

นิพนธ์ต้นฉบับ

ธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง OF Test และ KKU-DCIP-Clear

กุลณา พูเจริญ, กันยารัตน์ แคนตะ*, รุ่งฤดี ประทุมชาติ*, อุไรวรรณ ยิ้มประเสริฐ*,
แซไซ ไผกะเพศ*, อุไรวรรณ สุรินทร์*, ภัทราพร สีสาโหล่น*, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา,
เกรียงไกร กิจเจริญ, ณัฐยา แซ่อึ้ง และ สุพรรณ พูเจริญ

ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิกและภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,

*นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 ปีการศึกษา 2540

บทคัดย่อ: จากการตรวจกรองธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในประชากรทั่วไปซึ่งเป็นผู้ใหญ่วัยทำงานที่มาตรวจสุขภาพ ณ สถานบริการเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ด้วยวิธี OF test และ KKU-DCIP-Clear จำนวน 192 ราย พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบทั้งสองหรือการทดสอบใด การทดสอบหนึ่ง จำนวน 109 ตัวอย่าง (56.7%) ในจำนวนนี้ได้นำไปตรวจยืนยันโดยการตรวจหาชนิดและปริมาณ ฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis ตรวจยีน α -thalassemia 2 ด้วยวิธี PCR และ Southern blot ตรวจยีน α -thalassemia 1 ด้วยวิธี PCR ตรวจยีน $\alpha^{\text{Con Sp}}$ และ β -thalassemia ด้วยวิธี ASPCR และตรวจ วัดระดับ serum ferritin เพื่อประเมินภาวะขาดเหล็ก ผลการศึกษาในตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจกรองเป็นบวก พบ Hb E gene 52.3%, α -thalassemia 1 gene 11.3%, α -thalassemia 2 gene 21.3%, $\alpha^{\text{Con Sp}}$ 2.8%, β^0 -thalassemia gene 3.8%, iron deficiency 8.5% และ iron depletion 5.7% โดยพบยีนธาลัสซีเมียมากกว่า 1 ยีน 18 ราย และพบทั้งยีนธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กร่วมกัน 10 ราย ซึ่งทุกรายที่มี Hb E ได้ให้ผลบวกต่อวิธี KKU-DCIP-Clear โดยมีผลบวกปลอม 2 ราย (1.8%) และพบตัวอย่างที่ OF test เป็นบวกอย่างเดียว สูงถึง 22 ราย (20.2%) ที่ตรวจไม่พบยีนธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็ก กลุ่มนี้จึงน่าจะเป็นกลุ่มที่ให้ผลบวกปลอมต่อ OF test และเป็นตัวเลขที่บ่งชี้ว่าการทดสอบ OF test ควรได้รับการพัฒนาให้มีความจำเพาะมากขึ้นกว่าเดิม

Key Words : ● OF test ● DCIP test ● Thalassemia screening ● Iron deficiency anemia

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2542;9:111-8.

ธาลัสซีเมีย เป็นภาวะโลหิตจางกรรมพันธุ์ที่มีอุบัติ-
การณ์สูงในประเทศไทยเกิดจากความผิดปกติของยีน

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 8 เมษายน 2542 ให้ตีพิมพ์ 11 พฤษภาคม 2542
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ.กุลณา พูเจริญ ภาควิชาจุลทรรศน์
คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
โทร. (043)347-482 e-mail: goonnapa@kku1.kku.ac.th

โกลบินโดยผู้ที่เป็นพาหะสืบทอดโรคจะไม่แสดงอาการ
โลหิตจาง แต่สามารถถ่ายทอดความผิดปกติไปยัง
ลูกหลานได้ ผู้ที่เป็นโรคซึ่งได้รับยีนผิดปกติมาจากทั้งพ่อ
และแม่จะแสดงอาการของโรคโลหิตจาง โดยอาการจะรุนแรง
แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของยีนธาลัสซีเมียที่ได้รับการถ่ายทอดมาซึ่งมีหลายชนิด บางชนิดรุนแรงมากทำให้

