

นิพนธ์ต้นฉบับ

## การศึกษาผลลบลวงจาก Erythrocyte Osmotic Fragility Test ในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย ในเขตภาคเหนือตอนล่าง

สมลักษณ์ กันธิยะวงษ์<sup>1</sup> พีระพล วงษ์<sup>1</sup> เอกอมร เทพพรหม<sup>1</sup> แนน้อย เจริญนิ่ม<sup>1</sup> ปริศนา เจริญพร<sup>1</sup>  
รวีสุต เตียววิศเรศ<sup>1</sup> และ ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี<sup>2</sup>

<sup>1</sup>หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ <sup>2</sup>ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**บทคัดย่อ :** Erythrocyte osmotic fragility test (OFT) เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างง่ายที่ทำในโรงพยาบาลชุมชน หรือสถานีนอมนาย เพื่อใช้ตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย การตรวจดังกล่าวมีความสำคัญในระบบการกำหนดความเสี่ยงของโรคธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์และสามี **วัตถุประสงค์ :** เพื่อศึกษาจำนวนผลลบลวงจาก OFT ที่ทำในโรงพยาบาลชุมชนในเขตภาคเหนือตอนล่าง เพื่อนำข้อมูลมาปรับปรุงประสิทธิภาพของระบบการควบคุมโรคธาลัสซีเมียในเขตภาคเหนือตอนล่าง **วิธีการ :** รวบรวมตัวอย่างเลือดที่มีผล OFT เป็นลบจำนวน 859 ตัวอย่าง ตัวอย่างเลือดดังกล่าวถูกนำส่งพร้อมกับเลือดของกลุ่มสมรรถที่มีผล OFT เป็นบวกจากโรงพยาบาลชุมชน 23 แห่ง ในจังหวัดพิษณุโลก เพชรบูรณ์ สุโขทัย และอุตรดิตถ์ เพื่อวินิจฉัยและกำหนดความเสี่ยงของโรคธาลัสซีเมีย ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ ระหว่าง สิงหาคม 2551 ถึง พฤษภาคม 2552 นำมาตรวจชนิดฮีโมโกลบินโดยวิธี high performance liquid chromatography และตรวจหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย ชนิด Southeast Asian และ Thai deletion โดยวิธี polymerase chain reaction **ผลการวิจัย** จากเลือดที่มีผล OFT เป็นลบจำนวน 859 ตัวอย่าง พบพาหะธาลัสซีเมียชนิด heterozygous hemoglobin (Hb) E 217 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.3) heterozygous beta thalassemia 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.1) heterozygous alpha thalassemia-1 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.7) และพบ homozygous Hb E 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.6) เมื่อนำผลที่ได้จากการศึกษามาจับคู่กันกับผลการวินิจฉัยของกลุ่มสมรรถที่มีผล OFT เป็นบวก ซึ่งส่งมาพร้อมกันเพื่อกำหนดความเสี่ยงของโรคธาลัสซีเมียพบว่าจำนวนคู่เสี่ยงเพิ่มขึ้นจำนวนสองคู่ เป็นคู่เสี่ยงของ compound heterozygous Hb E/beta thalassemia จำนวน 1 คู่ และ Hb Bart's hydrops fetalis จำนวน 1 คู่ **สรุป** จากผลการวิจัยสามารถประมาณการอัตราการเกิดผลลบลวงจาก OFT ในพาหะธาลัสซีเมียแต่ละชนิด ซึ่งค่าที่ได้ส่วนใหญ่สูงกว่าในทางทฤษฎี โดยเฉพาะไม่ควรพบผลลบลวงใน homozygous Hb E เลย แต่ในทางปฏิบัติความผิดพลาดดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้จากสาเหตุต่างๆ

**Key Words :** ● ธาลัสซีเมีย ● การตรวจคัดกรอง ● Osmotic fragility test ● ผลลบลวง

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2555;22:101-5.

