วัสดุควบคุมคุณภาพการตรวจนับเม็ดเลือดจากเลือดรวมหลายแหล่ง

Quality Control Material for Complete Blood Count from Pooled Human Blood

ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์[1] พิมพ์ปวีณ์ ศรีสุชาติ[1] จิดาภา เก็จพิรุฬห์[2] ปรมินทร์ วีระศิลป์[1] วิทยา สีโย[1]

บทคัดย่อ : ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์ พิมพ์ปวีณ์ ศรีสุชาติ จิดาภา เก็จพิรุฬห์ ปรมินทร์ วีระศิลป์ และ วิทยา สีโย. 2546. วัสดุควบคุมคุณภาพการตรวจนับเม็ดเลือดจากเลือดรวมหลายแหล่ง. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 17 (1) : 25-35.

การเตรียมเลือดครบจากเลือดรวมหลายแหล่งให้มีความคงตัวบางส่วนสำหรับใช้เป็นวัสดุควบคุมคุณภาพในงานตรวจนับเม็ดเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ โดยเตรียมขึ้นจากการรวมเลือดที่เติมสารกันเลือดแข็งตัวชนิดซิเตรท-ฟอสเฟต-เด็กซ์โทรส ของผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงตามชนิดของหมู่เลือดเอหรือบี หมู่เลือดละ 3 คน ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการเจาะเลือด และใช้น้ำยาที่มีสารฟอร์มาลดีไฮด์และกลูทาราลดีไฮด์เพื่อรักษาสภาพเซลล์ตามวิธีการของ Reardon และคณะ ศึกษาคุณสมบัติและความคงทนของวัสดุควบคุมคุณภาพที่เก็บรักษาไว้ 4 แบบ คือแบบเปิดใช้ครั้งเดียว (closed vial) โดยเก็บเลือด 0.5 มล.ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มล. ที่อุณหภูมิ 4^{O}ซ และอุณหภูมิห้อง (25-30^{O}ซ) และแบบเปิดใช้ซ้ำ (opened vial) โดยเก็บเลือด 2.0 มล. ในหลอดทดลองขนาด 12 x 75 มม. ที่ อุณหภูมิ 2 ระดับเช่นเดียวกัน ใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Coulter MAXM ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ 9 ชนิด คือ RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT และ WBC พบว่าวัสดุควบคุมคุณภาพที่เก็บรักษาไว้ที่ 4^{O}ซ ในหลอดทั้ง 2 แบบ มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ของพารามิเตอร์ส่วนใหญ่ต่ำกว่าร้อยละ 3.6 ในช่วงระยะเวลาการเก็บ 2 เดือน ยกเว้น WBC และ PLT ซึ่งมีค่า CV ระหว่างร้อยละ 1.5 ถึง 9.2 และร้อยละ 10 ถึง 13 ตามลำดับ ส่วนวัสดุควบคุมคุณภาพที่เก็บที่อุณหภูมิห้องพบว่าพารามิเตอร์ต่างๆมีค่า CV ระหว่างร้อยละ 5 ถึง 54 เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาตลอด 2 เดือนกับค่าเฉลี่ยและช่วง 2 เท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณจากสัปดาห์แรก (mean ± 2SD) พบว่า วัสดุควบคุมคุณภาพที่เก็บรักษาไว้ที่ 4^{O}ซ ในหลอดทั้ง 2 แบบมีค่าอยู่ในช่วง mean ± 2SD ของสัปดาห์แรก อย่างไรก็ตามค่า HCT, MCV, PLT มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในเดือนที่ 2 แสดงว่าสามารถรวมเลือดหมู่เดียวกันจากคนหลายคนเพื่อเตรียมวัสดุควบคุมคุณภาพสำหรับงานควบคุมคุณภาพการตรวจ CBC โดยมีความคงทนเมื่อเก็บที่ 4^{O}ซ ได้นาน 1 เดือน ทั้งแบบใช้ครั้งเดียวและแบบใช้ซ้ำ วัสดุควบคุมคุณภาพจากเลือดรวมหลายแหล่งสามารถจัดเตรียมได้ง่ายจากเลือดที่มีอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการ และสามารถเตรียมได้จำนวนเพียงพอโดยไม่ต้องเจาะเลือดจากคนเพียงคนเดียวในปริมาณมาก ทั้งยังประหยัด ช่วยลดการนำเข้าวัสดุควบคุมคุณภาพที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ เป็นการลดต้นทุนค่าใช้จ่ายของห้องปฏิบัติการได้อีกทางหนึ่ง

คำสำคัญ : วัสดุควบคุมคุณภาพ การตรวจนับเม็ดเลือด เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ

[1]ภาควิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

[2]หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

Abstract : Phantip Vattanaviboon, Pimpawee Srisuchatti, Jidapa Ketpirune, Poramin Weerasil and Witaya Seeyo. 2003. Control material for complete blood count from pooled human blood. Thai J Health Res 17(1) : 25-35.

