|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ผู้จัดทำ :………………………….  (นางสาวนันทิยา ใหญ่ยงค์)  นักเทคนิคการแพทย์ | ผู้ทบทวน :…………………….  (นางวันเพ็ญ อุทัยพร)  นักเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดการวิชาการ | ผู้อนุมัติ :…………………….  (นางวชิราภรณ์ ทองเทศ)  ผู้จัดการคุณภาพหัวหน้างานชันสูตรสาธารณสุข |

**ประวัติการแก้ไข**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| วัน เดือน ปี  ที่ใช้ | แก้ไขครั้งที่ | หน้าที่แก้ไข | รายละเอียดการแก้ไข | ผู้แก้ไข | ผู้อนุมัติ |
| 3 เมษายน 2556 | 0 | - | เอกสารออกใหม่ | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

**การตรวจ Osmotic fragility (OF)**

**1.วัตถุประสงค์**

ใช้เป็นคู่มือการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยการทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง

**2. หลักการ**

เม็ดเลือดแดงปกติเมื่ออยู่ในน้ำเกลือความเข้มข้น ร้อยละ 0.85 จะคงสภาพปกติไว้ได้ แต่เมื่อลดความเข้มข้นของน้ำเกลือลงเรื่อยๆ น้ำจะแพร่เข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดง ทำให้เซลล์บวมขึ้น จนถึงความเข้มข้นของเกลือระดับหนึ่ง เม็ดเลือดแดงจะแตก การที่เม็ดเลือดแดงแตกง่าย (increased osmotic fragility) หรือแตกยาก (decreased osmotic fragility) ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของพื้นที่ผนังเซลล์ต่อความเข้มข้นของสารภายในเซลล์ซึ่งส่วนใหญ่ คือ ฮีโมโกลบินเม็ดเลือดแดงที่มีอัตราส่วนนี้สูงเช่น target cell และ hypochromic cell จะแตกยากในขณะที่ spherocyte จะแตกง่าย ดังนั้นในการทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดแดงจะแตกได้หมด แต่เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วย

ธาลัสซีเมียและพาหะธาลัสซีเมีย ที่มี target cell และ hypochromic cell จะไม่แตกอย่างไรก็ตามภาวะอื่นที่ทำให้เม็ดเลือดแดงมีลักษณะเป็น hypochromic cell เช่น ภาวะโลหิตจางจากการขาดเหล็ก หรือเป็น target cell เช่น ในผู้ป่วยโรคตับ สามารถให้ผลบวกปลอมได้

**3. วิธีการตรวจ**

Osmotic fragility (OF)

**4. เอกสารอ้างอิง**

โครงการวิจัยสถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียฯ ศูนย์วิจัยแลการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยการสนับสนุนของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

**5. คำนิยามและคำย่อ**

OF : Osmotic fragility

µL : Microlite

mL : Mililite

g/dL : กรัมต่อเดซิลิตร

fl : flamtolite

pg : picogram

MCV : Mean corpuscular volume

MCH : Mean corpuscular hemoglobin

Hct : Hematocrit

**6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

Internal Quality Control for OF,DCIP

**7. ความปลอดภัย**

7.1 สวมถุงมือ,เสื้อกาวน์ ทุกครั้งที่ปฏิบัติงาน

7.2 การทิ้งและการทำลายตัวอย่างตรวจ ควรปฏิบัติตามมาตรฐานควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาลที่กำหนดไว้

**8. เครื่องมือเครื่องใช้**

8.1 หลอดทดลองซึ่งมีน้ำยาบรรจุอยู่ 2 mL.

8.2 Autopipette ขนาด 20 µL.

8.3 Pipette tip

8.4 นาฬิกาจับเวลา

8.5 โคมไฟ

8.6 หลอดเลือด EDTA

**9. น้ำยาและสารมาตรฐาน**

9.1 KKU-OF

**10. วิธีดำเนินการ**

ขั้นตอนการทดสอบ

10.1 ผสมเลือดให้เข้ากันดี

10.2 ดูดเลือด 20 µL

10.3 เติมลงในหลอดทดลองซึ่งมีน้ำยาบรรจุอยู่ 2 mL. (ดูดล้าง tip 2-3 ครั้ง)

10.4 ปิดฝาและผสมให้เข้ากันดีโดยกลับหลอดไปมา

10.5 ตั้งทิ้งไว้ อย่างน้อย 15 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดปกติแตกสมบูรณ์

10.6 อ่านความขุ่นด้วยตาเปล่าโดยอ่านพร้อมกันหลายหลอด และเทียบกับเส้นหรือตัวอักษรสีดำ (ใต้โคมไฟ) สังเกตความคมชัดของเส้น

**11. การนับและการคำนวณ**

-

**12. การควบคุมคุณภาพ**

- ควรทำ positive และ negative control ควบคู่ไปด้วยทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

การเลือกตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพของน้ำยา

-เลือกจากเลือดที่เหลือจากงานประจำโดยอาศัยค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง

Positive control (OF) : MCV < 75 fl & MCH < 25 pg & Hb > 10 g/dl

Negative control(OF) : MCV > 85 fl & MCH > 28 pg & Hb > 13 g/dl

* เลือดที่เลือกไว้เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวก อาจเก็บไว้ที่ 2-8 C ได้นาน 1-3 วันขึ้นอยู่กับความขุ่นตั้งต้นเลือดที่ขุ่นมากจะเก็บไว้ได้นานกว่า

- การควบคุมคุณภาพโดยการใช้ตัวอย่างเลือดควบคุม เป็นการควบคุมคุณภาพน้ำยาและกระบวนการทดสอบ แต่ไม่ควบคุมความถูกต้องของการอ่านผล

- ส่ง Interlab 2 แห่ง ปีละ 1 ครั้ง

**13. การรายงานผลและการแปลผล**

ขุ่น (ไม่เห็นเส้นหรือไม่คมชัด) : Positive

ใส (เส้นคมชัด) : Negative

**14. ค่าปกติ**

Negative

**15. ข้อระวัง,ข้อจำกัด**

- ควรสังเกต น้ำยาควรมีลักษณะใส

- น้ำยาไม่จำเป็นต้องทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนทำการทดสอบ

- ตัวอย่างเลือดที่ทดสอบเป็นเลือดเจาะใหม่ หรือเก็บที่ 2-8 C ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

- ไม่ควรใช้เครื่องช่วยผสม เพราะแรงกระแทกอาจทำให้เม็ดเลือดแดงแตก

- ตัวอย่างเลือดที่ซีดมาก (Hct < 25%) ควรใช้เลือด 40 µL ในการทดสอบ

- ตัวอย่างเลือดแต่ละราย จะให้ผลความขุ่นมากน้อยแตกต่างกัน ขึ้นกับจำนวนเม็ดเลือดแดง ที่ผิดปกติ