



ลักษณะคำถามมี 3 ประเภทคือ

1. คำถามทั่วไป
2. คำถามเกี่ยวกับเทคนิคการตรวจและการอ่านผล
3. คำถามเกี่ยวกับการแปลผลการตรวจ

ถาม: อยากทราบการแปลผล การวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด (prenatal diagnosis, PND) อย่างมั่นใจไม่โดนฟ้องร้อง กรณีไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ยีน (mutation analysis)

ตอบ: ในที่นี้หมายถึงการตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบิน (HPLC Analysis) แทนการตรวจวิเคราะห์ยีน (mutation analysis) ประเด็นที่จะให้ผลได้แน่นอน คือธาลัสซีเมียชนิด beta-thal⁰/beta-thal⁰ จะไม่มี Hb A แต่ถาเป็น beta-thal⁺/beta-thal⁰ หรือ beta-thal⁺/beta-thal⁺ จะพบ Hb A ได้ การแปลผลจะยากผิดพลาดได้อย่างไรก็ตามการตรวจวิเคราะห์ยีน (mutation analysis) ก็อาจโดนฟ้องได้เช่นกัน

ถาม: ในการตรวจกรองธาลัสซีเมีย (OF, DCIP) ถ้ากรณีที่ผลการตรวจครั้งแรกกับครั้งหลังไม่ตรงกันมีปัจจัยใดบ้างทำให้เกิดเหตุการณ์นี้

ตอบ: เป็นไปได้ว่าตรวจครั้งใดครั้งหนึ่งตรวจผิด การตรวจ OF สองครั้งอาจได้ผลแตกต่างกันบางแต่การตรวจ DCIP ถ้าได้ผลบวกน่าจะได้เหมือนกัน

ถาม: การตรวจกรองธาลัสซีเมียในคลินิกฝากครรภ์ สามารถตรวจ OF, DCIP, Hb type เมื่ออายุครรภ์มากกว่า 16 สัปดาห์ได้หรือไม่

ตอบ: ในทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory) ไม่ได้มีปัญหาเชิงเทคนิคแต่อย่างใด แต่ถ้าได้ผลการตรวจซ้ำจะไม่มีผลต่อการวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอดหรือการยุติการตั้งครรภ์ ดังนั้นจึงแนะนำให้ตรวจกรองก่อนอายุครรภ์ 16 สัปดาห์

ถาม: กรณีคู่เสี่ยง OF บวกทั้งคู่ Hb type ปกติ PCR for alpha thalassemia 1 (SEA) ให้ผลลบ ควรแนะนำคู่เสี่ยงอย่างไรให้เหมาะสม

ตอบ: ถ้ามีผลการตรวจ MCV ใหญ่ MCV ด้วยถ้า MCV ต่ำอาจขอตรวจ PCR for alpha-thalassemia 1 (Thai deletion) ถ้าได้ผลลบอีก ให้บอกคู่เสี่ยงว่าไม่เป็นไร ไม่ได้เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดที่จะก่อให้เกิดโรคชนิดรุนแรงแต่อย่างใด

ถาม: กรณี OF ได้ผลเป็น suspicious (ค่าอยู่ระหว่าง บวก และลบ) หรือ MCV อยู่ระหว่าง 78-79 fL (ค่ามากกว่า 80 fL ถือว่าปกติ) ควรจะแปลผลอย่างไร

ตอบ: น่าจะถือว่าการตรวจกรองเป็น บวก แล้วส่งตรวจยืนยันต่อไป

ถาม: การแปลผลทางห้องปฏิบัติการและการให้คำปรึกษา ถ้า (OF +/DCIP-),(OF-/DCIP+),(OF+/DCIP+) กรณีใดที่สามารถบอกได้ว่ามีพาหะธาลัสซีเมียโดยที่ยังไม่ได้ส่งตรวจ Hb type

ตอบ: เนื่องจากเป็นการตรวจกรองยังไม่ได้ ต้องส่งตรวจ Hb type เพื่อยืนยันก่อน กรณีนี้ได้แต่เพียงสงสัยว่าจะเป็นพาหะธาลัสซีเมีย หรือ พาหะฮีโมโกลบินอื่น

ถาม: ข้อควรระวังในการใช้ OF/DCIP มาตรวจกรองเบื้องต้นทำไมบางครั้งผลตรวจกรองกับผล Hb typing ไม่สอดคล้องกันเช่น DCIP + แต่ตรวจ Hb typing ไม่พบ HbE

ตอบ: ให้ทำการตรวจ control ด้วยทุกครั้งและต้องทราบชนิดของพาหะด้วยทุกครั้ง

เป็น false positive result อันเนื่องจากหลายสาเหตุ เช่น น้ำยาเทคนิคการตรวจและการอ่านผล อุณหภูมิ เวลา ตัวอย่างเลือด และปริมาณเลือด เป็นต้น