In-house quality control materials for complete blood count (CBC) by automated cell analyzer were prepared from partially stabilized pooled whole bloods. Citrate-phosphate-dextrose (CPD) fresh whole bloods, donated from 3 healthy volunteers of each blood group A or B, were pooled within 24 h after blood collection and after fixed with fixative reagent containing formaldehyde and glutaraldehyde. They were separately stored in four conditions; closed vial (for once use), 0.5 mL blood in each 1.5 mL microtube stored at 4^{O}C and room temperature (25-30^{O}C) and opened vial (for repeated use), 2 mL blood in 12x75 mm test tube with the same stored temperature as microtube. The stored blood samples were analyzed for CBC by Coulter MAXM automatic cell counter for 2 months. Nine hematological parameters were analyzed. The results showed that the coefficient of variation (CV) of 7 parameters; RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC and RDW; of all samples stored at 4^{O}C were less than 3.6 %. However, the CV of WBC and PLT showed 1.5 - 9.2 % and 10-13 %, respectively. The blood samples stored at room temperature showed % CV of most hematological parameters between 5-54 %. For the blood stored at 4^{O}C, most of the values of all parameters determined in the second to sixth week were within the means ± SD of those received from the first week suggesting the partially stabilized pooled whole blood could possibly be used as control material for automatic cell analyzer. The control material was stable for analysis for 1 month when stored at 4^{O}C in both closed vial and opened vial. Thus, pooled blood is a cost saving control material that could be simply prepared from blood specimens available in laboratory thereby avoiding collection of a large blood volume from one individual donor. However, further studies are required to improve the quality of this control material.

Key words : quality control material, complete blood count, automated cell analyzer

---

บทนำ

ในปัจจุบัน เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติมีบทบาทสำคัญในงานตรวจนับเม็ดเลือดทางโลหิตวิทยา (complete blood count, CBC) เนื่องจากสามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมาก มีความสะดวกรวดเร็วและได้ผลถูกต้องแม่นยำ อย่างไรก็ตาม ผลการตรวจที่ได้จะมีความถูกต้องน่าเชื่อถือเพียงใดนั้น ระบบควบคุมคุณภาพเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมคุณภาพด้านการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ ไม่ว่าจะเป็นการควบคุมคุณภาพภายในหรือภายนอก วัสดุควบคุมคุณภาพ (quality control materials) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างยิ่งในการดำเนินงาน (Carson and Dent, 1990; Hall and Malia, 1991) จากการสำรวจของคณะผู้วิจัยถึงการใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพด้านการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาของห้องปฏิบัติการในปัจจุบัน พบว่าส่วนใหญ่จะซื้อวัสดุควบคุม คุณภาพมาใช้ (Vattanaviboon, 2002) ซึ่งเป็นวัสดุควบคุมคุณภาพที่นำเข้าจากต่างประเทศ มีอายุการใช้งานสั้น เนื่องจากเสียเวลาส่วนหนึ่งไปกับการขนส่งระยะไกล ทั้งยังมีราคาแพง โดยมีราคาซื้ออยู่ประมาณ 2,000-5,000 บาท ต่อ 1 ชุด ซึ่งประกอบด้วยวัสดุควบคุมที่อยู่ในช่วงปกติและผิดปกติ ทำให้สูญเสียเงินตราออกนอกประเทศ และต้นทุนการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีค่าสูง ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาวิจัยและพัฒนาวัสดุควบคุมคุณภาพเพื่อการพึ่งพาตนเอง แต่ในการเจาะเก็บเลือดเพื่อใช้ในงานควบคุมคุณภาพต้องเจาะเก็บเลือดในปริมาณมากเพื่อให้เพียงพอต่อการใช้งานระยะยาว และต้องศึกษาวิธีการเตรียมและเก็บรักษาวัสดุควบคุมคุณภาพให้มีคุณสมบัติเหมาะสมกับการใช้งาน การเตรียมวัสดุควบคุมคุณภาพจากเลือดหลายคนรวมกันจึงเป็นเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดปัญหาต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาการเตรียมเลือดครบจากเลือดรวมหลายแหล่งให้มีความคงตัวบางส่วน (partially stabilized pooled whole blood) เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพงานตรวจนับเม็ดเลือด (CBC)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุควบคุมคุณภาพชนิดเลือดครบจากเลือดรวมหลายแหล่งที่มีความคงตัวบางส่วนสำหรับงานตรวจนับเม็ดเลือด เตรียมขึ้นโดยการรวมเลือดที่เติมสารกันเลือดแข็งตัวซิเตรท-ฟอสเฟต-เด็กซ์โทรส (citrate-phosephate-dextrose, CPD) ของนักศึกษาอาสาสมัครผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงตามชนิดของหมู่เลือด เอ หรือ บี หมู่เลือดละ 3 คน รักษาสภาพเซลล์ตามวิธีการของ Reardon และคณะ (1991) ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการเจาะเลือด ด้วยน้ำยารักษาสภาพเซลล์ที่ประกอบด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde 37-40 %) 6.75 มิลลิลิตร กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde 50 %) 0.75 มิลลิลิตร และ ไตรโซเดียมซิเตรท (trisodium citrate) 26 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ศึกษาวิธีเก็บรักษาเลือด 4 แบบ คือแบบเปิดใช้ครั้งเดียว (closed vial - ทำการทดสอบ 1 ครั้งต่อหลอด) โดยเก็บเลือด 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร (microtube) ที่อุณหภูมิ 4^{O}ซ และที่อุณหภูมิห้อง (25-30^{O}ซ) เก็บเลือดแบบเปิดใช้ซ้ำ (opened vial - เลือดแต่ละหลอดทำการทดสอบซ้ำภายใน 1 สัปดาห์) โดยเก็บเลือด 2.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร ที่ อุณหภูมิ 2 ระดับเช่นเดียวกัน ศึกษาคุณสมบัติและความ คงทนของเลือดโดยใช้เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ Coulter MAXM วัดการเปลี่ยนแปลงค่าของพารามิเตอร์ 9 ชนิด ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cells, RBC) ค่าฮีโมโกลบิน (hemoglobin, HGB) ค่าฮีมาโตคริต (hematocrit, HCT) ปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (mean cell hemoglobin , MCH) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือด

แดงโดยเฉลี่ย (mean cell hemoglobin concentration, MCHC) ปริมาตรเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (mean cell volume, MCV) การกระจายของปริมาตรเม็ดเลือดแดง (red cell distribution width, RDW) จำนวนเกล็ดเลือด (platelet, PLT) และจำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cells, WBC) ตรวจเลือดทุกแบบ สัปดาห์ละ 3-5 ครั้ง เป็นเวลา 1 เดือน และสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในเดือนที่สอง ก่อนการตรวจวิเคราะห์เลือดแต่ละครั้งต้องผสมเลือดให้เข้ากัน (invert mixing) อย่างน้อย 20 ครั้ง และระวังไม่ให้มีฟอง บันทึกผลพารามิเตอร์ต่างๆที่ได้จากเครื่อง นำมาคำนวณเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) ของผลการวิเคราะห์ทั้งหมดและคำนวณแยกในสัปดาห์ต่างๆ รวมทั้งเปรียบเทียบผลการการวิเคราะห์ตลอด 2 เดือนกับ mean ± 2SD ของสัปดาห์แรก

ผล

จากการศึกษาวัสดุควบคุมคุณภาพชนิดเลือดครบจากเลือดรวมหลายแหล่งที่มีความคงตัวบางส่วนสำหรับงานตรวจนับเม็ดเลือด ที่เตรียมขึ้นจากการรวมเลือดอาสาสมัครหมู่เลือดละ 3 คน จำนวน 2 ชุด (หมู่เลือด เอ หรือ บี) พบว่าการนำเลือด CPD จากหลายคนมารวมกันมีผลให้เลือดถูกเจือจาง พารามิเตอร์บางค่าลดลงต่ำกว่าค่าปกติ เช่น HGB, HCT และ MCV ดังตารางแสดงค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์เลือดในแต่ละสัปดาห์ในตารางที่ 1 และ 2 และเมื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปร ปรวน (CV) ของการวิเคราะห์ตลอด 2 เดือนพบว่า เลือดชุดที่เก็บรักษาไว้ 4^{O}ซ ทั้งใน closed vial และ opened vial จะมีค่า CV ของพารามิเตอร์ส่วนใหญ่ คือ RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW น้อยกว่าร้อยละ 3.6 (ค่า CV อยู่ระหว่างร้อยละ 0.81-3.58, ตารางที่ 3) ในระยะเวลาการเก็บ 2 เดือน ส่วน WBC พบว่ามีค่า CV ประมาณร้อยละ 1.5-9.2 และ CV ของ PLT มีค่าร้อยละ 10-13 (ตารางที่ 3) ซึ่งกว้างกว่าค่า CV ที่กำหนดสำหรับเครื่อง (ร้อยละ 1.5-5, Coulter, 1994) แสดงว่าเทคนิคการรวมเลือดยังต้องปรับปรุงให้เหมาะสมกับการรักษาสภาพของ WBC และ PLT ส่วนวัสดุควบคุมคุณภาพชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าค่า CV ใน 1 เดือนมีช่วงกว้างคือระหว่างร้อยละ 5-54 (ตารางที่ 3) ดังนั้น การเก็บรักษาเลือดที่เตรียมได้ไว้ที่อุณหภูมิห้องจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุควบคุมคุณภาพ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ในวัสดุควบคุมคุณภาพจากเลือดรวมหลายแหล่งที่เก็บแบบเปิดใช้ครั้งเดียว ที่ 4^{O}ซ ในสัปดาห์ต่างๆ จำแนกตามหมู่เลือด