### บทนำ

Erythrocyte osmotic fragility test (OFT) เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียที่ทำได้ง่าย ราคาถูก ซึ่งนิยมทำกันในโรงพยาบาลชุมชน โดยใช้หลักการของความคงทนของเม็ดเลือดแดงในน้ำเกลือเจือจาง (hypotonic saline) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.36-0.45<sup>1-3</sup> ในการทดสอบ ที่ความเข้มข้นนี้

ได้รับต้นฉบับ 24 กันยายน 2554 ให้ลงตีพิมพ์ 9 มกราคม 2555

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นพ. พีระพล วงษ์ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จ.พิษณุโลก

e-mail: peeraponwong@hotmail.com

เม็ดเลือดแดงของคนปกติจะแตกหมด แต่เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยหรือผู้ที่เป็นพาหะโรคธาลัสซีเมียจะคงทนอยู่ได้โดยที่เม็ดเลือดแดงไม่แตก การทดสอบนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียทั้งชนิด alpha thalassemia และ beta thalassemia โดยให้ผลบวกโดยรวมใน heterozygous alpha thalassemia-1 และ heterozygous beta thalassemia ร้อยละ 97.7-100<sup>2,3</sup>, heterozygous hemoglobin (Hb) E ร้อยละ 83.3<sup>3</sup> และ homozygous Hb E ร้อยละ 100<sup>4</sup>

ความผิดพลาดในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียโดยใช้ OFT จนนำไปสู่การเกิดผลลบลวง (false negative) สามารถ

เกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนของการตรวจ เริ่มจากระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างเลือด จากการศึกษาเวลาในการเปลี่ยนผลการตรวจ OFT จากบวกเป็นลบ ของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ทำการสุ่มตัวอย่างพาหะธาลัสซีเมียแต่ละชนิดมาตรวจ OFT โดยทิ้งตัวอย่างเลือดไว้รอการตรวจ ทำการตรวจ OFT ทุกวันจนกว่า OFT จะให้ผลการตรวจเปลี่ยนจากบวกเป็นลบ พบว่า heterozygous beta thalassemia จะให้ผล OFT เปลี่ยนจากบวกเป็นลบในวันที่ 4 ภายหลังเก็บตัวอย่างเลือด homozygous Hb E จะให้ผลลบเมื่อทิ้งตัวอย่างเลือดไว้ถึงวันที่ 5 heterozygous Hb E ให้ผลการเปลี่ยนแปลงที่หลากหลายโดยให้ผลลบตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 4 เป็นต้นไป ส่วน heterozygous alpha thalassemia-1 แม้จะทิ้งตัวอย่างเลือดไว้นานถึง 10 วัน แต่ผลการทดสอบยังคงให้ผลเป็นบวก

การเกิดผลลบจาก OFT ยังเกิดได้จากวิธีการตรวจของห้องปฏิบัติการโดยพบว่าห้องปฏิบัติการหลายแห่งในโรงพยาบาลชุมชนไม่มี micropipette ใช้ในการทดสอบ OFT ทำให้ปริมาตรเลือดที่ใช้ในการตรวจไม่เท่ากัน นอกจากนี้ประสบการณ์ในการแปลผลการตรวจโดยดูความขุ่น/ใสของน้ำยาทดสอบอาจเกิดความผิดพลาดได้เช่นกัน

โรงพยาบาลชุมชน 23 แห่งในเขตภาคเหนือตอนล่างประกอบด้วย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ สุโขทัย และอุตรดิตถ์ ใช้ OFT ในการตรวจคัดกรองเบื้องต้นหาพาหะธาลัสซีเมียของคู่สามีภรรยาที่กำลังจะมีบุตรโดยหากตรวจพบว่าให้ผลบวกในคนใดคนหนึ่ง หรือให้ผลบวกทั้งคู่ จะดำเนินการส่งเลือดของทั้งสามีและภรรยามาตรวจหาความเสี่ยงที่จะให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร การอ่านผลการตรวจ OFT ที่ใช้กันอยู่ในโรงพยาบาลชุมชนทั้งหมด เป็นการอ่านผลด้วยตาเปล่าโดยดูจากความขุ่นและใสของน้ำยาทดสอบหลังจากที่เม็ดเลือดแดงแตกตัว