เสียชีวิตทันทีหลังคลอด คือ โสโมซัยกัสอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 บางชนิดมีอาการโลหิตจาง ตับ ม้ามโต เจริญเติบโตไม่สมอายุ เช่น บิดาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี และโสมซัยกัสบีตาธาลัสซีเมียเป็นต้น การรักษาโดยทั่วไปจะเป็นการรักษาแบบให้เลือดทดแทนและรักษาอาการแทรกซ้อนต่างๆ ซึ่งสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก และต้องรักษากันตลอดชีวิต^{1,2} จึงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยที่ต้องดำเนินการควบคุมและป้องกัน³ โดยแนวทางหนึ่งที่เป็นไปได้และได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในปัจจุบันคือ การตรวจกรองเพื่อค้นหาพาหะสืบทอดโรคโดยวิธีการตรวจเลือดด้วยเทคนิคที่ทำได้ง่าย สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อย และทำในประชากรหมู่มากได้ คือ การตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมียด้วยวิธี one tube osmotic fragility test (OF test)⁴ และตรวจกรองผู้ที่มีฮีโมโกลบินอี (Hb E) ด้วยวิธีตกตะกอนด้วย dichlorophenolindolphenol (DCIP)⁵ ร่วมกับการให้ความรู้เรื่องธาลัสซีเมีย และคำแนะนำในการเลือกคู่แต่งงาน รวมไปถึงการเลือกลูกที่ไม่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

การตรวจกรองด้วย OF test และ DCIP นี้มีผู้นำไปศึกษาความไวความจำเพาะในการตรวจกรองธาลัสซีเมียกันมากมายหลายแห่ง^{6,7} โดยเปรียบเทียบกับ การตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐาน คือ Hb typing⁸ ร่วมกับการตรวจวัดค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ ซึ่งมีข้อจำกัดของวิธีการที่ไม่สามารถวินิจฉัยแยกพาหะอัลฟาธาลัสซีเมียออกจากกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาได้และมีบางรายงานเท่านั้นที่ตรวจดีเอ็นเอ เพื่อการวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ด้วย⁹ แต่เนื่องจากการวินิจฉัยมีหลายชนิด จึงมีโอกาสพบร่วมกันได้ เช่น ผู้ที่เป็นพาหะ Hb E ก็อาจจะมียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมียร่วมด้วยได้¹⁰ การตรวจดูฟีโนไทป์โดยการทำให้ Hb typing เพียงอย่างเดียวจึงให้ข้อมูลที่ไม่สมบูรณ์ และนอกจากนี้ยังมีรายงานว่าภาวะขาดเหล็กก็ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองด้วย OF test และให้ผลต่อค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงเช่นเดียวกับธาลัสซีเมีย⁹ การศึกษาครั้งนี้จึงสนใจที่จะ

ศึกษาธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองด้วย OF test และ KCU-DCIP-Clear ซึ่งเป็นวิธีการตรวจกรอง Hb E แบบใหม่ที่สุพรรณ พูเจริญ และคณะได้พัฒนาขึ้นมา¹¹ โดยได้ตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ เพื่อวินิจฉัยยีนธาลัสซีเมียทุกชนิดที่พบได้บ่อยในประเทศไทย และวัดระดับ serum ferritin เพื่อประเมินภาวะเหล็กด้วย

ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบความชุกและจีโนไทป์ที่แท้จริงของธาลัสซีเมีย รวมไปถึงภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองธาลัสซีเมีย และข้อมูลทางโลหิตวิทยาของธาลัสซีเมียจีโนไทป์ต่างๆ ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการวินิจฉัยธาลัสซีเมียในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองนี้ต่อไป

วิธีการศึกษา

ใช้ตัวอย่างเลือดผู้ใหญ่ซึ่งเป็นประชากรทั่วไป จำนวน 192 ตัวอย่าง ที่มาตรวจสุขภาพประจำปีที่สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ทำการตรวจ complete blood count (CBC) ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Coulter STKS แล้ว(ซึ่งจะให้ผลของค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงต่างๆ ออกมาด้วย) จากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการทำ CBC มาทำการตรวจกรองด้วย OF test และ KCU-DCIP Clear ตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบทั้งสองหรือการทดสอบใดทดสอบหนึ่ง นำไปตรวจยืนยันด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

1. ตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis¹²
2. ตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบิน A₂ และ E ด้วยวิธี microcolumn chromatography¹³
3. ตรวจยีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 ด้วยวิธี Southern blot¹⁴ และ PCR¹⁵
4. ตรวจยีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 ด้วยวิธี PCR¹⁶
5. ตรวจยีนอัลฟา-คอนสแตนต์สปริงด้วยวิธี

