีการตรวจกรองที่ใช้ จึงต้องมีความไวสูง ผลบวกปลอมอาจมีได้บ้างแต่ไม่ควรมีผลลบปลอม ซึ่งโรงพยาบาลชุมชนต่าง ๆ นิยมใช้การทดสอบ OF ร่วมกับการทดสอบ DCIP ในการตรวจ ซึ่งโรงพยาบาลเมืองสรวง

จังหวัดร้อยเอ็ด ก็ได้ใช้การทดสอบ OF ร่วมกับ DCIP ในการตรวจคัดกรองเช่นเดียวกัน แต่มักพบปัญหาผลการตรวจคัดกรองกับผลการตรวจยืนยันไม่สอดคล้องกันบ่อยครั้ง เมื่อทำการค้นหาปัญหาและวิเคราะห์ปัญหาโดยการรวบรวมข้อมูลผลการตรวจคัดกรองย้อนหลัง 1 ปี คือในปีงบประมาณ 2549 ซึ่งมีผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วย จำนวน 37 ราย พบว่ามีผลลบปลอม 2 ราย (5.4 %) และผลบวกปลอม 2 ราย

(5.4 %) จากการตรวจ DCIP แต่ไม่สามารถประเมินผลการตรวจ OF ได้เนื่องจากไม่มีผลการตรวจยืนยัน  $\alpha$ -thalassemia 1 แต่ก็พอจะประเมินจากภาพรวมของผลการตรวจคัดกรองจากจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกและผลลบ ซึ่งใกล้เคียงกับผลการคัดกรองในภูมิภาคเดียวกัน<sup>(4,7)</sup> ได้ว่าปัญหาของการตรวจคัดกรองที่โรงพยาบาลเมืองสรวง ด้วยการทดสอบ OF / DCIP นั้นไม่น่าจะผิดพลาดมากนัก อย่างไรก็ตาม การที่พบผลลบปลอมจากการทดสอบ DCIP ร้อยละ 5.4 นั้นถือว่าไม่ควรเกิดขึ้นประกอบกับที่ผ่านมาโรงพยาบาลเมืองสรวงยังไม่ได้จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน (Standard Operating Procedure; SOP) การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF/DCIP ผู้ปฏิบัติงานจึงเข้ารับการฝึกอบรมเทคนิคการตรวจและการอ่านผลจากผู้ชำนาญการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น แล้วจัดทำ SOP ของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียขึ้นและประกาศใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF / DCIP ของโรงพยาบาล ผู้รับผิดชอบงานที่ผ่านการฝึกอบรมมาแล้วถ่ายทอดเทคนิควิธีการตรวจและวิธีการอ่านผลที่ถูกต้องตามมาตรฐานการปฏิบัติงานที่กำหนด พร้อมทั้งจัดระบบเครื่องมือที่ใช้สำหรับการทดสอบและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชั้นสูตสาหกรรมสูงของโรงพยาบาลเมืองสรวงทุกคน ได้รับการฝึกปฏิบัติก่อนการปฏิบัติงาน แล้วจึงได้ทำการประเมินประสิทธิภาพภายหลังจากการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสรวง โดยศึกษาตัวอย่างเลือดผู้มารับบริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจำนวน 130 ราย เมื่อทำการวิเคราะห์ผลการตรวจคัดกรองด้วยน้ำยาล้ำเรือรูป KKU-OF ร่วมกับ KKU-DCIP-Clear เปรียบเทียบกับผลการตรวจยืนยันพบว่ามีความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ (specificity) ค่าการทำนายผลบวก (positive predictive value) และ ค่าการทำนายผลลบ (negative predictive value) ร้อยละ 100 ร้อยละ 95.9 ร้อยละ 95.0 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับ ไม่แตกต่างจากผลการศึกษาของ

Sanchaisuriya และคณะ<sup>(7)</sup> ซึ่งมีค่าความไวและค่าการทำนายผลลบได้เท่ากับร้อยละ 100 เช่นกัน แสดงให้เห็นว่าไม่มีผลลบปลอมเกิดขึ้นแล้ว ส่วนค่าความจำเพาะและค่าการทำนายผลบวกได้ผลต่างกัน คือ Sanchaisuriya K และคณะ ทำการศึกษาได้ค่าความจำเพาะและค่าการทำนายผลบวกเท่ากับร้อยละ 87.1 และร้อยละ 84.5 ตามลำดับ อาจเป็นเพราะในกลุ่มตัวอย่างที่ Sanchaisuriya K และคณะศึกษานั้น มีภาวะเลือดจางจากสาเหตุอื่นร่วมด้วยมากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาที่โรงพยาบาลเมืองสรวง

นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงที่ได้จากการตรวจด้วยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ ยี่ห้อ Bayer รุ่น ADVIA® 60 จำนวน 111 ตัวอย่างโดยใช้ค่า MCV หรือ MCH ร่วมกับการทดสอบ DCIP โดยถือเกณฑ์ MCV น้อยกว่า 80 fL และ/ หรือ MCH น้อยกว่า 27 pg เป็นผลบวก เมื่อคำนวณค่า ความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ (specificity) ค่าการทำนายผลบวก (positive predictive value) และค่าการทำนายผลลบ (negative predictive value) ได้เท่ากับร้อยละ 100 ร้อยละ 80.3 ร้อยละ 80.6 และร้อยละ 100 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Sanchaisuriya K และคณะ<sup>(7)</sup> ค่าความไวและค่าการทำนายผลลบได้เท่ากับร้อยละ 100 เช่นกัน ส่วนค่าความจำเพาะและค่าการทำนายผลบวกได้ผลต่างกัน คือ Sanchaisuriya K และคณะ ทำการศึกษาได้ค่าความจำเพาะและค่าการทำนายผลบวกเท่ากับร้อยละ 76.2 และร้อยละ 74.8 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการคัดกรองด้วยการใช้ชุดน้ำยาล้ำเรือรูป KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear กับการคัดกรองด้วยการใช้ค่า MCV หรือ MCH ร่วมกับ DCIP จะเห็นว่าทั้ง 2 แนวทางให้ค่าความไวเท่ากับร้อยละ 100 เหมือนกัน แต่การคัดกรองด้วยชุดน้ำยาล้ำเรือรูป KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear ให้ค่าความจำเพาะสูงกว่า แสดงว่ามีผลบวกปลอมน้อยกว่า ตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับการตรวจคัดกรองจะต้องถูกส่งต่อไปตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน เมื่อวิเคราะห์ค่าใช้จ่าย (เฉพาะค่าน้ำยา) ใน

การตรวจคัดกรองและค่าส่งตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน จากตัวอย่างจำนวน 111 รายที่ทำการตรวจคัดกรองทั้ง 2 แนวทาง การตรวจคัดกรองด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKV-OF และ KKV-DCIP-Clear ให้ผลบวกจำนวน 52 ราย การตรวจคัดกรองด้วย MCV/MCH/DCIP ให้ผลบวก จำนวน 62 ราย คิดเป็นค่าใช้จ่ายเท่ากับ 14,924 บาท และ 19,096 บาทตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าค่าใช้จ่ายจากการตรวจคัดกรองด้วย MCV/MCH/DCIP สูงกว่าการตรวจคัดกรองด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKV-OF และ KKV-DCIP-Clear แสดงให้เห็นว่า หากมีการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKV-OF และ KKV-DCIP-Clear ให้ดีแล้ว การตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP จะเป็นแนวทางที่มีความถูกต้องและประหยัดกว่าการตรวจกรองด้วย MCV/MCH/DCIP แต่การตรวจด้วย MCV และ MCH มีข้อดีกว่า OF test ที่ได้ผลการตรวจทันทีใช้เครื่องตรวจอัตโนมัติและไม่ขึ้นอยู่กับผู้ตรวจ

โดยสรุปของการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียขึ้นที่โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ดโดยการพัฒนามาตรฐานการปฏิบัติงาน (SOP) การทดสอบด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKV-OF และ ชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKV-DCIP-Clear แล้ว ประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถแก้ปัญหาผลบวกปลอมได้ทั้งหมด คงพบได้เฉพาะปัญหาจากผลบวกปลอมซึ่งพบได้ไม่มาก นอกจากนี้ผลการศึกษาครั้งนี้ ทำให้ทราบว่า Hb E มีอัตราการตรวจพบสูงถึงร้อยละ 40 ส่วน  $\alpha$ -thalassemia 1 และ  $\beta$ -thalassemia มีอัตราการตรวจพบเท่ากับร้อยละ 3.9 และ 0.77 ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลที่พบนี้จะนำไปสู่การวางแผนพัฒนาการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของพื้นที่ให้มีประสิทธิภาพต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. ประเวศ วรรณี, สุทัศน์ ฟูเจริญ. Thalassemia in Thailand. ใน ทศนิยม เล็บนาค(บรรณาธิการ). THALASSEMIA: from Molecular Biology to Clinical Medicine 2548; 1-4.
2. สุทัศน์ ฟูเจริญ, ประเวศ วรรณี. Thalassemia: Clinical Manifestation and Pathophysiology. ในทศนิยม เล็บนาค (บรรณาธิการ). THALASSEMIA: from Molecular Biology to Clinical Medicine. 2548; 5-17.
3. Fucharoen S, Winichagoon P, Thonglairoam V, et al. Prenatal diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathies in Thailand: experience from 100 pregnancies. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1991; 22 : 16-29.
4. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364 - 72.
5. Variant Hemoglobin Testing System (Bio Rad Laboratories, USA). Instruction manual.
6. กุลนภา ฟูเจริญ. การตรวจยีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2549; 114-120.
7. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Clin Pathol 2005; 123: 113-8.