การศึกษาครั้งนี้ต้องการรู้ข้อเท็จจริงของจำนวนการเกิดผลลบในการตรวจคัดกรองหาพาหะธาลัสซีเมียโดยใช้ OFT ในเขตภาคเหนือตอนล่าง ในขั้นตอนการปฏิบัติจริงของโรงพยาบาลชุมชน

### วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาจำนวนผลลบจากการตรวจคัดกรองหาพาหะธาลัสซีเมียโดยวิธี OFT ในเขตภาคเหนือตอนล่าง เพื่อนำข้อมูลมาปรับปรุงประสิทธิภาพในการคัดกรองและการควบคุมโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในเขตภาคเหนือตอนล่าง

### วัสดุและวิธีการ

รวบรวมตัวอย่างเลือดทุกตัวอย่างที่มีผลการตรวจ OFT เป็นลบ ซึ่งถูกส่งมาจากโรงพยาบาลชุมชน 23 แห่ง ในเขตภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งประกอบด้วย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ สุโขทัย และ อุตรดิตถ์ เพื่อตรวจวินิจฉัยและหาความเสี่ยงของโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ระหว่างสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2552 จำนวนทั้งสิ้น 859 ตัวอย่าง เป็นหญิง 406 ตัวอย่าง และชาย 453 ตัวอย่าง

การตรวจ OFT ของโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 23 แห่ง ใช้น้ำยาทดสอบทั้งชนิด 0.36% saline และ 0.45% glycerin saline solution คละกันไป

### วิธีดำเนินงาน

1. ตัวอย่างเลือดที่มีผล OFT เป็นลบทั้ง 859 ตัวอย่าง จะถูกนำมาตรวจเพิ่มเติมดังนี้

- ตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb typing) โดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC)
- ตรวจหาพาหะชนิด alpha thalassemia-1 โดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ทั้งชนิด Southeast Asian (SEA) และ Thai

2. ตัวอย่างเลือดที่พบว่าเป็นพาหะธาลัสซีเมียจะถูกนำผลการตรวจมาประเมินหาความเสี่ยงในการให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงโดยทำการจับคู่กับผลการตรวจของคู่สมรสที่ให้ผล OFT เป็นบวกซึ่งได้รับการตรวจพาหะธาลัสซีเมียโดยขั้นตอนปกติก่อนหน้านี้เพื่อหาความเสี่ยงเพิ่มเติม (ในขั้นตอนปกติตัวอย่างเลือดที่มีผล OFT เป็นบวก จะได้รับการตรวจ HPLC และ alpha thalassemia-1 PCR ส่วนตัวอย่างเลือดที่มีผล OFT เป็นลบ จะได้รับการคัดกรองพาหะของ Hb E โดยวิธี DEAE sephadex microcolumn chromatography จากนั้นจึงนำผลที่ได้มาจับคู่กันเพื่อหาความเสี่ยง)

### ผลการวิจัย

ตัวอย่างเลือดที่มีผลการตรวจ OFT จากโรงพยาบาลชุมชนเป็นลบทั้ง 859 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินโดยวิธี HPLC พบ heterozygous Hb E 217 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.3) heterozygous beta thalassemia 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.1) และ homozygous Hb E 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.6) ผลการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี PCR เพื่อตรวจหา alpha thalassemia-1 พบ heterozygous alpha thalassemia-1 ชนิด SEA 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.7) ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 1

เมื่อนำผลที่ได้จากการตรวจเพิ่มเติมดังกล่าวมาจับคู่กับผลการตรวจของคู่สมรสที่มีผลการตรวจ OFT เป็นบวก ซึ่งได้รับการตรวจ