ถาม: เลือดที่นำมาทำ Hb typing ควรตรวจภายใน 24 ชั่วโมง แต่ถ้าทำไม่ได้เก็บไว้อีก 2-3 วันค่อยมาทำจะส่งผลอย่างไรบ้าง (เป็นศูนย์แล้ว) ควรระวังเรื่องอะไรบ้าง

ตอบ: ตรวจภายใน 2-3 วัน ยังน่าจะยังใช้ได้ อยู่ แต่ขอให้เก็บเลือดไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C

ถาม: ผู้ป่วยรายหนึ่งมีสีเลือดแดงมากกว่าปกติ พอทำ OF/DCIP ใช้เลือด 20 µL ได้ผลลบทั้งคู่ (ให้ สีจางเหมือนผู้ที่ Hct < 20% ทั้งที่มี Hct 35% พอใช้เลือด 2 เท่า (40 µL) ให้ผลบวกไม่แน่ใจนำไปทำ Hb typing: ได้ผลเป็น EA

ถาม: อยากทราบว่าถ้ามีปัญหามันมีสีเลือดแดงกว่าปกติควรทำอย่างไร ที่กล่าวมาเป็นปัญหาด้านเทคนิคการตรวจ การตรวจกรองดูตะกอนเป็นหลัก ไม่ใช่ดูสี

ถาม: ผู้ป่วยทำ OF/DCIP ให้ผล DCIP +/- (บวกน้อยๆ) MCV 85 fL, Hct 45%, ทำให้ตัดสินใจไม่ได้ เอาไปทำ Hb typing ได้เป็น EA ในกรณีถ้าเป็นรพ. ชุมชน ดูจาก MCV อย่างเดียวไม่ได้ส่ง Hb typing ต่อ ทำให้เกิดปัญหาผิดพลาดได้มีวิธีแก้อย่างไร

ตอบ: ดู MCV แล้วตรวจ DCIP ด้วยและโดยทั่วไป ถ้าได้ผล +/- จะถือว่าเป็นเหมือน + ไว้ก่อน เพื่อส่ง Hb typing ต่อไป

ถาม: การตรวจกรองด้วย MCV ถ่านน้อยกว่า 80 fL ส่ง Hb typing ปรกติ และ สามีเทียบกับการตรวจ OF/DCIP มีค่าใช้จ่ายและผลดี ต่างกันอย่างไร

ตอบ: - ตรวจ MCV อย่างเดียวหลุด Hb E trait ได้ เพราะ Hb E trait บางรายมี MCV > 80 fL จึงต้องใช้ MCV ต่อด้วย DCIP - ค่าใช้จ่ายของ OF/DCIP น่าจะถูกกว่า MCV + DCIP แต่



MCV เทคนิคการทำงานกว่า OF ไม่มีปัญหาเรื่องการแปลผล (observer dependent) และได้ข้อมูลอย่างอื่นด้วยเช่น ค่าความเข้มข้นของเลือด (Hb, Hct)

ถาม: การตรวจกรองถ้าตรวจด้วย CBC และ DCIP ไม่ได้ตรวจ OF ถ้าผลผิดปกติแพทย์จะสั่งตรวจ Hb typing และตรวจ DCIP สามี่ไม่ทราบว่าจะทำแบบนี้จะครอบคลุมหรือไม่

ตอบ: นอกจากตรวจ DCIP สามี่แล้ว ควรต้องตรวจ CBC สามี่ ด้วย (หรือตรวจ OF แทนก็ได้)

ถาม: ผล DCIP positive แต่เมื่อทำ Hb typing แล้วได้เป็น A₂A แสดงว่าเป็น DCIP false positive ใช่หรือไม่หรือว่าอาจเกิดจากปัจจัยอื่นไม่ทราบว่าปัจจัยใดบ้าง

ตอบ: ให้ตรวจสอบเรื่องน้ำยา เทคนิคการตรวจ อุณหภูมิ เวลา water bath ตัวอย่างเลือดและทำ known sample มาทำเป็น control ด้วยทุกครั้ง

ถาม: ตรวจ OF ผลขึ้นแต่เมื่อดู MCV = 95 fL (ค่าปกติ) ควรรายงานผล OF ว่า Positive หรือ Negative

ตอบ: รายงานว่า OF Positive แต่มีโอกาสน้อยที่จะเป็น พาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 หรือ พาหะของเบตาธาลัสซีเมีย

ถาม: การอ่านผล OF ถ้าใช้วิธีปั่นแล้วดูการตกตะกอนของ Rbc จะได้หรือไม่

ตอบ: ปกติดูการตกตะกอนของ Rbc กันตลอดได้ ถ้าไม่ แน่ใจ แต่ไม่ต้องปั่น

ถาม: สตรีแพทย์ฝากถามว่า A₂ = 3.9 % จะตัดสินใจว่าปกติหรือผิดปกติ

ตอบ: ดูข้อมูลอย่างอื่นประกอบ ถ้า OF + หรือ MCV ต่ำ อาจสงสัย พาหะของเบตาธาลัสซีเมีย ได้ (ถ้าค่า A₂ ถูก) ตรวจ A₂ ซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีอื่นเพื่อยืนยัน เพราะ อาจเกิดจากปัญหา carry over effect ของ HPLC