ASPCR^{16,17}

6. ตรวจยืนยันปฏิกิริยาธาลัสซีเมีย ด้วยวิธี ASPCR^{18,19}

7. ตรวจวัดระดับ serum ferritin โดยเครื่อง IMX ด้วยวิธี microparticle enzyme immunoassay²⁰

โดยจะทำการตรวจในข้อ 1-5 และ 7 ในทุกตัวอย่าง แต่การตรวจยืนยันปฏิกิริยาธาลัสซีเมียจะทำการตรวจเฉพาะรายที่มีผลชนิดฮีโมโกลบิน เป็น A₂A และ Hb A₂ มากกว่าร้อยละ 4 และหรือมีค่า MCV น้อยกว่าหรือเท่ากับ 75 fL²¹

ผลการศึกษา

1. ผลการตรวจกรอง

จากการตรวจกรองด้วย OF test และ KCU-DCIP Clear ในตัวอย่างทั้งสิ้น 192 รายพบว่าให้ผลบวกต่อ OF test และ KCU-DCIP Clear จำนวน 59 ราย ให้ผลบวกต่อ KCU-DCIP Clear อย่างเดียว 2 ราย และให้ผลบวกต่อ OF test อย่างเดียว 48 ราย (ตารางที่ 1) รวมตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งสิ้น 109 ราย (56.7%)

2. ผลการตรวจยืนยัน

ตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากข้อ 1 จำนวน 109 ราย ได้นำไปตรวจยืนยันตามรายละเอียดวิธีการศึกษาข้อ 1-7 ผลการตรวจกรองกับชนิดของฮีโมโกลบินที่ตรวจพบได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ผลการตรวจยืนยันธาลัสซีเมียและภาวะเหล็กพบยีนธาลัสซีเมียชนิดต่าง ๆ และภาวะขาดเหล็กดังแสดงในตารางที่ 2 โดยพบว่าบางตัวอย่างมียีนธาลัสซีเมียมากกว่า 1 ยีน และบางตัวอย่างพบทั้งยีนธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็ก ซึ่งได้แสดงข้อมูลทางโลหิตวิทยาเฉพาะตัวอย่างที่มีข้อมูลค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงครบถ้วน จำแนกตามชนิดของธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กที่ตรวจพบในผู้ที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A₂A และ EA หรือ EE ไว้ใน ตารางที่ 3 และ ตารางที่ 4 ตามลำดับ

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ตารางที่ 1 Types of hemoglobin in OF test and/or KCU-DCIP-Clear test positive and negative samples

OF test	KCU-DCIP-Clear	Number	Hb typing (n)
+	+	59	EA (49) EE (8) A ₂ A (2)
-	+	2	EA (2)
+	-	48	A ₂ A (48)
-	-	83	A ₂ A (83)

For KCU-DCIP-Clear test

Sensitivity	=	59/59 x 100	=	100%
Specificity	=	131/133 x 100	=	98.5%
Accuracy	=	(59 + 131)/(59 + 133) x 100	=	98.5 %
Positive predictive value (PPV)	=	59/61 x 100	=	96.7%
Negative predictive value (NPV)	=	131/131 x 100	=	100%

ตารางที่ 2 Prevalence of thalassemia genes and iron deficiency anemia identified among 109 samples positive for OF test and/or KCU-DCIP-Clear test

Gene detected	%	Type
HbE gene	52.3	EA 44.1% EE 8.2%
α-thal 2 gene	21.3	α ³⁷ 18.0% α ⁴² 3.3%
α-thal 1 gene	11.3	SEA deletion
α ^{CS} gene	2.8	-
β-thal gene	3.8	β°
Iron deficiency	8.5	Ferritin < 12 µg/L
Iron depletion	5.7	Ferritin 12-20 µg/L

ตารางที่ 3 Hematologic parameters of the A₂A / OF test positive samples¹⁻⁹ compared with the A₂A / OF test negative samples¹⁰