**Table 1** Thalassemia genotypes of blood samples with negative erythrocyte osmotic fragility test.

Thalassemic genotypes	Number (%) (n = 859)
heterozygous hemoglobin E	217 (25.3)
heterozygous beta thalassemia	1 (0.1)
heterozygous alpha thalassemia-1	6 (0.7)
homozygous hemoglobin E	5 (0.6)
normal	630 (73.3)

หาพาหะธาลัสซีเมียโดยขั้นตอนปกติก่อนหน้านี้แล้ว พบคู่เสี่ยงเพิ่มขึ้นจำนวน 2 คู่ เป็นคู่เสี่ยงของ compound heterozygous Hb E / beta thalassemia จากผลลบลงของ heterozygous beta thalassemia จำนวน 1 คู่ และเป็นคู่เสี่ยงของ Hb Bart's hydrops fetalis จากผลลบลงของ heterozygous alpha thalassemia-1 จำนวน 1 คู่

### วิจารณ์

จากตารางที่ 1 ข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นเพียงร้อยละของตัวอย่างเลือดที่ให้ผลลบจากการตรวจ OFT แต่ผลการตรวจเพิ่มเติมพบว่า เป็นพาหะธาลัสซีเมีย ข้อมูลดังกล่าวไม่ใช่อัตราการเกิดผลลบลงที่แท้จริง เนื่องจากความหมายของอัตราการเกิดผลลบลงจากการตรวจ OFT คือร้อยละของพาหะธาลัสซีเมียที่ให้ผลลบจากการตรวจ OFT แต่เนื่องจากการศึกษานี้ไม่ได้เริ่มจากการหาพาหะธาลัสซีเมีย จึงไม่สามารถบอกอัตราการเกิดผลลบลงดังกล่าวได้อย่างไรก็ตามเพื่อให้เห็นภาพอัตราการเกิดผลลบลงของ OFT ในทางปฏิบัติพอสังเขป ผู้เขียนจึงพยายามประมาณการอัตราการเกิดผลลบลงดังกล่าว โดยเริ่มจากการประมาณการจำนวนพาหะธาลัสซีเมียแต่ละชนิดในการศึกษารั้งนี้ก่อน การศึกษารั้งนี้รวบรวมตัวอย่างเลือดที่ให้ผล OFT เป็นลบจำนวน 859 ตัวอย่าง ข้อมูลของจังหวัดพิษณุโลกพบว่า หญิงตั้งครรภ์มีอัตราการให้ผลบวกจาก OFT ร้อยละ 30.5<sup>5</sup> ดังนั้นจากการคำนวณคาดว่าจะมีประชากรเริ่มต้นที่ได้รับการตรวจคัดกรองในงานวิจัยนี้ 1,236 ตัวอย่าง (859 x 100/69.5) โดยข้อมูลความชุกของ heterozygous beta thalassemia ในเขตภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งใช้ข้อมูลของศูนย์อนามัยที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ซึ่งประกอบไปด้วยจังหวัดน่าน อุตรดิตถ์ แพร่ และพิษณุโลก เท่ากับร้อยละ 4.8<sup>6</sup> ดังนั้นควรจะมี heterozygous beta thalassemia ในงานวิจัยนี้ทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง (1,236 x 4.8/100) การพบ heterozygous beta thalassemia 1 ตัวอย่างที่ให้ผล OFT เป็นลบจาก heterozygous beta thalassemia ทั้งหมด

60 ตัวอย่าง เท่ากับประมาณการอัตราผลลบลงร้อยละ 1.7 จากที่ควรจะเป็นร้อยละ 0-2.3 ในทางทฤษฎี (ความไวของ OFT ในการตรวจคัดกรอง heterozygous beta thalassemia เท่ากับร้อยละ 97.7-100<sup>2,3</sup>)