**ภาคผนวก**  
**มาตรฐานการปฏิบัติงาน (SOP)**  
**การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเลือดเดี่ยวด้วยชุดน้ำยา**  
**สำเร็จรูป KKU-OF**  
**(One tube osmotic fragility test by KKU-OF reagent kit)**

**1. ความมุ่งหมาย (Purpose)**

ใช้เป็นคู่มือมาตรฐานในการปฏิบัติงานการทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเลือดเดี่ยวด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF ทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาให้ได้คุณภาพ

**2. การใช้งาน (Application)**

อธิบายหลักการ การรายงานผล การแปลผล และการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเลือดเดี่ยวด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF

**3 เอกสารอ้างอิง(References)**

1. กุลนภา ฟูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเลือดเดี่ยวด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF. ใน กุลนภา ฟูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (บรรณาธิการ). การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยขอนแก่น: 2546:18-20.
2. กุลนภา ฟูเจริญ. การตรวจคัดกรอง. ใน กุลนภา ฟูเจริญ. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. ขอนแก่น: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยขอนแก่น: 2549: 41-45.
3. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364-72.

4. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy : an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Clin Pathol 2005; 123: 113-8.

**4. นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)**

OF	=	Osmotic fragility
EDTA	=	Ethylenediamine tetraacetate
µl	=	Microlitre

**5. หลักการ (Principle)**

เม็ดเลือดแดงปกติเมื่ออยู่ในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 จะคงสภาพปกติไว้ได้ แต่ถ้าลดความเข้มข้นของน้ำเกลือลง น้ำจะแพร่เข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดง ทำให้เซลล์บวมขึ้น จนถึงความเข้มข้นของน้ำเกลือระดับหนึ่งเม็ดเลือดแดงจะแตก การที่เม็ดเลือดแดงแตกง่าย (increased osmotic fragility) หรือแตกยาก (decreased osmotic fragility) ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของพื้นที่ผนังเซลล์ต่อความเข้มข้นของสารภายในเซลล์ซึ่งส่วนใหญ่คือฮีโมโกลบิน เม็ดเลือดแดงที่มีค่าอัตราส่วนนี้สูงเช่น target cell และ hypochromic cell จะแตกยาก แต่ spherocyte แตกง่าย ชุดน้ำยา KKU-OF ใช้หลักการนี้ โดยได้ดัดแปลงสัดส่วนและองค์ประกอบของน้ำยาของ Kattamis C และคณะ<sup>๓</sup> ที่ทำให้เม็ดเลือดแดงของคนปกติแตกได้หมด แต่เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียและพาหะธาลัสซีเมีย ที่มี target cell และ hypochromic cell จะยังไม่แตก จึงสามารถนำมาใช้ในการตรวจกรองธาลัสซีเมียได้ อย่างไรก็ตามภาวะอื่นที่ทำให้เม็ดเลือดแดงมีลักษณะ hypochromia เช่น โลหิตจางจากการขาดเหล็กหรือเป็น target cell เช่นในโรคตับ ก็สามารถให้ผลบวกปลอมได้

a : Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting  $\beta$ -thalassemia trait. J Med Genet 1981; 18: 266-70.

## 6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associate document)

- 6.1 คู่มือการใช้ Automatic pipette
- 6.2 คู่มือการเก็บ การนำส่ง และการทำลายสิ่งส่งตรวจ

## 7. ความปลอดภัย (Safety)

7.1 สวมถุงมือยาง และเลือกาวขณะปฏิบัติงาน และปฏิบัติตามหลัก Universal Precautions

## 8. เครื่องมือ เครื่องใช้ (Instrument)

- 8.1 อุปกรณ์
  - 8.1.1 Automatic pipette ขนาด 20  $\mu$ l พร้อม pipette tip
  - 8.1.2 โคมไฟ
  - 8.1.3 นาฬิกาจับเวลา
- 8.2 น้ำยา
  - 8.2.1 KKU-OF reagent kit (PCL Holding co., Ltd. Bangkok, Thailand)

## 9. สารมาตรฐาน (Standard)

## 10. วิธีดำเนินการ (Procedures)

- 10.1 นำหลอดทดลองที่บรรจุน้ำยา KKU-OF-test ปริมาตร 2 ml ออกมาวางที่อุณหภูมิห้อง
- 10.2 ผสมเลือดที่ใช้สารกันเลือดแข็ง EDTA ให้เข้ากัน แล้วใช้ Automatic pipette ดูดเลือด ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 20  $\mu$ L ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำยา KKU-OF ปริมาตร 2 ml ไว้แล้ว ดูดน้ำยาล้างเลือดที่ติดค้างอยู่ใน tip ออกให้หมด (ดูดล้างประมาณ 2-3 ครั้ง)
- 10.3 ปิดฝาหลอดและผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดทดลอง 3-4 ครั้ง
- 10.4 ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นานไม่น้อยกว่า 15 นาที แล้วอ่านผล โดยไม่ต้องผสมเลือดกับน้ำยาซ้ำอีก
- 10.5 อ่านผลจากหลอดทดสอบที่ตั้งอยู่ใน rack แบบโปร่ง โดยดูความคมชัดของภาพลายเส้นสีดำนบนพื้นกระดาษสีขาวที่วางอยู่ด้านหลัง หรือด้านล่างของหลอดทดสอบขณะที่มีแสงไฟจากโคมไฟส่องลงมาจากปาก