Type (no)*	Rbc (x10 ¹² /L)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	Hb A ₂ (%)
1. β-thal (2)	5.6, 5.1	11.4, 10.5	36.5, 34.5	64.5, 67.7	20.1, 20.7	31.1, 30.6	15.0, 14.5	5.1, 5.7
2. α-thal 1 (9)	5.5±0.4	11.3±1.3	36.1±4.2	64.9±3.1	20.5±1.1	31.5±1.0	14.7±0.5	2.3±0.6
3. Iron def./β-thal (1)	4.1	8.6	27.3	66.6	21.1	31.6	19.4	1.5
4. β-thal/ homo α-thal 2 (1)	5.5	5.5	12.4	69.3	22.5	32.4	15.5	1.9
5. Iron def. (2)	4.6, 4.0	11.5, 11.2	36.1, 34.7	78.3, 86.3	24.6, 27.9	31.8, 32.4	15.0, 14.4	2.4, 1.4
6. α-thal 2 (5)	4.8±0.6	12.5±1.2	38.9±4.1	82.4±3.9	26.5±1.4	32.1±0.3	13.4±0.6	2.2±0.9
7. α ^{Con Sp} (2)	6.2, 4.3	11.4, 11.1	35.7, 34.6	84.4, 81.0	26.9, 25.9	31.8, 31.9	12.9, 13.0	3.6, 3.6
8. Iron depletion (3)	4.0±0.2	11.7±0.4	35.6±1.0	90.4±5.3	29.4±1.9	32.6±0.2	14.2±0.4	2.4±0.6
9. Normal (18)	4.8±0.6	13.5±1.6	41.6±4.6	86.2±4.8	28.1±1.6	32.5±0.6	13.2±0.8	2.1±0.5
10. A ₂ A/ OF negative (77)	4.5±0.5	12.9±1.5	39.1±4.3	86.5±4.6	28.6±1.6	33.1±1.6	12.8±1.6	ND

* Only cases with complete hematological data of red blood cell indices were presented. ND = not done

ตารางที่ 4 Hematologic parameters of the Hb E /DCIP positive samples.

Type (no)*	Rbc (x10 ¹² /L)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	Hb A ₂ (%)
1. EE (5)	5.7±0.8	11.7±1.1	36.3±4.5	63.4±1.8	20.5±1.2	32.4±1.4	15.5±0.8	91.7±4.0
2. EE/α-thal 2 (1)	5.8	11.5	36.4	63.2	20.1	31.7	14.6	96.2
3. IEA/α-thal 2/ α ^{Con Sp} (1)	5.1	10.4	32.5	63.9	20.4	32.0	15.6	20.9
4. EA/α-thal 1 (2)	6.2, 6.0	13.1, 12.9	42.6, 42.2	68.4, 70.2	21.1, 21.4	30.8, 30.5	14.5, 14.3	18.9, 20.6
5. EA/α-thal 1/ Iron def. (1)	4.9	10.3	32.1	66.0	21.3	32.3	15.0	19.2
6. EA/Iron def. (6)	4.6±0.3	10.6±1.2	32.4±3.1	71.2±5.6	23.2±2.2	32.6±0.8	16.3±3.1	26.6±3.2
7. EA/ Iron depletion (2)	4.9±4.5	11.3, 11.3	35.7, 35.1	73.2, 77.3	23.3, 25.0	31.8, 32.3	14.9, 14.2	28.9, 30.2
8. EA (23)	5.1±0.5	12.5±0.9	38.4±3.0	75.7±2.4	24.6±0.9	32.4±0.7	13.5±0.7	28.9±1.8

* Only cases with complete hematological data of red blood cell indices were presented.

จากการตรวจกรองประชากรทั่วไปซึ่งเป็นผู้ใหญ่ในวัยทำงาน จำนวน 192 ราย ด้วย OF test และ KKU-DCIP Clear พบว่าให้ผลบวกต่อการทดสอบทั้ง 2 การทดสอบหรือการทดสอบใดการทดสอบหนึ่ง จำนวน 109

ราย คิดเป็นร้อยละ 56.7 ซึ่งในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกนี้เมื่อตรวจชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าแล้วพบเป็น A₂A 50 ตัวอย่าง EA 51 ตัวอย่าง และ EE 8 ตัวอย่าง โดยทุกตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินอีให้