หมู่เลือด	จำนวนการทดสอบ	สัปดาห์	ค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ต่างๆ*								
			RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	WBC
	3	1	4.08	12.35	36.93	90.63	30.33	33.53	13.18	187.0	6.23
			(0.03)	(0.06)	(0.81)	(1.89)	(0.30)	(0.87)	(0.68)	(6.0)	(0.10)
	5	2	4.09	12.30	37.03	90.70	30.15	33.25	13.55	188.2	6.25
			(0.06)	(0.12)	(0.61)	(0.34)	(0.35)	(0.52)	(0.26)	(29.5)	(0.10)
A	3	3	4.08	12.30	37.67	92.40	30.10	32.60	13.60	184.0	7.10
			(0.12)	(0.10)	(1.10)	(0.70)	(0.70)	(0.85)	(0.44)	(25.2)	(1.47)
	3	4	4.06	12.43	37.80	93.20	30.73	32.97	13.63	173.0	6.40
			(0.05)	(0.15)	(0.44)	(0.26)	(0.15)	(0.15)	(0.06)	(8.2)	(0.00)
	3	5	4.14	12.37	38.93	94.13	30.03	31.87	13.73	190.7	6.23
			(0.08)	(0.06)	(0.86)	(0.67)	(0.68)	(0.90)	(0.15)	(3.5)	(0.06)
	3	≥6	4.10	12.30	38.77	94.10	30.80	31.33	13.97	211.3	6.17
			(0.06)	(0.10)	(0.70)	(0.78)	(0.96)	(1.24)	(0.81)	(17.0)	(0.29)
	3	1	4.42	11.70	35.33	79.87	26.43	33.17	15.27	212.7	4.53
			(0.05)	(0.10)	(1.44)	(2.41)	(0.15)	(1.17)	(0.47)	(11.2)	(0.12)
	5	2	4.39	11.54	33.98	77.32	26.30	34.02	15.50	199.6	4.50
			(0.06)	(0.11)	(0.51)	(0.03)	(0.23)	(0.36)	(0.14)	(33.3)	(0.00)
B	3	3	4.37	11.57	34.23	78.27	26.43	33.73	15.67	202.7	4.53
			(0.05)	(0.23)	(0.47)	(0.40)	(0.31)	(0.21)	(0.12)	(4.0)	(0.12)
	5	4	4.44	11.68	35.32	79.56	26.28	33.08	15.78	202.6	4.54
			(0.02)	(0.04)	(0.47)	(0.64)	(0.26)	(0.55)	(0.20)	(12.8)	(0.05)
	3	≥5	4.46	11.70	35.40	80.43	26.43	31.90	15.40	235.0	4.47
			(0.10)	(0.00)	(0.10)	(0.75)	(0.23)	(1.82)	(0.17)	(47.3)	(0.06)

*ในวงเล็บคือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ในวัสดุควบคุมคุณภาพจากเลือดรวมหลายแหล่งที่เก็บแบบเปิดใช้ซ้ำ ที่ 4^{O}ซ ในสัปดาห์ต่างๆ จำแนกตามหมู่เลือด

หมู่เลือด	จำนวนการทดสอบ	สัปดาห์	ค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ต่างๆ*								
			RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	WBC
A	3	1	4.10	12.30	37.57	91.70	30.00	32.77	13.03	186.3	6.17
			(0.05)	(0.00)	(0.59)	(1.49)	(0.26)	(0.47)	(0.81)	(9.8)	(0.06)
	5	2	4.09	12.44	37.14	90.64	30.40	33.54	13.74	197.2	6.22
			(0.05)	(0.05)	(0.52)	(0.76)	(0.35)	(0.40)	(0.11)	(23.0)	(0.08)
	4	3	4.15	12.63	38.18	92.00	30.43	33.08	13.73	188.3	6.45
			(0.05)	(0.15)	(0.69)	(0.82)	(0.13)	(0.33)	(0.22)	(27.0)	(0.44)
	3	4	4.12	12.67	38.33	92.93	30.73	33.03	13.67	181.3	6.63
			(0.08)	(0.32)	(0.98)	(0.74)	(0.32)	(0.21)	(0.12)	(14.0)	(0.68)
	3	5	4.13	12.53	38.27	92.80	30.33	32.70	13.73	187.7	6.33
			(0.05)	(0.06)	(0.55)	(0.20)	(0.29)	(0.36)	(0.06)	(17.5)	(0.06)
	3	≥6	4.13	12.63	38.57	94.17	30.63	31.17	13.50	208.0	6.13
			(0.07)	(0.42)	(0.21)	(0.31)	(0.50)	(1.80)	(0.26)	(47.7)	(0.15)
B	3	1	4.41	11.70	35.37	80.10	26.53	33.20	15.13	213.3	4.57
			(0.03)	(0.00)	(1.11)	(2.54)	(0.15)	(1.08)	(0.35)	(4.2)	(0.06)
	5	2	4.48	11.78	34.74	77.54	26.30	33.90	15.58	218.0	4.48
			(0.06)	(0.04)	(0.38)	(0.38)	(0.35)	(0.37)	(0.08)	(12.2)	(0.08)
	4	3	4.43	11.85	34.83	78.60	26.80	34.08	15.48	220.3	4.98
			(0.14)	(0.26)	(0.91)	(0.75)	(0.42)	(0.31)	(0.26)	(24.9)	(0.62)
	5	4	4.40	11.76	34.62	78.62	26.70	33.98	15.52	219.4	4.52
			(0.07)	(0.25)	(0.87)	(0.64)	(0.29)	(0.41)	(0.13)	(24.4)	(0.04)
	3	≥5	4.54	12.03	36.03	80.33	26.57	32.00	15.33	201.0	4.83
			(0.07)	(0.42)	(0.35)	(0.42)	(0.50)	(1.14)	(0.50)	(65.8)	(0.40)

