

Development and Evaluation of Hemoglobin Control Materials for Point-of-Care Hemoglobinometer

Sumolta Posuwan^{1*} and Pramote Sriwanitchrak²

¹*Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,
Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

²*Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University,
Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

Abstract

A point-of-care (POC) hemoglobinometer has been widely used in blood donor selection because of its convenience, quantitative measurement of hemoglobin, and availability of quality control. HemoCue, with its own quality control materials provided, was one of the most common devices used worldwide. However, commercial control materials were expensive and required overseas purchase and distribution. The aim of this study was to produce internal quality control materials from expired donated blood samples and further evaluation by using a POC hemoglobinometer, HemoCue Hb 301. Expired donated blood samples were mixed with preservative materials, aliquoted and adjusted the hemoglobin concentrations to 3 levels (low, medium and high). The two productions of control materials were prepared with different hemoglobin concentrations. Subsequently, all control materials were assessed for homogeneity in accordance with ISO Guide 80:2014, prior to packaging and distributed to 4 certified blood banks complied with the Laboratory Accreditation of the Medical Technology Council. Stability and Levey-Jennings chart (L-J Chart) of internal quality control were examined in 4 certified blood banks for 30 days. The results showed that the homogeneity of all control materials was acceptable, as evidenced by one-way ANOVA with a 95% confident level. In addition, degree of stability determined for a period of at least 1 month at 4°C were acceptable, with the linear regression slope of stability. We observed the L-J Chart out of control 1_{3s} at two sites and out of control 1_{2s} for all four sites. Trends were detected at Site B (Lot. 1) and Site C (Lot. 2) on the 12th to 30th consecutive days, demonstrating interference of the analysis. These results might

*Corresponding author E-mail address: sumolta.pos@allied.tu.ac.th

Received: 28 January 2025

Revised: 22 April 2025

Accepted: 25 April 2025

be caused by random errors. In conclusion, the produced control materials were valid for the internal quality control of a point-of-care hemoglobinometer for a month. However, further study on the stability and performance assessment of various commercial point-of-care hemoglobinometers is needed.

Keywords: Point-of-care hemoglobinometer, Quality control material, Blood donor screening

การพัฒนาและศึกษาคุณลักษณะของสารควบคุมคุณภาพฮีโมโกลบินสำหรับเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว

สุมลทา โพธิ์สุวรรณ^{1*} และ ปราโมทย์ ศรีวาณิชรักษ์²

¹บัณฑิตศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

²ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

การคัดกรองฮีโมโกลบินในผู้บริจาคเลือดในปัจจุบันนิยมตรวจโดยเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว เนื่องจากสะดวกในการใช้งาน รายงานค่าเป็นตัวเลขและมีการควบคุมคุณภาพ เช่น เครื่อง HemoCue ที่มีสารควบคุมคุณภาพผลิตเอง แต่เนื่องจากสารควบคุมคุณภาพที่บริษัทจำหน่ายมีราคาสูง ต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้ เพื่อพัฒนาและประเมินสารควบคุมคุณภาพสำหรับเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว ยี่ห้อ HemoCue รุ่น Hb 301 เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เลือดบริจาคที่หมดอายุนำมาผสมสารรักษาสภาพ ปรับความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ต่ำ กลาง และสูง แบ่งรอบการผลิตเป็นสองรอบที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นนำไปประเมินคุณสมบัติของสารควบคุมคุณภาพตามมาตรฐาน ISO Guide 80:2014 โดยศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนแบ่งบรรจุและส่งไปยังงานธนาคารเลือดที่ได้รับการรับรองมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 4 แห่ง เพื่อประเมินความคงตัวและทดสอบ Levey-Jennings chart (L-J Chart) ผลการศึกษาพบว่า สารควบคุมคุณภาพมีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันทั้งสองรอบการผลิต ตัวอย่างที่จัดส่งไปยังงานธนาคารเลือดทั้ง 4 แห่ง มีความคงตัวเป็นระยะเวลานาน 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากผลการทดสอบระยะเวลา 1 เดือน สร้างกราฟ L-J chart พบว่าผลการทดสอบมีค่าเกินเกณฑ์ 1_{3s} 2 แห่ง ทุกแห่งพบ 1_{2s} ซึ่งไม่ได้เกิดจากความคลาดเคลื่อนเชิงระบบ พบแนวโน้ม (trend) ต่ำลงในช่วงวันที่ 12-30 ของ site B (Lot. 1) และ C (Lot. 2) ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยรบกวนการตรวจวิเคราะห์ สารควบคุมคุณภาพที่ผลิตนี้สามารถใช้ในการควบคุมคุณภาพภายในได้ในระยะเวลา 1 เดือน อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาระยะเวลาการใช้งานให้นานขึ้นและศึกษาในเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้วที่ใช้หลักการอื่นเพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ: เครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว สารควบคุมคุณภาพภายใน คัดกรองผู้บริจาคเลือด

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sumolta.pos@allied.tu.ac.th

รับบทความ: 28 มกราคม 2568

แก้ไขบทความ: 22 เมษายน 2568

รับตีพิมพ์บทความ: 25 เมษายน 2568

บทนำ

การคัดกรองผู้บริจาคเลือดในงานธนาคารเลือดเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ เพื่อให้มั่นใจได้ว่าผู้บริจาคเลือดมีสุขภาพดี สามารถบริจาคเลือดให้ผู้อื่นได้อย่างต่อเนื่องและยั่งยืน ในขณะเดียวกันผู้ป่วยที่ได้รับเลือดมีความปลอดภัย ได้เลือดที่มีคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย⁽¹⁾ ได้มีการกำหนดคุณสมบัติผู้บริจาคเลือดเบื้องต้น ให้มีการคัดกรองค่าของฮีโมโกลบิน (Hb) ก่อนการบริจาคเลือด ซึ่งเป็นขั้นตอนที่จำเป็นและสำคัญ ไม่อาจงดเว้นได้ โดยกำหนดการตรวจด้วยเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว ผู้หญิงมีค่าฮีโมโกลบิน 12.5-16.5 กรัม/เดซิลิตร ผู้ชายมีค่าฮีโมโกลบิน 13.0-18.5 กรัม/เดซิลิตร จึงจะสามารถบริจาคเลือดได้ด้วยเหตุนี้ วิธีที่จะใช้ในการตรวจวัดจึงจำเป็นต้องเป็นวิธีที่มีมาตรฐาน มีความไวและความจำเพาะที่น่าเชื่อถือ ราคาไม่สูง สะดวกต่อการใช้งานและต้องมีการควบคุมคุณภาพ ซึ่งวิธีเดิมนิยมใช้ ได้แก่ copper sulphate density method โดยวิธีนี้ถูกกำหนดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน American Association of Blood Banks; AABB Technical Manual⁽²⁾ โดยใช้หลักการความถ่วงจำเพาะ 1.051 ซึ่งเทียบเท่าฮีโมโกลบิน 12.0 กรัม/เดซิลิตร และ 1.053 ซึ่งเทียบเท่าฮีโมโกลบิน 13.0 กรัม/เดซิลิตร ซึ่งมีข้อดีคือต้นทุนราคาต่ำ แต่ไม่สามารถรายงานค่าเชิงปริมาณ ไม่สะดวกต่อผู้ใช้งาน และการควบคุมคุณภาพทำได้ยาก จึงมีการพัฒนาเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว (point-of-care hemoglobinometer: POC-Hb) ซึ่งมีการใช้งานอย่างแพร่หลาย เหมาะสมต่อการใช้งานทั้งในและนอกสถานที่รับบริจาคเลือด มีการรายงานค่าเชิงปริมาณและมีการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์