หลอดทดสอบ (ดังแสดงในภาพ ของภาคผนวกที่ 1)

## 11. การรายงานผล/การแปลผล (Report/ Interpretation)

### การรายงานผล

Negative (ผลลบ) : สารละลายใส เห็นเส้นสีดำคมชัด (แสดงว่าเม็ดเลือดแดงจำนวนมากกว่าร้อยละ 90 แตกหมด)

Positive (ผลบวก) : สารละลายขุ่น เห็นเส้นสีดำไม่ชัดเจน (แสดงว่าเม็ดเลือดแดงจำนวนมากกว่าร้อยละ 10 ยังไม่แตก) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นานกว่า 30 นาที เม็ดเลือดที่ไม่แตกจะเริ่มตกตะกอนลงสู่ก้นหลอดทดสอบ ทำให้เห็นส่วนของสารละลายที่ขุ่นแยกชั้นจากส่วนของสารละลายที่ใสซึ่งอยู่ด้านบนอย่างชัดเจน

### การแปลผล

Negative : ไม่เป็นธาลัสซีเมีย หรืออาจเป็นธาลัสซีเมีย แต่เป็นชนิดที่ไม่รุนแรง (non-thalassemia or non-clinically significant thalassemia) เช่น อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, Hb Constant-Spring, Hb Pakse'

Positive : อาจเป็น อัลฟา และหรือบีตา-ธาลัสซีเมีย (suspected alpha and/or beta-thalassemia) โดยอัลฟา-ธาลัสซีเมีย มีโอกาสเป็นได้ทั้งชนิด อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 และอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 ส่วนบีตา-ธาลัสซีเมียก็มีโอกาสเป็นได้ทั้ง บีตาคุนยัและบีตาบวค-ธาลัสซีเมีย

การแปลผลการตรวจกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาลำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear ร่วมกับการทดสอบอื่นๆ ดังแสดงในภาคผนวกที่ 2

## 12 การควบคุมคุณภาพ (Quality Control)

### ควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการดังนี้

#### 12.1 ตรวจสอบคุณภาพของน้ำยา

12.1.1 การนำส่งชุดน้ำยาจากผู้แทนจำหน่าย ต้องนำส่งโดยระบบแช่เย็น

12.1.2 การตรวจสอบเมื่อแรกรับ ต้องเปิดดูชุดน้ำยาที่อยู่ภายในกล่องโดยตรวจสอบ การปิดฝาหลอดบรรจุน้ำยาต้องปิดสนิท สภาพของหลอดบรรจุน้ำยาต้องไม่แตกหรือร้าว ปริมาตรของน้ำยาที่บรรจุภายในหลอดทดสอบแต่ละหลอดต้องได้ปริมาตรที่ถูกต้องและเท่ากันทุกหลอด น้ำยาต้องไม่มีสีและใส หากตรวจพบว่าผิดปกติจากที่กล่าวต้องติดต่อกับบริษัทผู้แทนจำหน่ายเพื่อเปลี่ยนน้ำยาโดยทันที

12.1.3 การจับเก็บชุดน้ำยา ต้องจับเก็บชุดน้ำยาไว้ในตู้เย็นที่มีการตรวจสอบอุณหภูมิของตู้เย็นอย่างสม่ำเสมอ โดยอุณหภูมิของตู้เย็นอยู่ระหว่าง 2-8 องศาเซลเซียส

12.1.4 ก่อนการจับเก็บน้ำยาเข้าสู่ตู้เย็น ต้องทำการห่อชุดน้ำยาด้วยถุงพลาสติกก่อนเสมอ เพื่อป้องกันการระเหยออกของน้ำยาภายในหลอดทดสอบ

12.1.5 การนำน้ำยาออกมาใช้งานให้นำหลอดน้ำยาที่ต้องการใช้ออกมาวางที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 5 นาทีก่อนทำการตรวจทดสอบกับตัวอย่างเลือด

## 12.2 ตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างเลือด

12.2.1 ตรวจสอบปริมาณของเลือดว่าได้สัดส่วนที่เหมาะสมกับ EDTA ที่เตรียมไว้สำหรับกันเลือดแข็งตัวหรือไม่ เพราะถ้าไม่ได้สัดส่วน เช่น เจาะเลือดได้น้อย EDTA จะเหลือมากทำให้น้ำแพร่ออกมาจากเซลล์เม็ดเลือดแดง ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเหี่ยว (crenated RBC) จะทำให้เกิดผลบวกปลอมกับการทดสอบได้ แต่หากเจาะเลือดได้มากหรือการผสมเลือดกับสารกันเลือดแข็งได้ไม่ดี เลือดบางส่วนจะเกิดการแข็งตัว (partial clot) ทำให้เม็ดเลือดแดงบางส่วนถูกกระตุ้นด้วยระบบการแข็งตัวของเลือดไปแล้วก็จะทำให้แตกง่ายขึ้น ทำให้เกิดผลลบปลอมขึ้น