*ในวงเล็บคือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

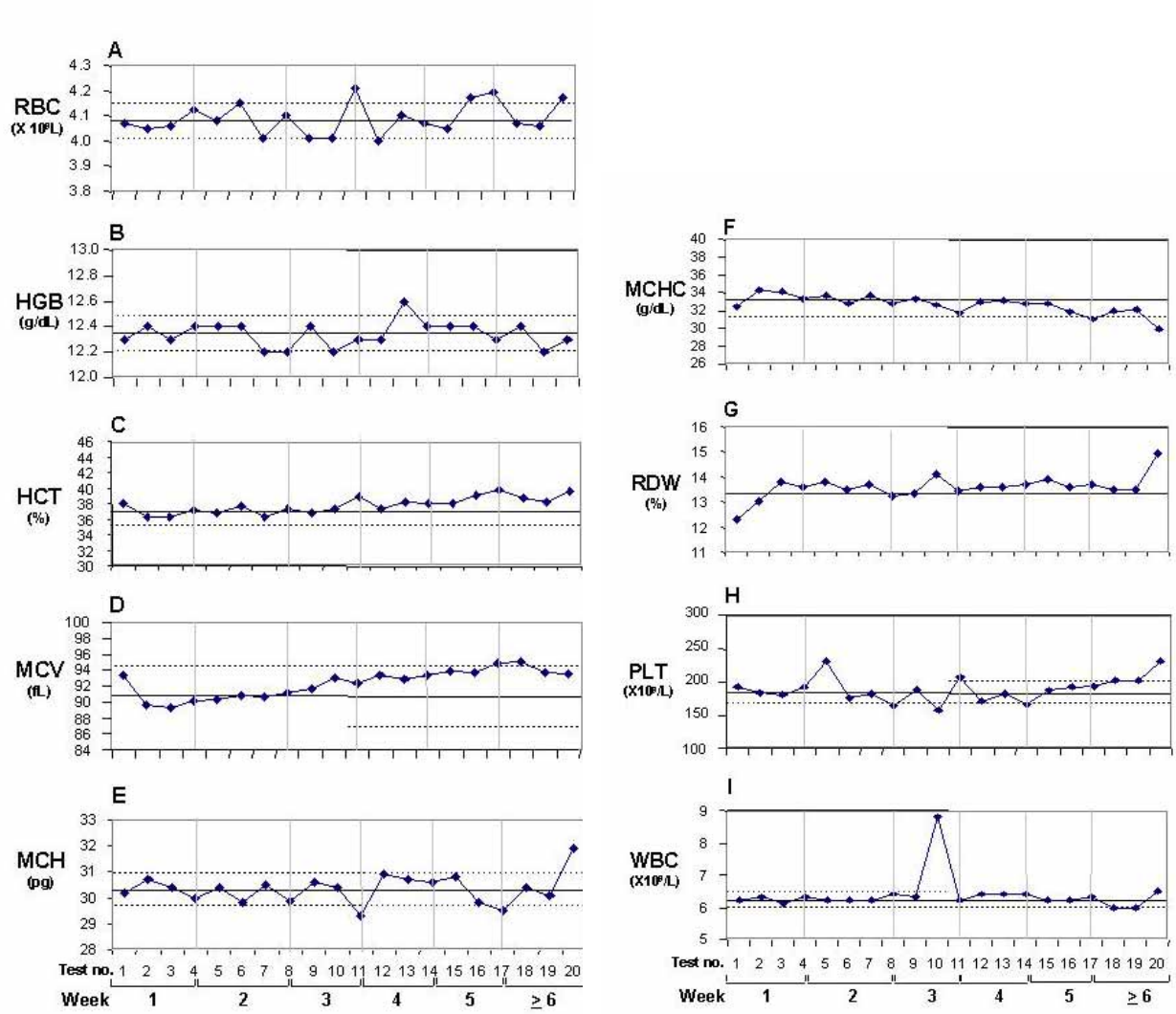
ตารางที่ 3 ความแปรปรวน (%CV) ของพารามิเตอร์ในวัสดุควบคุมคุณภาพจากเลือดรวมหลายแหล่ง จำแนกตามหมู่เลือด การเก็บ และ อุณหภูมิ

หมู่เลือด/ชนิดหลอด/อุณหภูมิ*	จำนวนการทดสอบ**	%CV of each parameter								
		RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	WBC
A/C/4	20	1.54	0.81	2.75	1.89	1.87	3.23	3.58	10.23	9.16
B/C/4	19	1.32	1.07	2.54	1.90	0.86	3.21	1.80	12.73	1.52
A/O/4	21	1.29	1.75	2.01	1.48	1.17	3.01	2.80	12.50	5.24
B/O/4	20	2.02	1.97	2.41	1.78	1.39	2.79	1.82	12.76	7.49
A/C/RT	18	2.01	1.84	6.45	5.04	0.79	5.18	2.99	14.83	5.01
B/C/RT	17	1.36	0.73	5.56	4.77	0.99	4.96	3.48	23.24	13.81
A/O/RT	18	12.53	13.23	15.83	5.24	1.66	4.55	7.88	33.74	26.57
B/O/RT	17	15.88	16.55	21.54	6.70	1.63	6.13	3.27	25.52	53.37

*C = closed vial, O = opened vial, 4 = 4 ^{O}ซ, RT = room temperature

** ทดสอบเลือดในภาชนะทั้งสองแบบนาน 2 เดือนสำหรับเลือดที่เก็บที่ 4 ^{O}ซ และนาน 1 เดือนสำหรับเลือดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง

เมื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ จากการตรวจวิเคราะห์วัสดุควบคุมคุณภาพชุดที่เก็บที่ 4^{O}ซ ทั้ง 2 แบบ โดยเปรียบเทียบค่าที่ตรวจวิเคราะห์ในแต่ละครั้งกับช่วงค่าเฉลี่ย (mean ± 2 SD) ของผลตรวจในสัปดาห์แรกตามเกณฑ์สำหรับงานควบคุมคุณภาพภายใน (Hall and Malia, 1991) พบว่าค่าพารามิเตอร์ส่วนใหญ่มีแนวโน้มคงที่อยู่ในช่วง 2 SD ติดต่อกันเป็นระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ยกเว้นค่า HCT, MCV, PLT ที่มีแนวโน้มสูงขึ้น และค่า MCHC ที่มีแนวโน้มลดลงในเดือนที่ 2 ดังกราฟแสดงผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุควบคุมคุณภาพของหมู่เลือด เอ ในรูปที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุควบคุมคุณภาพที่เตรียมจากหมู่เลือด บี ให้ผลตรวจอยู่ในช่วง mean ± 2SD ของสัปดาห์แรก ทำนองเดียวกับหมู่เลือด เอ ดังแสดงค่าเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันของพารามิเตอร์ต่างๆในแต่ละสัปดาห์ของหมู่เลือดทั้งสองในตารางที่ 1 และ 2



ภาพที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ในช่วง 2 เดือน
เส้นทึบแทนค่าเฉลี่ย (means) เส้นประแทนช่วง 2 SD ที่คำนวณจากข้อมูลในสัปดาห์แรก

วิจารณ์

วัสดุควบคุมคุณภาพสำเร็จรูปสำหรับงานควบคุมคุณภาพของเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติจะถูกผลิตโดยผู้ผลิตเครื่องอัตโนมัติ เพื่อให้มีคุณภาพจำเพาะกับการใช้งานของเครื่องซึ่งมีอายุการใช้งานจำกัดเนื่องจากการขนส่งระยะไกลและมีราคาแพง จึงได้มีการศึกษาวิจัยมากมายเพื่อที่จะเตรียมวัสดุควบคุมคุณภาพขึ้นใช้เอง อาทิ วัสดุควบคุมคุณภาพจากเลือดที่เก็บในสารกันเลือดแข็งตัวชนิดต่างๆ ได้แก่ อีดีทีเอ (EDTA) อ็อกซาเลท (balanced oxalate) และ เฮปาริน (sodium heparin) (Britin *et al*, 1996) หรือใช้กลูทาราลดีไฮด์ (glutaraldehyde) (Morgan *et al*, 1978; Anutti *et ,al*, 1997) หรือใช้ กลูทาราลดีไฮด์ร่วมกับสารฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) (Reardon *et al.*, 1990; Lewis and Dacies, 1995) หรือใช้สารยูเรีย (Springer *et al.*, 1999)โดยมีการศึกษาทั้งวัสดุควบคุมคุณภาพที่เตรียมจากเลือดคน (Anutti *et al*, 1997) หรือใช้เลือดสัตว์ (Vattanaviboon *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามวัสดุควบคุมคุณภาพ

ที่ดีนั้นจะต้องมีสภาพใกล้เคียงกับเลือดผู้ป่วย ไม่ว่าจะเป็นลักษณะของเซลล์ (morphology) ความหนืด (viscosity) ความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenity) และจะต้องมีค่าพารามิเตอร์ต่างๆคงที่ (reproducibility) และมีความคงทนอยู่ได้นาน (stability) เพื่อผลการตรวจที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด (Howanitz and Howanitz, 1987) วัสดุควบคุมคุณภาพที่เตรียมจากเลือดคนจึงเป็นวัสดุควบคุมคุณภาพที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเลือดผู้ป่วยมากที่สุด แต่การเตรียมวัสดุควบคุมคุณภาพขึ้นใช้เองต้องใช้เลือดปริมาณที่เพียงพอ ในการศึกษานี้พบว่าการรวมเลือดจะทำให้เลือดแต่ละคนถูกเจือจางซึ่งอาจเป็นผลจากการถูกเจือจางโดย CPD ซึ่งเป็นของเหลว หรือถูกเจือจางโดยเลือดที่นำมาผสมกัน ส่งผลให้พารามิเตอร์บางค่าลดต่ำลงและอาจต่ำลงกว่าค่าปกติ เช่น HGB, HCT และ MCV ในหมู่เลือด บี (ตารางที่ 1 และ 2) การตรึงเซลล์ด้วยสารกลูทาราลดีไฮด์และฟอร์มาลดีไฮด์ อาจทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลง ส่งผลให้ค่า HCT และ MCV ลดลงในระยะแรกได้ (Lewis and Dacies 1995) นอกจากนี้ เม็ดเลือดแต่ละคนอาจมีการเปลี่ยนแปลงขนาดเซลล์หลังการตรึงได้ต่างกัน เมื่อนำเลือดมารวมกันทำให้มีขนาดแตกต่างกันได้มากขึ้น ดังเห็นได้จากการเพิ่มค่า RDW ในช่วงต้นสัปดาห์แรก (รูปที่ 1) ดังนั้นในการคำนวณค่า mean ± 2SD เพื่อเตรียมกราฟสำหรับงานควบคุมคุณภาพภายในจึงควรทำการคำนวณในช่วงปลายสัปดาห์แรกหรือ 2-3 วันหลังการตรึงเซลล์ เพื่อให้เวลาเซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างจนเข้าสู่สภาพคงที่ก่อน แม้ว่าจะมีรายงานการเก็บวัสดุควบคุมคุณภาพไว้ได้ที่อุณหภูมิห้อง (Srisarin *et al.*, 2001) แต่จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเก็บวัสดุควบคุมคุณภาพที่เตรียมโดยวิธีการรวมเลือด พบว่า อุณหภูมิห้องไม่เหมาะสำหรับการเก็บเลือดชนิดนี้ (%CV สูง ดังแสดงในตารางที่ 3) เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงจะเร่งการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ทำให้ค่าต่างๆเปลี่ยนแปลงได้มาก (Spinger *et al.*, 1999) การเก็บวัสดุควบคุมคุณภาพที่ 4^{O}ซ จะช่วยรักษาสภาพเซลล์ได้ดีกว่า ผลการวิเคราะห์ส่วนใหญ่ให้ค่า CV อยู่ในช่วงที่กำหนดสำหรับเครื่อง (CV = 1.5-5%, Coulter, 1994) การตรวจวิเคราะห์แบบเปิดใช้ซ้ำ (opened vial) มีการผสมเลือดก่อนตรวจหลายครั้ง ซึ่งอาจมีผลกระตุ้นการจับกลุ่มของเม็ดเลือดขาวหรือเกล็ดเลือด การเปิดฝาหลอดทดลองบ่อยๆ ทำให้น้ำระเหย เลือดเข้มข้นขึ้น ทำให้ค่าการวิเคราะห์แปรปรวนกว้าง ดังเห็นได้ชัดจากค่า CV ของเลือดชุดที่เก็บแบบเปิดใช้ซ้ำ มีค่าสูงกว่าแบบเปิดใช้ครั้งเดียว (closed vial) (ตารางที่ 3) วัสดุควบคุมคุณภาพที่เตรียมต่างชุดกันควรได้คุณภาพดีใกล้เคียงกัน ค่า CV ควรอยู่ในช่วงกำหนดเหมือนกัน แต่ในการศึกษานี้มีการแกว่งของค่า CV ต่างกันได้บ้าง (ตารางที่ 3) ซึ่งอาจเนื่องจากเทคนิคการเตรียมยังไม่เหมาะสม จากกราฟการเปลี่ยนแปลงผลการวิเคราะห์ในช่วงต้นสัปดาห์แรกในรูปที่ 1 บ่งชี้ว่าหลังจากรวมเลือดแล้วควรเก็บเลือดไว้ 2-3 วัน ก่อนนำไปแบ่งแยกเป็นหลอดเล็กหรือก่อนนำไปวิเคราะห์เพื่อเตรียมค่า mean ± 2SD สำหรับเขียนกราฟ ทั้งนี้เพื่อให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจนเข้าสู่สภาพคงที่ก่อน มิฉะนั้นค่า mean ± 2SD อาจจะสูงหรือต่ำกว่าที่ควรจะเป็น ดังจะเห็นได้จากกราฟของ RDW ในรูปที่ 1 ซึ่งมีการคำนวณ mean ± 2SD ในช่วงที่ผลการวิเคราะห์กำลังเพิ่มขึ้น ทำให้ mean ± 2SD ต่ำกว่าที่ควร เมื่อนำเลือดที่เปลี่ยนแปลงจนเข้าสู่สภาพคงที่แล้วมาตรวจ จึงได้ค่าที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยที่คำนวณได้ ผลการวิเคราะห์เลือดที่เก็บที่ 4^{O}ซ ในภาชนะเก็บเลือดทั้ง 2 แบบ แสดงค่า CV ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงที่กำหนดไว้สำหรับเครื่องอัตโนมัติ ซึ่งบ่งชี้ว่าวัสดุควบคุมคุณภาพที่เตรียมจากเลือดรวมหลายแหล่งสามารถนำมาใช้ในงานควบคุมคุณภาพได้ การแกว่งของค่า CV ของการตรวจ WBC และ PLT อาจเกิดจากธรรมชาติของเซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดที่สามารถเกาะกลุ่มกัน การรวมเลือดอาจทำให้เซลล์มีการจับกลุ่มกันมากขึ้นทำให้การตรวจวิเคราะห์มีการเปลี่ยนแปลงได้ การเก็บเลือดไว้หลังการตรึง 2-3 วัน เทคนิคการเขย่าผสมในการรวมเลือดหรือการผสมเลือดที่ดีก่อนตรวจวิเคราะห์จะช่วยลดปัญหานี้ได้ ความคลาดเคลื่อนชนิดสุ่ม (random error) ที่เกิดในการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวครั้งที่ 10 (รูปที่ 1) เป็นอีกปัจจัย