เช่นเดียวกัน heterozygous Hb E มีความชุกในเขตภาคเหนือตอนล่างร้อยละ 19.3<sup>6</sup> จากการคำนวณคาดว่ามีตัวอย่างเลือดของผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ในงานวิจัยทั้งหมด 239 ตัวอย่าง จากงานวิจัยนี้มีตัวอย่างเลือดของ heterozygous Hb E ที่ให้ผลลบจาก OFT มากถึง 217 ตัวอย่าง คิดเป็นประมาณการอัตราผลลบลงถึงร้อยละ 90.8 ซึ่งสูงกว่าผลการวิจัยก่อนหน้านี้ โดยจากการศึกษาของ Kattamis และคณะพบผลลบลงร้อยละ 32.0<sup>1</sup> การศึกษาของเฟื่องลดาและคณะพบผลลบลงร้อยละ 16.7<sup>3</sup>

Homozygous Hb E มีความชุกในเขตภาคเหนือตอนล่างร้อยละ 2.2<sup>6</sup> จากการคำนวณคาดว่ามีตัวอย่างเลือดของผู้ที่เป็น homozygous Hb E ในงานวิจัยทั้งหมด 27 ตัวอย่าง โดยพบว่า มีตัวอย่างเลือดที่ให้ผลลบจาก OFT 5 ตัวอย่าง คิดเป็นประมาณการอัตราผลลบลงร้อยละ 18.5 ซึ่งในทางทฤษฎีไม่ควรพบผลลบลงจาก OFT ใน homozygous Hb E เลย<sup>4</sup>

Heterozygous alpha thalassemia-1 มีความชุกในเขตภาคเหนือตอนล่างร้อยละ 9.4<sup>6</sup> จากการคำนวณคาดว่าจะมีตัวอย่างเลือดของผู้ที่เป็น heterozygous alpha thalassemia-1 ในงานวิจัยทั้งหมด 116 ตัวอย่าง โดยพบว่า มีตัวอย่างเลือดที่ให้ผลลบจาก OFT 6 ตัวอย่าง คิดเป็นประมาณการอัตราผลลบลงร้อยละ 5.2 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่สูงเมื่อเทียบกับทฤษฎี (ความไวของ OFT ในการคัดกรอง heterozygous alpha thalassemia-1 เท่ากับร้อยละ 97.7-100<sup>2,3</sup>)

ประมาณการอัตราการเกิดผลลบลงที่พบในทางปฏิบัติของงานวิจัยนี้ส่วนใหญ่สูงกว่าอัตราการเกิดผลลบลงในทางทฤษฎี<sup>1-4</sup> โดยเฉพาะไม่ควรพบผลลบลงใน homozygous Hb E เลย นอกจากนี้ยังพบว่าประมาณการอัตราการเกิดผลลบลงใน heterozygous Hb E ที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่สูงมาก ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้อาจสอดคล้องกับอัตราการเกิดผลลบลงโดยใช้ OFT ในทางทฤษฎี ซึ่งโดยปกติอยู่ในเกณฑ์ที่สูงอยู่แล้ว (16.7-32.0%<sup>1,3</sup>) ทำให้การคัดกรองพาหะของ Hb E ในทางปฏิบัติจำเป็นต้องใช้การตรวจคัดกรองอีกหนึ่งวิธีควบคู่กันไปเสมอ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้อาจแสดงให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้นว่าการคัดกรองพาหะของ Hb E โดยใช้ OFT ในทางปฏิบัติยังมีโอกาสสูงมากในการเกิดผลลบลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโดยปกติพาหะของ Hb E แต่ละรายจะให้ผล OFT ที่ชัดเจนแตกต่างกันไปอยู่แล้วเมื่อดูด้วยตาเปล่า ทำให้ผลที่ไม่ชัดเจนถูกแปลว่าเป็นผลลบได้ง่าย นอกจากนี้การทิ้งตัวอย่างเลือดไว้เพื่อรอการตรวจอาจให้ผล