สำหรับยี่ห้อและรุ่นที่นิยมในงานธนาคารเลือด คือ HemoCue Hb 301 โดยใช้หลักการ photoelectric colorimetry ในการวัดปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินโดยตรงซึ่งใช้หลักการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเลือดที่อยู่ในไมโครคิวเวต ที่สองความยาวคลื่นแสง 506 และ 880 นาโนเมตร แล้วทำการคำนวณออกมาเป็นค่าฮีโมโกลบิน⁽³⁾ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วย POC-Hb นั้น ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีอื่นและให้ผลเชิงปริมาณ สามารถใช้ในการติดตามกำกับข้อมูลความเข้มข้นเลือดในผู้บริจาคได้ สะดวกต่อการพกพา และใช้เลือดปริมาณน้อยเพียง 10 ไมโครลิตร

เกณฑ์มาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิตสภากาชาดไทย⁽⁴⁾ และแนวทางการทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วยสำหรับประเทศไทย Thailand national guidelines for point-of-care testing (POCT)⁽⁵⁾ ได้มีการกำหนดการควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control: IQC) ซึ่งปกติแล้วต้องทำการทดสอบสารควบคุมคุณภาพก่อนทำการทดสอบในผู้บริจาคเลือดทุกครั้ง สารควบคุมคุณภาพที่ใช้ควรมีคุณสมบัติที่เหมาะสม มีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) เหมือนหรือใกล้เคียงกับตัวอย่างจริงของผู้ป่วยมากที่สุด ความเสถียรคงทนและมีระดับปริมาณสารชีวเคมีที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ที่มีความสำคัญทางคลินิกอย่างน้อย 2 ระดับ ซึ่งแต่ละยี่ห้อก็มีการใช้สารควบคุมคุณภาพที่มีลักษณะต่างกันและช่วงของค่าสารมาตรฐานแตกต่างกัน บางบริษัทมีสารควบคุมคุณภาพมาพร้อมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ เช่น Eurotrol ที่ถูกใช้ควบคุมคุณภาพสำหรับ HemoCue มีการจำหน่ายแยกกันกับชุดทดสอบส่งผลให้เกิดค่าใช้จ่ายในการควบคุมคุณภาพ เนื่องจากหน่วยบริการส่วนใหญ่มีการเปิดใช้งานเครื่องตรวจวิเคราะห์เป็นประจำทุกวัน

และบางแห่งมีการใช้งานมากกว่าหนึ่งเครื่องจึงต้องใช้สารควบคุมคุณภาพปริมาณมากขึ้นด้วย นอกจากนี้ สารควบคุมคุณภาพที่ใช้อยู่ในปัจจุบันที่มีขายในท้องตลาดยังมีราคาแพง ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ และมีอายุการใช้งานหลังเปิดใช้ 1 เดือน

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินสารควบคุมคุณภาพสำหรับใช้เป็นสารควบคุมคุณภาพภายในงานธนาคารเลือดของเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้วที่ HemoCue รุ่น Hb 301 ที่เตรียมจากเลือดบริจาคที่หมดอายุ

วัสดุและวิธีการ

1. การเตรียมสารควบคุมคุณภาพ

การศึกษานี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในคน สาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ รหัส 66AH014 โดยนำเลือดบริจาคที่หมดอายุจากงานธนาคารเลือดที่มีผลตรวจคัดกรองของไวรัสเอชไอวี ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบซี และซิฟิลิส เป็นลบ มาเตรียมเป็นสารควบคุมคุณภาพ

นำเลือดบริจาคที่หมดอายุจากงานธนาคารเลือดมาล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.15 โมลาร์ พีเอช 7.4 จนน้ำส่วนบนใส หลังจากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้ส่วนของเม็ดเลือดแดงแตกเป็นสารละลายฮีโมโกลบิน นำสารละลายฮีโมโกลบินมากรองด้วย

ผ้าก๊อชปราศจากเชื้อ หลังจากนั้นนำไปปรับระดับความเข้มข้นด้วยเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้วยี่ห้อ HemoCue รุ่น 301 เป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (ความเข้มข้น 6.2-7.8 g/dL) ระดับกลาง (ความเข้มข้น 11.8-14.2 g/dL) ระดับสูง (ความเข้มข้น 15.5-18.5 g/dL) และผสมกับสารรักษาสภาพ (สารละลาย d-glucose ในโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 + 0.1% โซเดียมเฮกซ์) เมื่อได้ระดับความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่ต้องการ แบ่งสารควบคุมคุณภาพเป็น 2 รอบการผลิต (lot.) เพื่อทดสอบระดับความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน โดยแต่ละรอบการผลิตเตรียม 3 ระดับความเข้มข้น แบ่งใส่บรรจุภัณฑ์ ระดับละ 10 ขวด ขวดละ 5 มิลลิลิตร จำนวนรวมทั้งหมด 30 ขวด (150 มิลลิลิตร) ต่อรอบการผลิต หลังจากนั้นทุกขวดจะถูกนำไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน รอบการผลิตที่ 1 จะถูกส่งไปยังงานธนาคารเลือด A และ B จำนวนแห่งละ 3 ขวด (15 มิลลิลิตร, Low = 5 มิลลิลิตร Medium = 5 มิลลิลิตร High = 5 มิลลิลิตร) รอบการผลิตที่ 2 จะถูกส่งไปยังงานธนาคารเลือด C และ D จำนวนแห่งละ 3 ขวด (15 มิลลิลิตร, Low = 5 มิลลิลิตร Medium = 5 มิลลิลิตร High = 5 มิลลิลิตร) เพื่อทำการทดสอบความคงตัวและการหาค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่กำหนด สารควบคุมคุณภาพเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก่อนนำไปทดสอบคุณสมบัติที่ต้องการศึกษา ดังแสดงใน Fig. 1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมสารควบคุมคุณภาพ

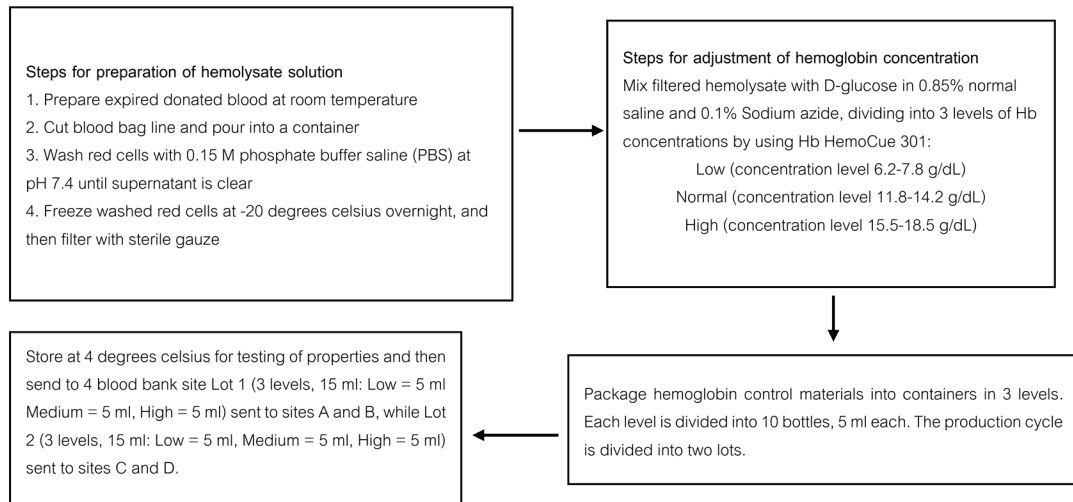


Fig. 1 Preparation steps of hemoglobin control materials.

2. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

นำสารควบคุมคุณภาพทั้ง 10 ขวดไปทดสอบคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันโดยนำตัวอย่าง 3 ระดับ ระดับละ 10 ขวด มาทำการทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ (duplicate) และนำผล 20 ค่าที่ได้ในแต่ละระดับมาทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้สถิติ One-Way ANOVA (analysis of variance)

3. การศึกษาคุณสมบัติของสารควบคุมคุณภาพ

3.1 การทดสอบความคงตัว (long-term stability)

หลังจากทดสอบคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันผ่านแล้ว จัดส่งสารควบคุมคุณภาพไปทดสอบด้วยเครื่องวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว HemoCue รุ่น 301 (ประเทศสวีเดน) ในงานธนาคารเลือดที่ได้รับการรับรองมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ (LA) ไม่นต่ำกว่า 5 ครั้ง จำนวน 4 แห่ง ได้แก่ A, B, C และ D แต่ละแห่งทดสอบสารควบคุมคุณภาพ 3 ระดับ โดยแบ่งการจัดส่งตามรอบการผลิต รอบการผลิตที่ 1 ส่งไปยังงานธนาคารเลือด A และ B รอบการผลิตที่ 2 ส่งไปยังงานธนาคารเลือด C และ D ทดสอบสารควบคุมคุณภาพทุกวันเป็นระยะ

เวลา 31 วัน โดยเก็บรักษาสารควบคุมคุณภาพที่ 4 องศาเซลเซียส นำผลการทดสอบมาศึกษาความคงตัว (long-term stability) ของสารควบคุมคุณภาพโดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย⁽⁷⁻⁹⁾ ในวันที่ 0 สามารถใช้ข้อมูลจากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันนำมาหาค่าเฉลี่ย ในวันที่ 7, 14, และ 28 ให้ทำการทดสอบตัวอย่าง 2 ครั้ง (duplicate) ทั้ง 2 แห่งและนำค่ามาหาค่าเฉลี่ย

การทดสอบความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพนั้นสามารถใช้การวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย ซึ่งมีตัวแปรตาม Y เป็นค่าหรือผลของการทดสอบและมีตัวแปรอิสระ X เป็นระยะเวลาในการเก็บสารควบคุมคุณภาพ ซึ่งสามารถประมาณค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียร $Y = bx + b_0$ เมื่อ Y = ค่าทดสอบ, X = วันที่ทดสอบ, b_1 = Slope, b_0 = Y-intercept โดยแปลผลทางสถิติ หาก slope of the linear regression มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงความเสถียรของสารที่ทดสอบ โดยกำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

3.2 การหาค่ากำหนด (characterization)

นำผลการทดสอบทั้ง 31 วัน มาสร้าง Levey-Jennings chart (L-J chart) และใช้กฎ

การควบคุมคุณภาพกำกับ เพื่อเป็นการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารควบคุมคุณภาพที่เตรียมขึ้น มาว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาที่ทดสอบหรือไม่ ในกรณีที่น่าไปใช้งานจริง โดยกำหนดเกณฑ์ยอมรับ จากค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.3 การทวนสอบความแม่นยำ (precision)

3.3.1 คำนวณหาค่าความแม่นยำ within-run precision จากผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ต้องได้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน $\%CV < 1.75\%$ (คือ $\frac{1}{4}$ ของ TEa ของฮีโมโกลบิน 7% เท่ากับ 1.75%)

3.3.2 คำนวณหาค่าความแม่นยำ between-run precision⁽⁹⁻¹⁰⁾ โดยเทียบกับ TE สำหรับฮีโมโกลบิน ที่มีค่า $\pm 7\%$ ต้องได้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน $\%CV < 2.31\%$ (คือ $\frac{1}{3}$ ของ TEa ของฮีโมโกลบิน 7% เท่ากับ 2.31%)

*อ้างอิงค่า TEa จาก American Association of Bioanalysts: AAB 2022⁽¹¹⁾

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

4.1 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้สถิติ one-way ANOVA ค่า F ที่คำนวณได้ต้อง น้อยกว่า F critical ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 การทดสอบความคงตัว การวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย $Y = b_1x + b_0$ เมื่อ Y = ค่าทดสอบ, X = วันที่ทดสอบ, b_1 = Slope, b_0 = Y-intercept โดยแปลผลทางสถิติ หาก slope of the linear regression มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญแสดง ว่ามีการเปลี่ยนแปลงความเสถียรของสารที่ทดสอบ⁽¹⁷⁾

4.3 การทดสอบสารควบคุมคุณภาพ ด้วย L-J Chart โดยทำการหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เพื่อนำ มาสร้างกราฟ $\pm 2SD$ และ $\pm 3SD$