ถาม: ปริมาณ HbA₂ เท่าไหร่จึงจะให้การวินิจฉัยว่าเป็นพาหะของเบตาธาลัสซีเมีย

ตอบ: โดยทั่วไปใช้ค่า > 4.0 % ขึ้นไป ถ้าค่าที่ตรวจ A₂ 3.5 - 4.0 % ให้สงสัยต้องดูข้อมูลอื่นๆประกอบอาจตรวจซ้ำหรือทำ family study ค่าปกติขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ตรวจด้วย และปัจจัยอื่นๆด้วย เช่น ชาติพันธุ์หรือภาวะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 รวมจะมีปริมาณ Hb A₂ ต่ำได้

ถาม: กลุ่มพาหะของเบตาธาลัสซีเมีย จำเป็นต้องตรวจหาพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ด้วยหรือไม่ ถ้าจำเป็นจะมีเกณฑ์ในการเลือก case มาตรวจอย่างไรหรือต้องตรวจทุกราย

ตอบ: ให้ดูที่คู่สมรส ถ้าคู่สมรสเป็นหรือสงสัยว่าจะ เป็น พาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ก็ควรถวายไปตรวจ

ถาม: น้ำยา Clearing solution ในการตรวจ DCIP หลังจากละลายแล้วเก็บได้กี่วัน

ตอบ: โดยทั่วไปเก็บได้ประมาณ 3 เดือนที่ 4° C และ 6 เดือนถ้า Freeze แต่ห้ามใช้ tips ของ pipette สกปรกจะไปดู

ถาม: เลือด (EDTA blood) เก็บที่ 4° C ได้นานเท่าใดที่สามารถนำมาทำ OF/ DCIP ได้โดยไม่เกิดปัญหาและ เลือดเก่าที่วันทำไม่ได้ จะเก็บปัญหาอย่างไรถ้าทำแล้วมีผลการตรวจอย่างไรบ้าง

ตอบ: โดยทั่วไป OF ควรตรวจภายในวันเดียว เก็บไว้นาน เกิด false negative ได้ ส่วน DCIP เก็บไว้ได้นานกว่า รายที่ DCIP บวกจะยังคงบวกอยู่ แต่อาจมี false positive ได้ ทางที่ดีควรตรวจทันทีจะดีกว่า

ถาม: อยากทราบปัจจัยต่างๆที่ทำให้อ่านผล OF, DCIP ยาก

ตอบ: ถ้าขาดการฝึกอบรม ให้เข้ารับการฝึกอบรม ฝึกการอ่านให้ชำนาญกับผู้รู้เทคนิคการอ่านผล ฝึกทำกับ known case (ทั้ง + และ -) มากๆ ในระยะแรกจนชำนาญ

ถาม: ปัญหาการอ่านผล OF, DCIP เมื่อครบเวลา 15 นาที ผลไม่ชัดเจนคือมีความขุ่นเพียงเล็กน้อยกรณีนี้ควรรายงานผลอย่างไรมีวิธีแก้ไขปัญหาอย่างไร

ตอบ: ถ้าเป็น DCIP ตรวจสอบอุณหภูมิ water bath ว่า ถึง 37° C หรือไม่ อุณหภูมิไม่ถึง จะเกิดตะกอน น้อย

ถาม: การอ่านผล OF ถ้าไม่ชัดเจนสามารถตั้งทิ้งไว้ค้างคืนแล้วอ่านผลการตกตะกอนที่กันตลอดได้

ตอบ: สามารถอ่านได้

ถาม: การตรวจควรใช้เลือดเขย่าหรือผสม (mix) ก่อนหรือเลือดที่ตั้งทิ้งไว้จนตกตะกอนก่อนในปริมาณ 20 µL ทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างไรมีผลกระทบต่อผลการแปลผลหรือไม่

ตอบ: แนะนำให้ใช้ whole blood 20 ml ผสม (mix) ก่อน ใช้เลือดมากไป เกิดผล false positive ได้

ถาม: แยก Hb E กับ Hb S ยากทั้งๆที่มี retention time ต่างกัน

ตอบ: โดยทั่วไปไม่น่ามีปัญหาในการแยก เพราะจะถูกแยกออกเป็น A₂ (E) window หรือ S-window อยู่แล้ว ตรวจ DCIP ดูถ้าเป็น Hb E จะให้ผล positive ส่วน Hb S จะให้ผล negative (fresh blood) การทำ Electrophoresis จะแยกได้ชัดเจน

ขอเสนอแนะ อยากให้ทำหนังสือ Hb typing จากกราฟและ screening test อยากให้มี case study ที่สำคัญน่าสนใจที่ผลกำลังนำเสนอที่พบใหม่ๆ ที่ต้องระมัดระวังความผิดพลาด