ผลบวกต่อ KKU-DCIP Clear แต่มี 2 ตัวอย่างใน 109 ตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบิน เป็น A_2A ให้ผลบวกปลอมต่อ KKU-DCIP Clear คิดเป็นผลบวกปลอม ร้อยละ 1.8 ซึ่งน้อยกว่าการตรวจกรองด้วย DCIP แบบเดิม โดยจากตารางที่ 3 สามารถคำนวณค่า ความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบ ของการตรวจกรอง Hb E ด้วยวิธี KKU-DCIP-Clear ได้เท่ากับ ร้อยละ 100, 98.5, 96.7 และ 100 ตามลำดับ และผลการตรวจกรองเบื้องต้นนี้ชี้ให้เห็นว่า Hb E ยังเป็นปัญหาหลักของภูมิภาคนี้ที่ต้องให้การควบคุมป้องกันต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้ตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองได้นำมาตรวจยืนยันธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ ที่พบบ่อยในประเทศไทย ด้วยการตรวจวิเคราะห์ ดีเอ็นเอ และตรวจภาวะเหล็ก ผลการศึกษาพบยืนยันธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ และภาวะขาดเหล็กดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งนอกจาก Hb E แล้ว ยืนยันธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในกลุ่มนี้คือ α -thalassemia 2 รองลงไปคือ α -thalassemia 1 โดยจะพบว่าความชุกในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองแล้วนี้สูงกว่า ความชุกที่ตรวจพบในประชากรทั่วไปที่อยู่ในภูมิภาคเดียวกัน^{22,23} แต่ยืนยัน Hb Constant Spring และ β -thalassemia นั้นพบความชุกไม่แตกต่างจากกลุ่มประชากรทั่วไป ในกรณีของ Hb Constant Spring นี้ อาจเป็นไปได้ว่าผู้ที่ มี Hb Constant Spring บางรายอาจให้ผลลบต่อ OF test เช่นเดียวกับการศึกษาของ ยุพิน ใจเป่ง ที่เคยตรวจพบผู้ที่ มี Hb Constant Spring ที่ให้ผลลบต่อ OF test¹⁰ ส่วน β -thalassemia นั้นพบน้อยทั้งนี้อาจ เนื่องจากข้อจำกัดของการตรวจยืนยัน β -thalassemia ซึ่งมีกรกลายพันธุ์ได้หลายชนิด การตรวจเฉพาะกรกลายพันธุ์ที่พบได้บ่อย ซึ่งครอบคลุมกว่าร้อยละ 90 ของที่เคยมีรายงานในประเทศไทย²⁴ ก็อาจตรวจไม่พบในบางตัวอย่างได้ แต่ก็คิดว่าเป็นส่วนน้อย อีกสาเหตุที่อาจเป็นไปได้ คือ การคัดเลือกตัวอย่างเข้ามาตรวจโดยอาศัยเกณฑ์ที่ตรวจพบปริมาณ Hb A_2 มากกว่าหรือเท่ากับ ร้อยละ 4 และหรือมีค่า MCV น้อยกว่าหรือเท่ากับ 75

ณ ตามข้อมูลเดิมที่เคยมีการศึกษาไว้ก่อนหน้านี้²¹ โดยไม่ได้ทำการตรวจยืนยัน β -thalassemia ทุกตัวอย่าง เนื่องจากจำกัดด้านงบประมาณ ก็อาจจะพลาดไปในบางรายที่มีปริมาณ Hb A_2 ปกติ²⁵ หรือมีค่า MCV มากกว่า 75 fL ได้ ส่วนภาวะเหล็กที่ตรวจ serum ferritin นั้นพบภาวะขาดเหล็ก (iron deficiency; serum ferritin น้อยกว่า 12 mg/L) ร้อยละ 8.5 และภาวะเหล็กสะสมลดลง (iron depletion; serum ferritin อยู่ในช่วงร้อยละ 12-20 mg/L) ร้อยละ 5.7 ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้บ่งชี้ชัดเจนว่าผู้ที่ มีภาวะขาดเหล็กให้ผลบวกต่อ OF test ได้ แต่อย่างไรก็ตามมีสัดส่วนการตรวจพบค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับธาลัสซีเมีย

เมื่อพิจารณาผลการตรวจยืนยันธาลัสซีเมียทั้งหมดรวมกับผลการตรวจชนิดและปริมาณ Hb A_2 พบว่าบางตัวอย่างมียืนยันธาลัสซีเมียมากกว่า 1 ชนิด ที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่มนี้คือพาหะ Hb E ที่มียีนแฝง α -thalassemia 2 นอกจากนี้มีบางตัวอย่างที่พบทั้งยืนยันธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็ก ซึ่งได้แสดงข้อมูลทางโลหิตวิทยาของกลุ่มที่ OF test ให้ผลบวก มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A ไว้ในตารางที่ 3 โดยเรียงชนิดของธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กตามขนาดของ MCV จากน้อยไปมาก ซึ่งก็พบว่าพาหะ β -thalassemia และพาหะ α -thalassemia 1 มีค่า MCV น้อยกว่า 70 fL และ MCH น้อยกว่า 23 pg ทุกราย ส่วนพาหะ α -thalassemia 2 และ Hb Constant Spring นั้น ค่า MCV และ MCH นั้นอยู่ในเกณฑ์สูงใกล้เคียงกับค่าปกติของ MCV และ MCH (ค่าปกติ MCV = 86 ± 10 fL MCH = 29 ± 2.5 pg)²⁶ ในการศึกษาครั้งนี้ได้พบว่าในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อ OF test ที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A จำนวน 22 ใน 109 ราย (20.2%) ตรวจไม่พบยืนยันธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กซึ่งคิดเป็นร้อยละ 11.4 ของประชากรที่ทำการตรวจกรองทั้งหมดที่ให้ผลบวกปลอมต่อ OF test ซึ่งเมื่อพิจารณาข้อมูลทางโลหิตวิทยาของคนกลุ่มนี้ที่มีข้อมูลค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงครบถ้วนในตารางที่ 3 เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้

ผล OF test เป็นลบที่มีข้อมูลค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงครบ พบว่าใกล้เคียงกันมาก แต่ก็มีที่น้าส่งเกต คือ กลุ่มที่ OF test เป็นบวกแล้วตรวจไม่พบยีนธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กนี้มีแนวโน้มของค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริตสูงกว่ากลุ่ม OF test เป็นลบ จึงเป็นไปได้ว่าการมีจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงมีโอกาที่จะให้ผลบวกปลอมต่อ OF test ได้ เนื่องจากมีเม็ดเลือดแดงมากจึงแตกไม่หมด ซึ่งควรจะได้รับการศึกษาต่อไป อย่างไรก็ตามการที่มีผลบวกปลอมจาก OF test เข้ามาสูงถึงร้อยละ 20.2 ของกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองเช่นนี้ ชี้ให้เห็นความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาหรือปรับปรุงน้ายาทดสอบ OF test ให้มีความจำเพาะมากขึ้น เพื่อลดภาระงานที่ไม่จำเป็นลงหากนำไปใช้ในภาคสนามซึ่งงานในส่วนนี้อยู่ในระหว่างการวิจัยและพัฒนา

ในกลุ่มตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินชนิด EA และ EE ได้แสดงข้อมูลทางโลหิตวิทยาจำแนกตามชนิดของ Hb E ที่ตรวจพบไว้ในตารางที่ 4 ซึ่งพบว่าในผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสม Hb E รวมไปถึงพาหะฮีโมโกลบินอีที่มียีนแฝง α -thalassemia 1 จะมีค่า MCV และ MCH ต่ำกว่า 70 fL และ 23 pg ตามลำดับและนอกจากนี้ยังพบว่า พาหะ Hb E ที่มียีนแฝง α -thalassemia 1 ยังมีปริมาณ Hb E น้อยกว่า พาหะ Hb E ทั่วไปด้วย แต่ถ้าเป็นพาหะ Hb E ที่มียีนแฝง α -thalassemia 2 พบว่า ค่า MCV มีแนวโน้มสูงกว่าพาหะ Hb E ทั่วไปและมีปริมาณ Hb E ที่ไม่แตกต่างจากพาหะ Hb E ทั่วไป ซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจที่จะนำไปสู่การศึกษาวิจัยให้เกิดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการมีจีโนไทป์ซับซ้อนกับฟีโนไทป์ที่ปรากฏในตัวอย่างเหล่านั้น

ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นความชุกของธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองด้วย OF test และ KGU-DCIP Clear ที่กระทรวงสาธารณสุขกำลังดำเนินการเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคเลือดจางธาลัสซีเมียอยู่ ซึ่งผล

การศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นประโยชน์ของการตรวจกรองแล้วว่าสามารถลดจำนวนตัวอย่างที่จะตรวจด้วยวิธีมาตรฐานที่ยุ่งยาก ซับซ้อน และมีราคาแพง ลงไปได้จำนวนมากและการศึกษาครั้งนี้ก็ได้แสดงข้อมูลทางโลหิตวิทยาของธาลัสซีเมียจีโนไทป์ต่างๆ ไว้ด้วย ซึ่งข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลที่ผู้ที่จะนำผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเหล่านี้ไปใช้ประกอบการวินิจฉัยธาลัสซีเมียพึงพิจารณา โดยเฉพาะในผู้ที่มจีโนไทป์ซับซ้อนที่จะก่อให้เกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้มากกว่าหนึ่งชนิด เช่น พาหะฮีโมโกลบิน อี ที่มียีนแฝง α -thalassemia 1 ในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรองธาลัสซีเมียต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของงานในโครงการวิจัยและพัฒนา เรื่อง การศึกษาเพื่อพัฒนาชุดน้ายาสำเร็จรูปเพื่อการตรวจกรองฮีโมโกลบินเอื้ออย่างง่ายและรวดเร็ว ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravattuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. *Ann NY Acad Sci* 1980;344:352-63.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Haemoglobinopathies in Southeast Asia. *Haemoglobin* 1987;11:65-88.
3. วิจารณ์ พานิช. แนวทางการแก้ปัญหาโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย. *แพทยสภาสาร* 2532;18:67-74.
4. Kattamis C, Efremor G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility test in detecting β -thalassemia trait. *J Med Genet* 1981;18:266-70.
5. Kulapong P, Sanguansermisri T, Mertz G, Tawarat S. Dichlorophenolindolphenol (DCIP) precipitation test : a new screening test of Hb E and Hb H. *Ped Soc Thai* 1976;15:1-7.
6. ปรียา สุวรรณศรี, สมชาย แสงกิจพร, ศรีศักดิ์ สมหาร, พิจิตร

- รัตนวิไลกุล. การตรวจหาพาหะของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ. สารเทคนิคการแพทย์จุฬาฯ 2535;5:981-90.
7. รัตน สันธัก, อยพร แก้วสุข, ปิยสัมพันธ์ พะวานนท์, และคณะ. รูปแบบที่เหมาะสมในการตรวจคัดกรองพาหะของโรคธาลัสซีเมียสำหรับประเทศที่กำลังพัฒนา. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2539;6:165-77.
 8. Wood WG. Hemoglobin analysis. In: Weatherall DJ, ed. The Thalassemia. New York: Churchill Livingstone, 1983:31-53.
 9. ยุพิน ใจแปง, กุลนา พูเจริญ, เกียรติกร กิจเจริญ, ณัฐยา แซ่เอ็ง, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. การทดสอบทางห้องปฏิบัติการแบบง่ายเพื่อตรวจกรองธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2536;5:131-7.
 10. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Baisun-gneon R, Jetsrisuparb A, Fucharoen Sp. Molecular and hematological characterization of Hb E heterozygote with α -thalassemia determinants. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlt 1997;28:100-3.
 11. สุพรรณ พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ยุพนา เพ็งแจ่ม, ณัฐยา แซ่เอ็ง, กุลนา พูเจริญ. การตรวจกรองฮีโมโกลบินผิดปกติด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KCU-DCIP-Clear Reagent Kit รุ่นที่สอง. บทความคัดย่อ. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติครั้งที่ 4 วันที่ 2-4 กันยายน 2541 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
 12. กุลนา พูเจริญ. การตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินโดยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า. ใน: ณัฐยา แซ่เอ็ง, กุลนา พูเจริญ (บรรณาธิการ). การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ เกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2539:51-7.
 13. International Committee for Standardization in Hematology. Recommendations for selected methods for quantitative estimation of Hb A₂ and Hb A₂ reference preparation. Br J Haematol 1978;38:573-8.
 14. Winichagoon P, Higgs DR, Goodbourn SEY, Clegg JB, Weatherall DJ, Wasi P. The Molecular basis of α -thalassemia in Thailand. EMBO J 1984;3:1813-8.
 15. สุพรรณ พูเจริญ, กุลนา พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่เอ็ง. พาหะธาลัสซีเมียที่มีฮีโมโกลบินสองปกติ. บทความคัดย่อ. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติครั้งที่ 4 วันที่ 2-4 กันยายน 2541 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
 16. Fucharoen G, Fucharoen Sp. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting α -thalassemia (SEA Type) and Hb Constant Spring genes. Eur J Haematol 1994;53:186-7.
 17. Fucharoen Sp, Fucharoen G, Fukumaki Y. Simple non-radioactive method for detecting haemoglobin Constant Spring gene Lancet 1990;335:1527.
 18. Fucharoen Sp, Fucharoen G, Ratanasiri T, Jetsrisuparb A, Fukumaki Y. A simple non-radioactive assay for hemoglobin E gene in prenatal diagnosis. Clin Chim Acta 1994;229:197-203.
 19. Fucharoen Sp, Fucharoen G, Ratanasiri T, Jetsrisuparb A, Fukumaki Y. A simple non-radioactive method for detecting b-thalassemia/Hb E disease: application to prenatal diagnosis. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlt 1995;26:278-81.
 20. Anaox S, Garry PJ, Standefer JC. Solid-phase enzyme immunoassay for serum ferritin. Clin Chem 1979;25:1426-31.
 21. กุลนา พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่เอ็ง และคณะ. ข้อมูลทางโลหิตวิทยาของพาหะธาลัสซีเมียจำแนกตามชนิดของมิวเตชันที่ตรวจพบในจังหวัดขอนแก่น. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2538;7:158-66.
 22. Fucharoen G, Fucharoen Sp, Fukumaki Y. Allele specific polymerase chain reaction for non-radioactive detection of Hb E gene. Abstract presented at the 6th FAOB Congress. 16-21 November 1992, Shanghai, China.
 23. ถวัลย์วงศ์ รัตนศิริ, สุพรรณ พูเจริญ, กุลนา พูเจริญ, อมรัตน์ รัตนศิริ, พงษ์รัตน์ เชาวเจริญ. การศึกษาอุบัติการณ์ของธาลัสซีเมียจากเลือดสายสะดือทารกแรกคลอดที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์. บทความคัดย่อ. การประชุมสัมมนาวิชาการเรื่อง การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย. 21-22 พฤศจิกายน 2537. จังหวัดขอนแก่น.
 24. Fucharoen Sp, Fucharoen G, Sriroongrueng W, et al. Molecular basis of b-thalassemia in Thailand analysis of β -thalassemia mutations using the polymerase chain reaction. Hum Genet 1989;84:41-6.
 25. Galanello R, Barella S, Ideo A, et al. Genotype of subjects with borderline hemoglobin A₂ levels: implication for β -thalassemia carrier screening. Am J Hematol 1994;46:79-81.
 26. Dacie JV, Lewis SM. Practical Haematology. 7th ed. New York: Churchill Livingstone, 1991:51-2.

ธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจ กรอง OF test และ KKU-DCIP-Clear

กุลณา พูเจริญ, กันยารัตน์ แคนตะ*, รุ่งฤดี ประทุมชาติ*, อุไรวรรณ ยิ้มประเสริฐ*,
ไชย ไพกะเพศ*, อุไรวรรณ สุรินทร์*, ภัทราพร สีสาโหล่น*, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา,
เกรียงไกร กิจเจริญ, ณัฐยา แซ่ฮึ้ง และ สุพรรณ พูเจริญ

ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิกและภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,

*นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 ปีการศึกษา 2540

Abstract: Screening for thalassemia and abnormal hemoglobin using an OF test and KKU-DCIP clear were carried out in 192 normal adult during their routine medical check up at the faculty of Associated Medical Sciences Khon Kaen University. One hundred and nine (56.7%) were positive for either one or both tests. In these positive samples, complete hematological profile and molecular defects were examined. These included hemoglobin electrophoresis and quantitation, detection of α -thalassemia 1 and α -thalassemia 2 gene deletion using PCR and Southern blot, identification of $\alpha^{Con Sp}$ and β -thalassemia gene using ASPCR and determination of serum ferritin level. Of the 109 positive samples 52.3% could be classified as HbE, 11.3% were α -thalassemia 1, 21.3% were α -thalassemia 2, 2.8% were $\alpha^{Con Sp}$, 3.8% were β -thalassemia, 8.5% were iron deficiency, 5.7% were iron depleted. Some positive sample were accompanied by more than one thalassemia genes whereas some were thalassemias with iron deficiency. All sample with HbE were positive on KKU-DCIP clear test but two non HbE samples (1.8%) were false positive. Neither thalassemia gene nor serum ferritin abnormality was observed in 22 cases (20.2%) positive for OF test alone. This data indicates the need for improvement of the OF test in order to reduce a number of false positive sample and obtain more specific results in thalassemia screening program.

Key Words : ● OF test ● DCIP test ● Thalassemia screening ● Iron deficiency anemia

Thai J Hematol Transf Med 1999;9:111-8.