4.4 คำนวณค่าความแม่นยำ within-run precision จากค่าทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน $\%CV < \frac{1}{4}$ ของ TEa ของฮีโมโกลบิน

4.5 คำนวณค่าความแม่นยำ between-run precision จากการทดสอบสารควบคุมคุณภาพ 30 วัน $\%CV < \frac{1}{3}$ ของ TEa ของฮีโมโกลบิน

ผลการวิจัย

1. ผลการเตรียมสารควบคุมคุณภาพ

สารควบคุมคุณภาพทั้ง 3 ระดับ ใน 2 รอบ การผลิต ที่เตรียมได้นั้น ได้ค่าความเข้มข้นของ ฮีโมโกลบินจากการทดสอบเครื่องวัดฮีโมโกลบินจากเลือด ปลายนิ้ว HemoCue รุ่น 301 ระดับความเข้มข้นของ ฮีโมโกลบินรอบการผลิตที่ 1 ที่ระดับต่ำ (low) มีความ เข้มข้นเท่ากับ 6.1 ± 0.2 กรัม/เดซิลิตร ระดับกลาง (medium) มีความเข้มข้นเท่ากับ 12.2 ± 0.2 กรัม/ เดซิลิตร และระดับสูง (high) มีความเข้มข้นเท่ากับ 15.3 ± 0.2 กรัม/เดซิลิตร ส่วนระดับความเข้มข้นรอบ การผลิตที่ 2 ระดับต่ำ (low) มีความเข้มข้นเท่ากับ 7.4 ± 0.2 กรัม/เดซิลิตร ระดับกลาง (medium) มีความเข้มข้นเท่ากับ 14.7 ± 0.2 กรัม/เดซิลิตร และระดับสูง (high) มีความเข้มข้นเท่ากับ 18.5 ± 0.2 กรัม/เดซิลิตร ดังแสดงใน Table 1

2. ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้สถิติ one-Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยได้ผลการทดสอบทั้ง 3 ระดับ ใน 2 รอบการผลิต ระดับละ 20 ค่า ดังแสดงใน Table 1 พบว่าค่าสถิติ one-way ANOVA ดังแสดงใน Table 2 ทั้งสองรอบ การผลิต พบว่า สารควบคุมคุณภาพทุกระดับในทั้งสองรอบการผลิตมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

Table 1 Homogeneity study of 10 bottles of control materials (low, medium, high) in duplicate. The data show hemoglobin levels, mean, standard deviation, coefficient of variation and variance.

Bottle Number	Low (g/dL)				Medium (g/dL)				High (g/dL)			
	Result 1	Result 2	Mean	Variance	Result 1	Result 2	Mean	Variance	Result 1	Result 2	Mean	Variance
<i>Lot.1</i>												
1	6.1	6.2	6.15	0.005	12.4	12.3	12.35	0.005	15.2	15.4	15.3	0.02
2	6.1	6.2	6.15	0.005	12.1	12.2	12.15	0.005	15.2	15.5	15.35	0.045
3	6	6.2	6.1	0.02	12.2	12.3	12.25	0.005	15.3	15.4	15.35	0.005
4	6	6.2	6.1	0.02	12.2	12.3	12.25	0.005	15.4	15.2	15.3	0.02
5	6.1	6.2	6.15	0.005	12.3	12.3	12.3	0	15.2	15.3	15.25	0.005
6	6.1	6.1	6.1	0	12.3	12.2	12.25	0.005	15.3	15.3	15.3	0
7	6.2	6.1	6.15	0.005	12.2	12.2	12.2	0	15.3	15.2	15.25	0.005
8	6.2	6.1	6.15	0.005	12.2	12.3	12.25	0.005	15.4	15.3	15.35	0.005
9	6.2	6.2	6.2	0	12.2	12.2	12.2	0	15.4	15.3	15.35	0.005
10	6.1	6.1	6.1	0	12.2	12.2	12.2	0	15.2	15.2	15.2	0
<i>Mean</i>			6.1				12.2				15.3	
<i>SD</i>			0.1				0.1				0.1	
<i>%CV</i>			1.1				0.6				0.6	
<i>Lot.2</i>												
1	7.4	7.3	7.35	0.005	14.7	14.6	14.65	0.005	18.3	18.3	18.3	0
2	7.3	7.3	7.3	0	14.6	14.7	14.65	0.005	18.4	18.5	18.45	0.005
3	7.4	7.3	7.35	0.005	14.7	14.7	14.7	0	18.6	18.5	18.55	0.005
4	7.6	7.3	7.45	0.045	14.6	14.6	14.6	0	18.6	18.6	18.6	0
5	7.4	7.5	7.45	0.005	14.8	14.6	14.7	0.02	18.6	18.5	18.55	0.005
6	7.5	7.2	7.35	0.045	15	14.7	14.85	0.045	18.6	18.7	18.65	0.005
7	7.7	7.3	7.5	0.08	14.7	14.6	14.65	0.005	18.5	18.5	18.5	0
8	7.3	7.4	7.35	0.005	14.6	14.8	14.7	0.02	18.6	18.5	18.55	0.005
9	7.4	7.4	7.4	0	14.8	14.8	14.8	0	18.6	18.6	18.6	0
10	7.4	7.3	7.35	0.005	14.9	14.7	14.8	0.02	18.7	18.6	18.65	0.005
<i>Mean</i>			7.4				14.7				18.5	
<i>SD</i>			0.1				0.1				0.1	
<i>%CV</i>			1.6				0.8				0.6	

Table 2 Hemoglobin control materials 2 Lots (low, medium and high) determined by a POC hemoglobinometer.

Lot.1					
	F	Sig.	F crit	F < F crit	Homogeneity
Low	0.350	0.935	3.02	Accept	Pass
Normal	2.148	0.125	3.02	Accept	Pass
High	0.505	0.841	3.02	Accept	Pass
Lot.2					
	F	Sig.	F crit	F < F crit	Homogeneity
Low	0.402	0.907	3.02	Accept	Pass
Normal	1.093	0.443	3.02	Accept	Pass
High	1.926	0.161	3.02	Accept	Pass

3. ผลการศึกษาคุณสมบัติของสารควบคุมคุณภาพ

3.1 การทดสอบความคงตัว (long-term stability)

สารควบคุมคุณภาพทั้ง 3 ระดับ ถูกส่งเพื่อนำไปทดสอบในงานธนาคารเลือดที่ผ่านการรับรองมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ พ.ศ. 2565 ด้วยเครื่องวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว HemoCue รุ่น 301 จำนวน 4 แห่ง (Site A, B, C, and D) รอบการผลิตที่ 1 ทดสอบที่ site A และ site B รอบการผลิตที่ 2 ทดสอบที่ site C และ site D เป็นระยะเวลา 1 เดือน ผลการทดสอบความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพสามารถใช้การวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย ซึ่งมีตัวแปรตาม Y เป็นผลของการทดสอบและ