ที่ทำให้ %CV สูงขึ้น หากคำนวณค่า CV ใหม่โดยไม่รวมความผิดพลาดดังกล่าวพบว่าค่า CV ลดลงจากร้อยละ 9.16 เหลือร้อยละ 2.16 เมื่อนำค่า mean ± 2SD ของผลการตรวจวิเคราะห์เลือดในสัปดาห์แรกมาเขียนเป็นกราฟควบคุมคุณภาพภายใน และนำค่าต่างๆที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละครั้งมาเขียนกราฟดังแสดงในรูปที่ 1 พบว่าค่าการวิเคราะห์ในเดือนแรกส่วนใหญ่อยู่ในช่วง mean ± 2SD ของสัปดาห์แรก และเริ่มมีแนวโน้มออกนอกช่วง 2SD ในเดือนที่สอง เช่น ค่า MCVและ HCT ที่สูงขึ้น ซึ่งส่งผลให้ MCHC ลดต่ำลง การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากระยะเวลาที่นานขึ้นทำให้ ATP ในเซลล์ลดลง เซลล์จึงไม่สามารถรักษาสภาพเซลล์ให้คงรูปเดิมได้ (Lewis and Dacie, 1995)

การศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปเบื้องต้นได้ว่า วัสดุควบคุมคุณภาพสามารถเตรียมได้จากการรวมเลือดหลายคนเข้าด้วยกัน ซึ่งสามารถเก็บเลือดที่เหลือจากการเจาะเก็บใน EDTA มาใส่ใน CPD เพื่อเติมน้ำยารักษาสภาพก่อนนำไปรวมกันตามชนิดหมู่เลือด เพื่อให้ได้เลือดในปริมาณที่เพียงพอต่อการใช้ในงานควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์เม็ดเลือดด้วยเครื่องอัตโนมัติ โดยการแบ่งเลือดใส่หลอดสำหรับใช้งานต่อครั้งหรือต่อสัปดาห์ เก็บที่อุณหภูมิ 4^{O}ซ จะใช้งานได้ประมาณ 1 เดือน ข้อมูลเหล่านี้สามารถใช้เป็นพื้นฐานข้อมูลในการพัฒนาการเตรียมวัสดุควบคุมคุณภาพที่มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งวิธีการรวมเลือดสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการเตรียมวัสดุควบคุมคุณภาพเพื่อการควบคุมคุณภาพภายนอกที่ต้องใช้เลือดในปริมาณมากกว่าการควบคุมคุณภาพภายใน เพื่อให้งานตรวจวิเคราะห์เซลล์โดยเครื่องอัตโนมัติมีคุณภาพและประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Anutti P., Bunyaratvej A., Patanapanyasat K. and Chuansumrit A. 1997. Control cells for both electrical impedance and light scattering automated hematological analyzers : preparation from normal and thalassemic blood sample. J Med Assoc Thai 80,suppl 1 : S92-S98.

Britin GM., Brecher G., Johson CA. and Elashoff RM. 1996. Stability of blood in commonly used anticoagulants: use of refrigerated blood for quality control of the Coulter Model S. Am J Clin Pathol 59 : 690 – 694.

Carson PA. and Dent NJ. 1990. Good Laboratory and Clinical Practice. Oxford: Butterworth-Heinemann, page 1-16.

Coulter Croporation. 1994. Coulter MAXM performance specifications. Miami, page 35-36.

Hall R. and Malia RG. 1991. Medical Laboratory Haematology 2nd ed. Oxford : Butterworth-Heinemann Ltd. page 113-126.

Howanitz PJ. and Howanitz JH. 1987. Laboratory quality assurance. McGraw-Hill Inc.

Lewis SM. and Dacie IV. 1995. Practical Haematology, 8th ed. New York: Churchill Livingstone.

Morgan LO., Jones WG., Fisher J. and Cavill I. 1978. A whole blood control for the Coulter Model S. J Clin Pathol 31 : 50 – 53.

Reardon DM., Mack D., Warner B. and Hutchinson D. 1991. A whole blood control for blood count analyzer, and source material for an external quality assessment scheme. Med Lab Sci 48 :19-26.

Srisarin A., Junglok W., Stienmetakul P., Chunsai N., Krikkraiporn W., Patheepchotivong K., *et al.* 2001. Internal and external control for automatic cell counter using partially stabilized whole blood. Proceedings of the

9th International Symposium on Quality Control and Management (ISQC), November 3-4, Osaka, Japan, page 58-63.

Springer W., Prohaska W., Newkammer J., Hope A. and Von Budcker A. 1999. Evaluation of new reagent for preserving fresh blood samples and its potential usefulness for internal quality controls of multichannel hematology analyzers. Am J Clin Pathol 111 : 387-396.

Vattanaviboon P., Seeyo W., Weerasilp P. and Srisarin A. 2001. Preserved swine blood : an alternative control material for abnormal hematological parameters. Proceedings of the 9th International Symposium on Quality Control and Management (ISQC), November 3-4, Osaka, Japan, page 168-170.

Vattanaviboon P., Sirisali K., Manochiopinij S. and Tankeyul B. 2002. Quality up and cost down of Thai clinical laboratory by the in-house control cell. Abstracts in Clin Chem Lab Med 40,special suppl. : S141.