12.2.2 ตัวอย่างเลือดที่ใช้ทดสอบควรเป็นเลือดที่เจาะใหม่ในวันนั้น หากไม่สามารถทำการตรวจทดสอบได้ในวันนั้นควรเก็บเลือดไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส และต้องไม่เก็บไว้นานเกิน 48 ชั่วโมง

12.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือดจากเด็ก อาจทำให้การเจาะเก็บตัวอย่างเลือดได้ปริมาณน้อย ควรลดปริมาณสารกันเลือดแข็งให้เหมาะสมกับตัวอย่างเลือดที่เก็บได้ หากไม่สามารถทำได้ให้บันทึกลักษณะของตัวอย่างไว้ก่อนการทดสอบเสมอ

12.2.4 ในรายที่ซีดมาก (ค่า hematocrit < 25 %) จะอ่านผลได้ไม่ชัดเจน ควรทำเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นหรือเพิ่มเลือดเป็นสองเท่าในการทดสอบ หรือใช้เม็ดเลือดแดงอัดแน่นแทนการใช้เลือดครบ

12.3 Automatic pipette ที่ใช้ในการทดสอบต้องได้รับการสอบเทียบปริมาตรอย่างเหมาะสม และ pipette tip ที่ใช้ต้องสะอาดและแห้งสนิท ถ้าเป็นไปได้ควรใช้ของใหม่ตลอด

12.4 ควรทำการทดสอบควบคู่กับตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างเลือดที่มีคุณสมบัติดังนี้

12.4.1 ตัวอย่างควบคุมผลลบ ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีค่า MCV > 85 fL, MCH > 28 pg และ Hb; ชาย > 13 g/dL, หญิง > 12 g/dL

12.4.2 ตัวอย่างควบคุมผลบวก ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีค่า MCV < 75 fL, MCH < 25 pg และ Hb; ชาย > 11 g/dL, หญิง > 10 g/dL

เก็บตัวอย่างเลือดอย่างละ 1-2 ราย ไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในวันต่อไปและเก็บใหม่วันต่อวันไปเรื่อยๆ ทั้งนี้ตัวอย่างเลือดที่ใช้และเก็บต้องเป็นเลือดจากผู้ใหญ่

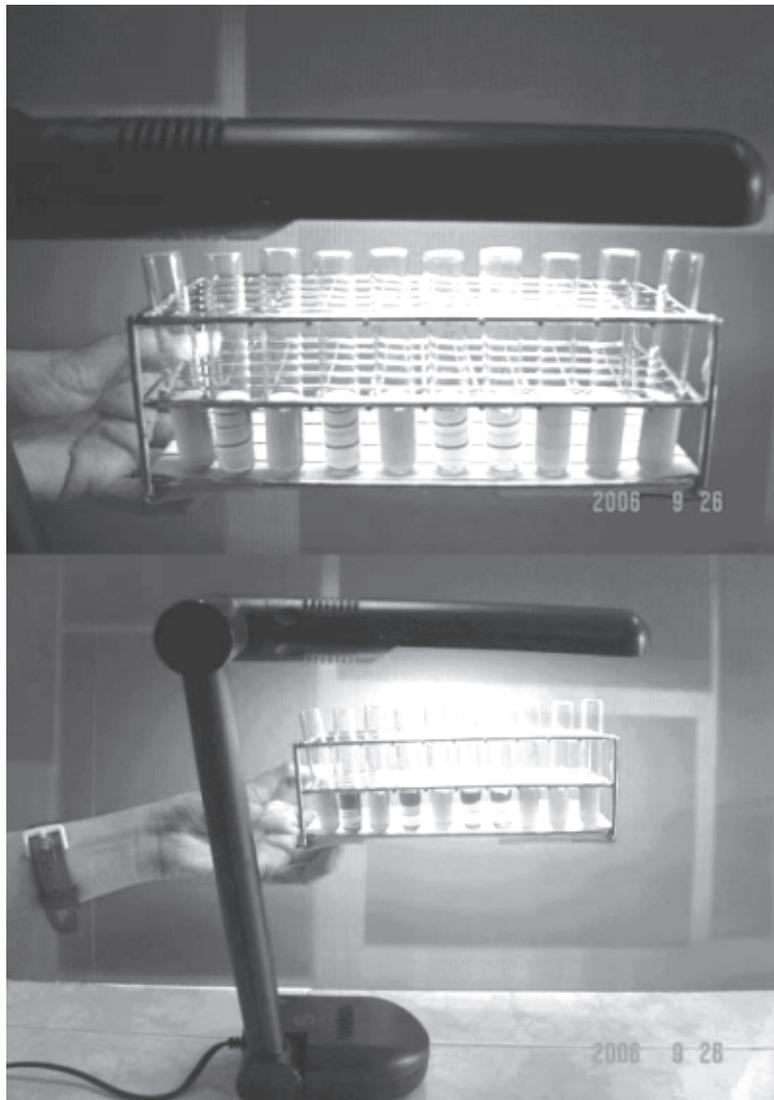
## 13. การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Records and documentation)