มีตัวแปรอิสระ X ซึ่งสามารถประมาณค่าความไม่แน่นอนจากความเสถียร (u_{ls}) ได้ผลดังที่แสดงใน Table 3 เมื่อพิจารณาค่า Slope of the linear regression มีค่ามากกว่าระดับนัยสำคัญ (0.05) ทุกค่าการทดสอบ สรุปได้ว่า ยอมรับสมมติฐานหลัก ไม่มีสมการถดถอยในสมการความชันเป็น 0 หรือแสดงว่าเมื่อเวลาเปลี่ยนไป ผลการทดสอบของสารควบคุมคุณภาพไม่เปลี่ยนแปลง สารควบคุมคุณภาพที่นำมาทดสอบที่ 4 องค์กรเชลเซียส มีความคงตัวตลอดอายุเวลา 1 เดือน และสามารถหาค่าไม่แน่นอนจากความเสถียร (u_{ls}) ได้หน่วยเป็น กรัม/เดซิลิตร

Table 3 Stability of hemoglobin control materials (low, medium and high) determined by a POC hemoglobinometer at 0, 7, 14, 21 and 28 Days (storage at 4°C).

Lot.1															
Days	Hemoglobin concentration (g/dL)														
	Low					Medium					High				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
Mean	6.060	6.150	5.950	6.000	5.900	12.075	12.150	12.250	12.150	12.200	15.282	15.250	15.200	15.300	15.500
Slope			-0.007					0.004					0.007		
SE slope			0.003					0.003					0.004		
Intercept			6.108					12.115					15.210		
SE Intercept			0.056					0.046					0.076		
Correlation coefficient			0.592					0.368					0.447		
Slope of the linear regression significantly $P < 0.05$ (95%)			No					No					No		
Slope of the linear regression significantly $P < 0.01$ (99%)			No					No					No		
Test result			Stable					Stable					Stable		

Lot.2															
Days	Hemoglobin concentration (g/dL)														
	Low					Medium					High				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
Mean	7.353	7.500	7.400	7.200	7.350	14.745	14.850	14.550	14.600	14.600	18.485	18.600	18.450	18.400	18.450
Slope			-0.004					-0.008					-0.004		
SE slope			0.005					0.005					0.003		
Intercept			7.422					14.777					18.531		
SE Intercept			0.087					0.081					0.055		
Correlation coefficient			0.198					0.469					0.323		
Slope of the linear regression significantly $P < 0.05$ (95%)			No					No					No		
Slope of the linear regression significantly $P < 0.01$ (99%)			No					No					No		
Test result			Stable					Stable					Stable		

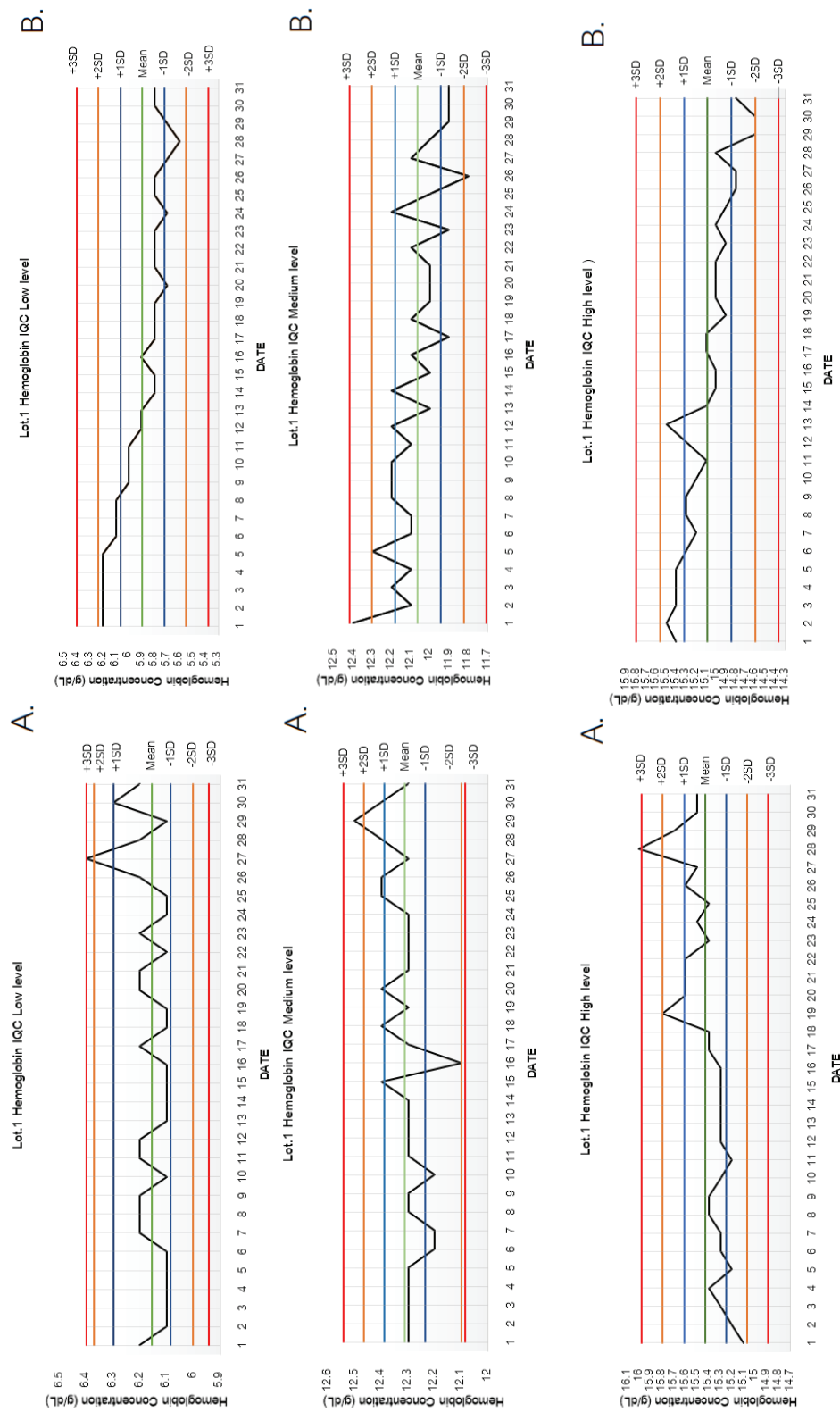


Fig. 2 Daily quality control chart of hemoglobin control materials Lot.1 (low, medium and high) determined by POCT hemoglobinometer at site A and B.