ผลบวกได้ตั้งแต่วันที่ 2 ถึงวันที่ 4 เป็นต้นไป ซึ่งเป็นระยะเวลาในการเปลี่ยนผลการตรวจ OFT จากบวกเป็นลบที่สั้นมากเมื่อเทียบกับพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่น

ในงานวิจัยนี้มีความแตกต่างของชนิดน้ำยาทดสอบที่ใช้ในแต่ละโรงพยาบาล จึงทำให้ไม่สามารถสรุปผลได้ว่าจำนวนผลลบลวงดังกล่าว เป็นผลจากชนิดของน้ำยาทดสอบชนิดใดชนิดหนึ่งหรือไม่ หรืออาจเกิดจากการควบคุมคุณภาพของน้ำยาทดสอบที่ไม่เพียงพอ นอกจากนี้ผลลบลวงดังกล่าวอาจเกิดจากระยะเวลาในการส่งตัวอย่างเลือดที่ล่าช้า อาจเกิดจากความผิดพลาดในการตรวจของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเอง ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนของการตรวจ ตลอดจนการแปลผลการตรวจ

การที่มีผลลบลวงจากการตรวจดังกล่าวทำให้การวินิจฉัยหาผู้เสี่ยงต่อการให้กำเนิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงเกิดความผิดพลาด ดังจะเห็นได้จากผลการวิจัยนี้ ซึ่งพบว่ามีความเสี่ยงที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงเพิ่มขึ้นจำนวน 2 คู่ ได้แก่ คู่เสี่ยงของ Hb Bart's hydrops fetalis จำนวน 1 คู่ และ compound heterozygous Hb E / beta thalassemia จำนวน 1 คู่

จากอัตราการเกิดผลลบลวงจาก OFT ในทางปฏิบัติที่พบดังกล่าว คณะผู้วิจัยเห็นว่า การตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียโดยใช้วิธีการตรวจอื่นที่ไม่มีปัจจัยเรื่องของความผิดพลาดส่วนบุคคล (human error) เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น การตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดด้วยเครื่องอัตโนมัติ (complete blood count) ซึ่งมีอยู่แล้วในโรงพยาบาลชุมชนทุกแห่ง โดยใช้ค่า mean corpuscular volume หรือ mean corpuscular hemoglobin<sup>7</sup> ในการคัดกรอง อาจจะสามารถช่วยลดอัตราการเกิดผลลบลวงในทางปฏิบัติ และเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียได้ดีขึ้น อย่างน้อยก็สามารถลดความผิดพลาดที่เกิดจากบุคคลได้ อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาในการส่งส่งตรวจ และการควบคุมคุณภาพของเครื่องอัตโนมัติเอง ยังคงเป็นปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง ในกรณีที่ไม่มีเครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ การตรวจ OFT ควรมีข้อกำหนดให้ปฏิบัติในทางเดียวกัน เช่น ระยะเวลาในการเก็บเลือดก่อนทำการทดสอบ บุคลากรที่ทำการทดสอบและแปลผลควรได้รับการฝึกอบรมให้ทราบวิธีที่

ถูกต้อง เพื่อลดความผิดพลาดในการทดสอบ

### สรุป

จากการประมาณการที่คำนวณได้ อัตราการเกิดผลลบลวงจาก OFT ในพาหะธาลัสซีเมียแต่ละชนิดในทางปฏิบัติส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่าในทางทฤษฎี โดยเฉพาะไม่ควรพบผลลบลวงใน homozygous Hb E เลย แต่ในทางปฏิบัติความผิดพลาดดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ

### Reference

1. Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting beta-thalassaemia trait. *J Med Genet* 1981;18:266-70.
2. Sirichotiyakula S, Tantipalakoma C, Sanguansermisri T. Erythrocyte osmotic fragility test for screening of alpha thalassemia-1 and beta-thalassemia trait in pregnancy. *Int J Gynecol Obstet* 2004;86:347-50.
3. Tongprasert F, Sirichotiyakul S, Piyamongkol W, Tongsong T. Sensitivity and specificity of simple erythrocyte osmotic fragility test for screening of alpha thalassemia and beta thalassemia trait in pregnant woman. *Gynecol Obstet Invest* 2010;69:217-20.
4. Sanguansermisri T. Laboratory methods for thalassemia disease and traits. In: Sanguansermisri T, Ponputkul M, Fucharoen P, Fucharoen S, Lepnak T, eds. *Manual laboratory diagnosis for thalassemia*. Bangkok: Thalassemia networks and thalassemia foundation of Thailand, 1998:16-78.
5. Wong P, Thanomrut P, Srithipayawan S, Taytiwat P, Jernnim N, Niyomthom S, et al. Prevalence of thalassemia trait from screening program in pregnant woman of Phitsanulok. *Thai J Hematol Transf Med* 2004;14:181-6.
6. Tienthavorn V, Pattanapongsthor J, Charoensak S, Sae-Tung R, Charoenkwan P, Sanguansermisri T. Prevalence of thalassemia carriers in Thailand. *Thai J Hematol Transf Med* 2006;16:307-12.
7. Sukapanichanun S. Diagnostic of thalassemia disease and traits. In: Sirinawin J, Limwong C, Sukapanichanun S, eds. *Thalassemia primer for disease prevention and control*. Bangkok: Folk doctor, 2004:80-94.

## False Negative Results of Erythrocyte Osmotic Fragility Test from Thalassemia Carrier Screening in Lower Northern Thailand

Somluck Kanthiyawong<sup>1</sup>, Peerapon Wong<sup>1</sup>, Akamon Tapprom<sup>1</sup>, Nangnoi Jernnim<sup>1</sup>,  
Prissana Charoenporn<sup>1</sup>, Rawisut Deoisares<sup>1</sup> and Torpong Sanguansersri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Thalassemia Research Unit, Faculty of Medicine, Naresuan University, Phitsanulok; <sup>2</sup>Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai

**Background:** Erythrocyte osmotic fragility test (OFT) is a simple tool used in community hospitals and primary care units to screen for thalassemia carrier states in normal population. **Objective:** To study the false negative result of OFT in the real world situation. **Method:** Eight hundred fifty nine samples with negative OFT result from 23 community hospitals in Phitsanulok, Phetchabun, Sukhothai and Uttaradit province, together with their positive-OFT spouses' blood, were sent to Thalassemia Research Unit, Faculty of Medicine, Naresuan University, to detect at-risk couples for severe thalassemia diseases during August 2008 to May 2009. Every negative-OFT sample was tested using high performance liquid chromatography and analyzed for alpha thalassemia-1 (Southeast Asian and Thai deletions) using polymerase chain reaction. **Result:** Among 859 negative-OFT samples, there were 217 (25.3%) heterozygous hemoglobin (Hb) E, 1 (0.1%) heterozygous beta thalassemia, 6 (0.7%) heterozygous alpha thalassemia-1 and 5 (0.6%) homozygous Hb E. When we reconsidered these false negative results with their positive-OFT spouses, two additional at-risk couples were found. One is at risk for compound heterozygous Hb E / beta thalassemia and the other for hemoglobin Bart's hydrops fetalis. Both at-risk couples resulted from false negative OFT for beta thalassemia and alpha thalassemia-1 carrier respectively. **Conclusion:** From this data, estimation of the false negative rate of OFT in each type of thalassemia carrier could be performed. The majority of calculated results were higher than expected especially in homozygous Hb E that should not theoretically show negative OFT. However, many unexpected mistakes could have occurred in the real world situation.

**Key Words :** ● Thalassemia ● Screening test ● Osmotic fragility test ● False positive

**J Hematol Transfus Med 2012;22:101-5.**