บันทึกผลการตรวจทดสอบใน Work sheet

## 14. รายละเอียดอื่นๆ (Supplementary notes)

-

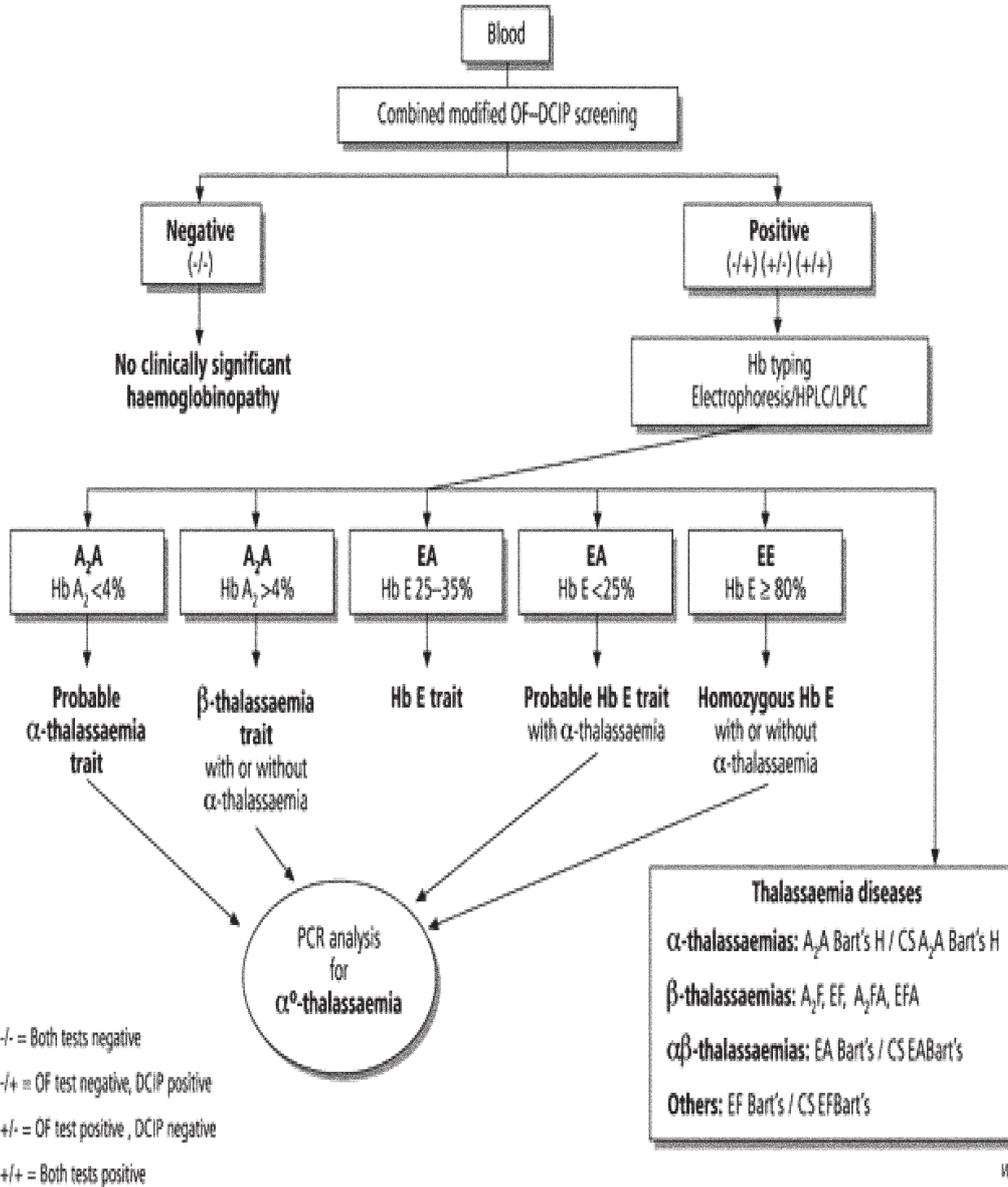
# ภาคผนวกที่ 1



ภาพการจัดวางโคมไฟที่เหมาะสมสำหรับการอ่านผลการทดสอบ OF และ DCIP

ภาคผนวกที่ 2

Fig. 1. Proposed screening strategy for carriers of  $\alpha^0$ -thalassaemia and Hb E using both the modified one-tube osmotic fragility test (OF) and the modified dichlorophenolindophenol precipitation test (DCIP) for preliminary screening



ที่มา : Fucharoen G, et al. Bull World Health Organ 2004; 82: 364-72

# มาตรฐานการปฏิบัติงาน (SOP)

## การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป K KU-DCIP-Clear (Hemoglobin E screening by K KU-DCIP-Clear Reagent kit)