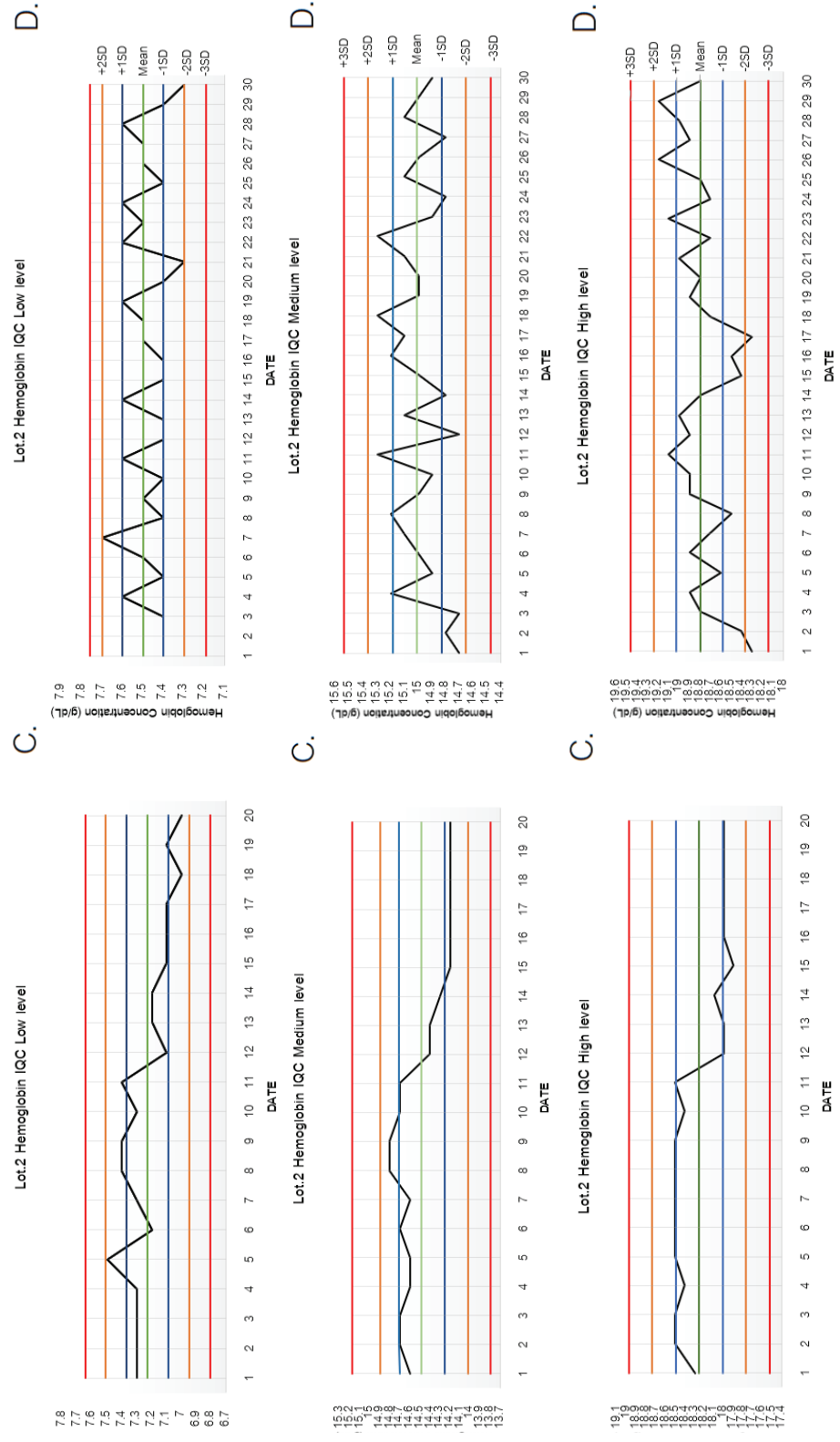


Fig. 3 Daily quality control chart of hemoglobin control materials Lot. 2 (Low, medium and high) determined by POC hemoglobinometer at site C and D.

3.2 การหาค่ากำหนด (characterization)

ผลการศึกษาศารควบคุมคุณภาพโดยใช้ L-J Chart โดยนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำมาสร้างกราฟควบคุมคุณภาพโดยกำหนด ค่าเฉลี่ย ± 2 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm 2SD$) และ ± 3 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm 3SD$) ได้ผลแสดงใน Fig. 2-3 พบว่าค่าในการทดสอบที่ Site A มีค่าเกินจากเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (reject) 1_{3s} ในวันที่ 27 (low) 28 (high) และ 1_{2s} ในวันที่ 29 (medium) ที่ Site B ให้ผล 1_{3s} ในวันที่ 1 (medium) และ 2_{2s} ในวันที่ 29-30 (high) ที่ Site C ให้ผล 1_{2s} วันที่ 5 (low) และที่ Site D ให้ผล 1_{2s} ในวันที่ 1,17 (high) และวันที่ 7 (low) และ

พบว่าใน Lot. ที่ 1 Site B พบ trend ที่ต่ำกว่า 1SD ประมาณวันที่ 12 และมีแนวโน้มต่ำลงจนถึงวันที่ 31 ส่วนใน Lot. ที่ 2 Site C พบ trend ที่ต่ำกว่า 1SD ในช่วงวันที่ 12 เช่นเดียวกัน

3.3 การทวนสอบความแม่นยำ (precision)

คำนวณหาค่าความแม่นยำ within-run precision จากผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน ของสารควบคุมทั้ง 3 ระดับ มีค่า $CV < TE_a$ ของฮีโมโกลบิน 7% คือ 1.75% ดังแสดงใน Table 1 และค่าความแม่นยำ (between-run) จำนวน 31 วัน ได้ค่า $\%CV < TE_a$ ของฮีโมโกลบิน 7% คือ 2.31% ทุกค่าการทดสอบ ดังแสดงใน Table 4

Table 4 Long-term imprecision between run of hemoglobin control materials for 3 levels at 4 sites from day 1 to day 31.

Lot.1	A			B		
	Low	Normal	High	Low	Normal	High
Mean	7.2	14.5	18.3	24.3	29.9	35.4
SD	0.1	0.2	0.2	0.3	0.4	0.4
%CV	1.9	1.6	1.3	1.0	0.7	0.4
$0.33 TE_a$	2.31	2.31	2.31	2.31	2.31	2.31
$\%CV < 0.33 TE_a$	Accept	Accept	Accept	Accept	Accept	Accept

Lot.2	C			D		
	Low	Normal	High	Low	Normal	High
Mean	7.2	14.5	18.3	7.2	14.5	18.3
SD	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2
%CV	1.9	1.6	1.3	1.9	1.6	1.3
$0.33 TE_a$	2.31	2.31	2.31	2.31	2.31	2.31
$\%CV < 0.33 TE_a$	Accept	Accept	Accept	Accept	Accept	Accept

วิจารณ์

การเตรียมสารควบคุมคุณภาพเพื่อใช้ภายในห้องปฏิบัติการมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย เนื่องด้วยการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการถือเป็นข้อกำหนดในการขอรับรองและแสดงให้เห็นถึงการตรวจวิเคราะห์ที่มีคุณภาพ ปัญหาที่พบบ่อยในการใช้สารควบคุมคุณภาพในปัจจุบัน ได้แก่ สารควบคุมมีลักษณะเป็นสารละลายไม่เหมือนตัวอย่างจริง มีช่วงในการทดสอบไม่ครอบคลุมกับช่วงใช้งาน ต้องใช้สารควบคุมคุณภาพปริมาณมากเนื่องจากทำการทดสอบทุกวัน และสารควบคุมคุณภาพต้องมีการนำเข้าส่งผลให้มีราคาสูง จึงทำให้หลายห้องปฏิบัติการเลือกที่จะเตรียมสารควบคุมคุณภาพเองเพื่อให้เหมาะสมต่อการใช้งาน เช่น การเตรียมสารควบคุมคุณภาพสำหรับวิเคราะห์ทองแดงในซีรัมของ Tusai และคณะ⁽¹²⁾ ที่ต้องการเตรียมสารควบคุมคุณภาพให้มีค่าอยู่ในช่วงการทดสอบและมีลักษณะเหมือนตัวอย่างของคนไข้หรือการศึกษาตัวอย่างทดสอบที่เหลือในงานประจำของ Kulkarni และคณะ⁽¹³⁾ ที่นำซีรัมจากงานประจำมาศึกษาและเตรียมเป็นสารควบคุมคุณภาพในงานเคมีคลินิก ข้อเสียจากการเตรียมสารควบคุมคุณภาพจากตัวอย่างทดสอบ คือ มีปริมาณน้อยและเสี่ยงต่อโรคติดเชื้อ การใช้เลือดผู้ป่วยจากที่หมดอายุจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเนื่องจากผ่านการตรวจโรคติดเชื้อและสามารถเตรียมได้ในปริมาณมาก การควบคุมคุณภาพเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้วในปัจจุบันมีลักษณะเป็นสารละลายและมีราคาสูง ต้องใช้ปริมาณมากเนื่องจากเป็น daily quality control อีกทั้งบางแห่งมีการใช้งานหลายเครื่อง และยังไม่มียางานการเตรียมสารควบคุมคุณภาพภายในของฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้วในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาการเตรียมและประเมินสารควบคุมคุณภาพเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือด

ปลายนิ้ว ตามมาตรฐาน ISO Guide 80:2014 โดยทำการผลิตเป็นสองรอบเพื่อทดสอบการปรับค่าความเข้มข้นว่าจะมีผลต่อการทดสอบหรือไม่⁽⁶⁾ จากผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันด้วยการคำนวณทางสถิติพบว่าค่า F ของสารควบคุมคุณภาพภายใน 3 ระดับความเข้มข้นมีค่าน้อยกว่า $F_{critical}$ และค่า $p-value > 0.05$ บ่งชี้ถึงความเป็นเนื้อเดียวกันของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 3 ระดับในสองรอบการผลิต

ผลการศึกษาความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพพบว่ามีความชันของสมการเชิงเส้นของทั้งสามระดับอยู่ในช่วงความเชื่อมั่น 95% ค่า slope of the linear regression ได้ค่า $p > 0.05$ อีกทั้งค่า slope ที่มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงให้เห็นความเสถียรของสารควบคุมที่ไม่เปลี่ยนแปลงแม้เวลาเพิ่มมากขึ้น intercept ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับค่ากำหนด (day 0) สามารถสรุปได้ว่าการเก็บสารควบคุมคุณภาพที่ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 1 เดือน ยังคงความเสถียรของสารควบคุมคุณภาพได้

ผลการศึกษานำสารควบคุมคุณภาพไปทดสอบ 31 วันเพื่อสร้าง L-J Chart พบว่ามีค่า out of control ที่เกิดจาก random errors ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าเกิดจากปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น การเปลี่ยนผู้ทำการทดสอบในแต่ละวันจากการทำงาน เช่น การทดสอบนอกเวลาราชการ การออกหน่วยรับบริจาคเลือดนอกสถานที่ เป็นต้น การไม่ปฏิบัติตามข้อแนะนำการทดสอบ เช่น การผสมตัวอย่างก่อนทดสอบ การดูดตัวอย่างเข้าคิวเวตต์ การซับตัวอย่างก่อนทดสอบ สารควบคุมคุณภาพที่ติดอยู่บนภาชนะบรรจุและการเก็บรักษาสารควบคุมคุณภาพที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับการศึกษาของ Anita Devi⁽¹⁴⁾ ที่มีการเตรียมสารควบคุมคุณภาพจากซีรัมและนำมาสร้าง L-J Chart พร้อมทั้งควบคุมด้วย

Westgard multirule พบว่ามี random errors และได้ทำการแก้ไขโดยเปลี่ยน calibrator พร้อมติดตามค่าในวันถัดไปจึงจะสามารถแก้ไขค่าที่เกินเกณฑ์ได้นอกจากนี้ยังพบค่าที่ต่ำลงใน Site B และ C ในวันที่ 12-31 ทั้ง 3 ระดับ ในกรณีนี้ค่าที่ได้มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ผู้วิจัยคาดว่าเกิดจากบรรจุภัณฑ์และการเก็บรักษาที่ส่งผลให้สารควบคุมคุณภาพมีค่าแนวโน้มต่ำกว่าค่าเฉลี่ยติดต่อกัน อย่างไรก็ตาม ที่ site A (รอบการผลิตที่ 1) และ site D (รอบการผลิตที่ 2) ที่มีการใช้สารควบคุมคุณภาพในรอบการผลิตเดียวกันยังให้ค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับจึงสามารถสรุปได้ว่าสารควบคุมคุณภาพที่เตรียมขึ้นมานี้มีอายุการใช้งานมากกว่า 1 เดือน ไม่มีแนวโน้มการเสื่อมสภาพ ของสารควบคุมคุณภาพเนื่องจากค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับทั้ง 4 แห่ง ในอนาคตหากมีการศึกษาเพิ่มเติมควรควบคุมปัจจัยที่อาจส่งผลต่อการตรวจวิเคราะห์ เช่น ใช้ผู้ตรวจวิเคราะห์เพียงคนเดียว ปฏิบัติตามแนวทางการทดสอบอย่างเคร่งครัดและเก็บรักษาสารควบคุมคุณภาพอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งควรทำการทดสอบในบรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกัน และควรเพิ่มระยะเวลาการทดสอบมากกว่า 1 เดือน