### 1. ความมุ่งหมาย (Purpose)

ใช้เป็นคู่มือมาตรฐานในการปฏิบัติงานการตรวจกรองฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป K KU-DCIP-Clear ทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาให้ได้คุณภาพ

### 2. การใช้งาน (Application)

อธิบายขั้นตอนการตรวจกรองฮีโมโกลบินอี ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป K KU-DCIP-Clear

### 3. เอกสารอ้างอิง (References)

1. สุพรรณ ฟุเจอร์ญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา ฟุเจอร์ญ และณัฐยา แซ่อึ้ง. ชุดน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อการตรวจกรองฮีโมโกลบินอีอย่างง่ายและรวดเร็ว. สิทธิบัตรการประดิษฐ์ เลขที่ 18004 กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์.
2. กุลนภา ฟุเจอร์ญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. การตรวจกรองฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป K KU-DCIP-Clear. ใน กุลนภา ฟุเจอร์ญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (บรรณาธิการ). การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น: 2546: 25-29.
3. กุลนภา ฟุเจอร์ญ. การตรวจกรอง. ใน กุลนภา ฟุเจอร์ญ. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. ขอนแก่น: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มหา- วิทยาลัยขอนแก่น: 2549: 46-48.
4. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. Bull World Health Organ

2004; 82: 364-72.

5. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy : an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Clin Pathol 2005; 123: 113-8.

### 4. นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

DCIP = Dichlorophenol indophenol  
EDTA = Ethylenediamine tetraacetate  
ul = Microlitre

### 5. หลักการ (Principle)

ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากการดัดแปลงที่ตำแหน่งที่ 26 ของสายบีตาโกลบินเปลี่ยนจากกรดกลูตามิก (Glu) ไปเป็นไลซีน (Lys) (HbE :  $\alpha_2\beta_2^{26\text{glu}\rightarrow\text{lys}}$ ) ทำให้มีโครงสร้างของจุดสัมผัส  $\alpha_1\beta_1$  ไม่แข็งแรงและจะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นสายโกลบินสายเดี่ยวที่มีหมู่ซัลไฟไฮดริลอิสระ (-SH) ได้ง่ายและเร็วกว่าฮีโมโกลบินอื่นและถูกออกซิไดซ์ต่อไปจนตกตะกอนในสารละลายของ ดีซีไอพี เมื่อหยุดปฏิกิริยาและกำจัดดีซีไอพีส่วนเกินออกไปแล้ว สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า

### 6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associate document)

- 6.1 คู่มือการใช้เครื่อง water bath
- 6.2 คู่มือการใช้ Automatic pipette
- 6.2 คู่มือการเก็บ การนำส่ง และการทำลายสิ่งส่งตรวจ

### 7. ความปลอดภัย (Safety)

7.1 สวมถุงมือยาง และเลือกาวขณะปฏิบัติงาน และปฏิบัติตามหลัก Universal Precautions

## 8. เครื่องมือ เครื่องใช้ (Instrument)

### 8.1 อุปกรณ์

8.1.1 Automatic pipette ขนาด 20  $\mu$ l และขนาด 1000  $\mu$ l พร้อม pipette tip

8.1.2 หลอดแก้วสะอาดและใสขนาด 12 x 75 มม. หรือ 13x100 มม.

8.1.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

8.1.4 Pipette 2 ml

8.1.5 โคมไฟ

8.1.6 นาฬิกาจับเวลา

### 8.2 น้ำยา

8.2.1 KKU-DCIP-Clear reagent kit (PCL Holding co., ltd. Bangkok, Thailand)

## 9. สารมาตรฐาน (Standard)

-

## 10. วิธีดำเนินการ (Procedures)

10.1 เติมน้ำยา KKU-DCIP-Clear reagent ปริมาตร 2 ml ลงในหลอดแก้วหรือหลอดพลาสติกสะอาดและใส ขนาด 12 x 75 มม. หรือ 13 x 100 มม.

10.2 ผสมเลือดที่ใช้สารกันเลือดแข็ง EDTA ให้เข้ากัน แล้วใช้ Automatic pipette ดูดเลือดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 20  $\mu$ L ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่เติมน้ำยา KKU-DCIP-Clear reagent ปริมาตร 2 ml ไว้แล้ว ดูดน้ำยาล้างเลือดที่ติดค้างอยู่ใน tip ออกให้หมด (ดูดล้างประมาณ 2-3 ครั้ง)

10.3 ปิดหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์มหรือฝาหลอดและผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดทดลอง 3-4 ครั้ง

10.4 นำไปอุ่นไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องทันที

10.5 เติม Clearing solution ลงไป 20  $\mu$ l ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที

10.6 อ่านผล โดยสังเกตความขุ่นของสารละลาย โดยส่องดูกับแสงไฟ

## 11. การรายงานผล/การแปลผล (Report / Interpretation)

### การรายงานผล

Negative (ผลลบ) : สารละลายใส

Positive (ผลบวก) : สารละลายขุ่น

การแปลผล การตรวจโดยวิธีนี้เป็น การตรวจกรอง

แบบคร่าวๆ มีจุดประสงค์หลักอยู่ที่การคัดกรองเอาคนปกติ ซึ่งเป็นประชากรส่วนใหญ่ออกไป สำหรับผู้ที่ให้ผลบวกหรือสงสัยว่าจะเป็นผลบวก จะต้องนำไปตรวจโดยวิธีมาตรฐานต่อไป ฮีโมโกลบินที่สามารถให้ผลบวกได้กับวิธีนี้คือ ฮีโมโกลบินอี (Hb E)

การแปลผลการตรวจกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาลำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear ร่วมกับการทดสอบอื่นๆ ดังแสดงในภาคผนวกที่ 1

## 12 การควบคุมคุณภาพ (Quality Control)

ควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการดังนี้

### 12.1 การตรวจสอบคุณภาพของน้ำยา

12.1.1 การนำส่งชุดน้ำยาจากผู้แทนจำหน่าย ต้องนำส่งโดยระบบแช่เย็น

12.1.2 การตรวจสอบเมื่อแรกรับต้องเปิดดูชุดน้ำยาที่อยู่ภายในกล่องโดยตรวจสอบลักษณะของขวดบรรจุน้ำยาต้องไม่หกและเอะอะ สีของน้ำยาเป็นสีน้ำเงินเข้มและใส หากตรวจพบว่ามึนสิ่งผิดปกติต้องติดต่อกับบริษัทผู้แทนจำหน่ายโดยทันที

12.1.3 การจัดเก็บชุดน้ำยา ต้องจัดเก็บชุดน้ำยาในกล่องบรรจุน้ำยาที่ปิดและเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีการตรวจสอบอุณหภูมิของ ตู้เย็นอย่างสม่ำเสมอ โดยอุณหภูมิของตู้เย็นอยู่ระหว่าง 2-8 องศาเซลเซียส

12.1.4 ก่อนการจัดเก็บน้ำยาเข้าตู้เย็น ต้องทำการห่อชุดน้ำยาด้วยถุงพลาสติกก่อนเสมอ เพื่อป้องกันการระเหยออกของน้ำยาภายในหลอดทดสอบ

12.2 ตรวจสอบคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ โดยตรวจสอบปริมาณของเลือดว่าได้สัดส่วนที่เหมาะสมกับ EDTA ที่เตรียมไว้สำหรับกันเลือดแข็งตัวหรือไม่ ตัวอย่างเลือดที่ใช้ทดสอบควรเป็นเลือดที่เจาะใหม่ในวันนั้น หากไม่สามารถทำการทดสอบได้ในวันนั้นควรเก็บเลือดไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส และไม่ควรถูกเก็บไว้นานเกิน 1 สัปดาห์ แต่ถ้าไม่มีตู้เย็นเก็บ ควรทำการทดสอบภายใน 48 ชั่วโมง ในรายที่ซีดมาก (ค่า hematocrit < 25 %) อาจให้ผลลบลวงได้ ให้ใช้ whole blood 40  $\mu$ l หรือเม็ดเลือดแดงอัดแน่น 20  $\mu$ l ในการทดสอบ

12.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ต้องได้รับการสอบเทียบอุณหภูมิอยู่เสมอ โดยอุณหภูมิของปฏิกรณ์เท่ากับ  $37 \pm 1$  องศาเซลเซียส

12.4 Automatic pipette ที่ใช้ในการทดสอบต้องได้รับการสอบเทียบปริมาตรอย่างเหมาะสม และ pipette tip ที่ใช้ต้องสะอาดและแห้งสนิท ถ้าเป็นไปได้ควรใช้

ของใหม่ตลอด

12.5 ควรทำการทดสอบควบคู่กับตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพผลบวก ซึ่งควรจะเป็นตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น EA และตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพผลลบ ซึ่งควรจะเป็นตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A<sub>2</sub>A ในกรณีที่ไม่สามารถหาตัวอย่างเลือดที่มีคุณสมบัติดังกล่าวเพื่อการควบคุมคุณภาพได้ ผู้ปฏิบัติสามารถใช้ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจคัดกรองที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกและลบ อย่างละ 1-2 ราย เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพสำหรับการทดสอบครั้งต่อไป แล้วเก็บเลือดใหม่ทุกครั้งทำการทดสอบไปเรื่อยๆ

### **13. การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Records and documentation)**

บันทึกผลการตรวจทดสอบใน Work sheet

### **14. รายละเอียดอื่นๆ (Supplementary notes)**

อุบัติการณ์ของ Hb E ในพื้นที่จังหวัดร้อยเอ็ดมีประมาณร้อยละ 20 - 30 ดังนั้น ในทุกครั้งทำการตรวจคัดกรองหากมีตัวอย่างมากกว่า 10 ราย ควรจะต้องมีตัวอย่างเลือดที่ให้ทั้งผลบวกและลบในการตรวจคัดกรองรอบเดียวกัน