จากผลการทดสอบค่าความแม่นยำของการทดสอบอีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวัดอีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว ให้ผลการทดสอบ short-term imprecision, with in run โดยเฉลี่ยมีค่าน้อยกว่าค่าความแม่นยำ long-term imprecision, between run ซึ่งอาจเกิดจากการเก็บสารควบคุมคุณภาพในระยะเวลาที่นานขึ้น ส่งผลให้ค่าความแปรปรวนเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา การทดสอบค่าความแม่นยำเป็นการทดสอบการวัดซ้ำของวิธีโดยใช้สารควบคุมคุณภาพที่เตรียมขึ้นเพื่อทวนสอบการตรวจวิเคราะห์ภายใต้เงื่อนไขของห้องปฏิบัติการ ซึ่งค่าที่ได้จากการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับแสดงให้เห็นว่าภายใต้เครื่องมือ

ที่ทำการทดสอบ ผู้ทำการทดสอบและสภาพแวดล้อมเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับ

เนื่องด้วยมาตรฐาน ISO Guide 80:2014 ได้ถูกทดแทนด้วย ISO/TR 33402:2025 good practice in reference material preparation⁽¹⁵⁾ เมื่อวันที่ 10 มกราคม 2025 แต่เนื่องจากงานวิจัยชิ้นนี้ได้มีการออกแบบและทดลองในปี 2023-2024 จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องถึงส่วนที่มีการเปลี่ยนแปลงไปนั้นสาระสำคัญคือ ISO/TR 33402:2025 จะไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ความคงตัว และการหาค่ากำหนด แต่จะเน้นในส่วนของการขั้นตอนการเตรียมสารหรือวัสดุทุกชนิดและไม่เจาะจงในส่วนของการใช้สถิติในการควบคุมคุณภาพ ดังนั้นปัจจุบันมาตรฐาน ISO/FDIS 33405:2024⁽⁸⁾ จึงถูกใช้ในการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ความคงตัว และการหาค่ากำหนดในการเตรียมสารควบคุมคุณภาพเป็นหลัก ดังนั้น ผู้ที่ต้องการทำการศึกษเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารควบคุมคุณภาพที่เตรียมขึ้นมานั้นควรอ้างอิงถึงมาตรฐาน ISO/FDIS 33405:2024⁽⁸⁾ และ ISO 17034:2016⁽¹⁶⁾

สรุป

การศึกษาสารควบคุมคุณภาพภายในนี้มีผลการประเมินประสิทธิภาพผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO Guide 80:2014 สามารถนำไปใช้ทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งเดิมมีราคาประมาณ 3,000-5,000 บาท ต่อ 1 ชุด มี 3 ระดับความเข้มข้นของอีโมโกลบิน (ต่ำ, ปานกลาง และสูง อย่างละ 1 มิลลิตร รวม 3 มิลลิตร) อายุการใช้งาน 1 เดือน จึงมีต้นทุนเฉลี่ย 1,000 บาท : 1 มิลลิตร แต่สารควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นมานี้มีต้นทุนเพียง 100 บาท : 1 มิลลิตร ซึ่งประหยัดกว่าเดิมถึง 10 เท่า สามารถลดต้นทุนในการควบคุมคุณภาพภายใน

ห้องปฏิบัติการ เพิ่มการเข้าถึงสารควบคุมคุณภาพให้แพร่หลายมากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลมาใช้เป็นแนวทางสำหรับการพัฒนาสารควบคุมคุณภาพสำหรับเครื่องตรวจวัดฮีโมโกลบินจากเลือดปลายนิ้ว ในหลักการอื่นและพัฒนาอายุการเก็บรักษา (shelf life) บรรจุภัณฑ์ (packaging) ให้ใช้งานได้ยาวนานขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณงานธนาคารเลือดทั้ง 4 แห่ง ที่ให้ความร่วมมือ สนับสนุน ช่วยเหลือ งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Blood Donation Manual. Bangkok: Numaksorn Publishing; 2021. (in Thai)
2. American Association of Blood Banks. Technical Manual 15th Edition. United States: American Association of Blood Banks; 2005.
3. HemoCue AB. HemoCue® Hb 301 Operating Manual. Sweden.
4. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for Blood Banks and Transfusion Services 5th edition 2015. Bangkok: Udomsuksa.Ltd; 2024. (in Thai)
5. Opartkiattikul N. Thailand's National Guidelines for Point-of-care testing (POCT). 1st ed. Nonthaburi: Ministry of Public Health, 2015. (in Thai)
6. ISO Guide 80:2014. Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs), Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2014.
7. Worasapawit J. Understanding of Stability Testing in Reference Material by Regression Analysis. Department of Science Service, Ministry of Science and Technology 2014; 194: 26-9. (in Thai)
8. ISO/FDIS 33405:2024(en). Reference materials-Approaches for characterization and assessment of homogeneity and stability, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2024.
9. ISO 33401:2024(en). Reference materials-Contents of certificates, labels and accompanying documentation, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2024.
10. Lessons BASIC QC PRACTICES QC: The Levey-Jennings Control Chart [Internet]. [cited 2025 Jan 19]. Available From: <https://westgard.com/lessons/basic-qc-practices-l/lesson12.html>.
11. Total allowable error table, Data Innovations [internet]. [cite 2025 Jan 19] Available from: <https://datainnovations.com/allowable-total-error-table/>

12. Tusai T, Julchoo J, Pidetcha P, Intorn T. Study of In-house Internal QCMs Efficiency for Serum Copper Analysis. Mahidol R2R e-Journal 2023; 1: 55-65. (in Thai)
13. Kulkarni S, Pierre SA, Kaliaperumal R. Efficacy of Pooled Serum Internal Quality Control in Comparison with Commercial Internal Quality Control in Clinical Biochemistry Laboratory. J Lab Physicians 2020; 12: 191-5.
14. Anita Devi AN. Pooled Sera as an Alternative to Commercial Internal Quality Control in Clinical Laboratories J Clin Diagn Res 2023; 17: BC23-BC6.
15. ISO/TR 33402:2025(en). Good practice in reference material preparation, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2025.
16. ISO 17034: 2016 (E). General requirements for the competence of reference material producers, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2016.
17. Klaprajan K. Development of In-House HCG, Protein, and Glucose in Urine Control Material for Quality Assessment in Primary Care Units in the Saraburi Hospital Network. J Med Tech Assoc Thai 2022; 50: 8080-97.