

นิพนธ์ต้นฉบับ

Hb E Screening Test

ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี, *ชนม์ศุภางค์ สังขปรีชา และ Heinrich F. Steger

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, *ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ : Hb E screening test เป็นวิธีที่พัฒนามาจากวิธี microcolumn DEAE Sephadex A50 chromatography เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีตรวจกรองหาผู้ที่ มี Hb E วิธีตรวจทำได้โดย apply เลือด 40 ไมโครลิตร ที่ละลายอยู่ใน 5 มล. ของ working buffer pH 8.5 ลงใน pasteur pipet ที่บรรจุไว้ด้วย DEAE Sephadex A 50 สูง 5 ซม. เมื่อเลือดไหลผ่านลงใน column หมดแล้ว ฮีโมโกลบินจะเกาะอยู่เฉพาะตอนบนของ column ตรึงฮีโมโกลบินอีกครั้ง โดยการผ่าน working buffer pH 8.5 ลงไป 5 มล. เมื่อ buffer ซึมผ่าน column ไปหมดแล้ว ผ่าน working buffer pH 8.2 จำนวน 10 มล. ลงไป Hb E จะถูก elute แยกออกจาก Hb ชนิดอื่น และเห็นสีของ Hb E เป็นทางสีแดงตลอด column ขณะที่ Hb A Hb F Hb H และ Hb Bart's จะยังติดอยู่ในตอนบนของ column ซึ่งจะต่างไปจากของคนที่ไม่มี Hb E คือ column ตอนล่างจะเห็นเป็นสีขาวของ DEAE Sephadex A50

ผลการศึกษาวิธี Hb E screening test เป็นดังต่อไปนี้

1. ทดสอบการตรวจกรองเปรียบเทียบกับ วิธี cellulose acetate Hb electrophoresis โดยใช้เลือดตัวอย่างจากหญิงฝากครรภ์ 500 ราย ผลปรากฏว่าพบผู้ที่มี Hb E 50 ราย และให้ผลตรงกันทั้งสองวิธีทุกราย
2. เมื่อนำวิธี Hb E screening test ไปใช้ในการตรวจกรองหญิงฝากครรภ์ 4922 ราย พบผู้ที่มี Hb E 505 ราย คิดเป็นอุบัติการณ์ของ Hb E เท่ากับ ร้อยละ 10.2
3. เมื่อนำผู้ที่เป็น Hb E ในกลุ่มนี้ 323 ราย ไปวัดสัดส่วนด้วยวิธี microcolumn DEAE Sephadex A 50 chromatography พบว่า วิธี Hb E screening test สามารถตรวจวัดสัดส่วนของ Hb E ที่มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 11.5 จนถึงร้อยละ 94 ของฮีโมโกลบินทั้งหมดได้
4. เมื่อนำผู้ที่เป็น Hb E 323 ราย ไปตรวจสอบด้วยวิธี 2 min osmotic fragility พบมีเพียงร้อยละ 68 เท่านั้น ที่ให้ผลบวกกับวิธี 2 min OF

5. α thal.1 trait ที่พบร่วมกับ Hb E trait ทำให้สัดส่วนของ Hb E ลดลงเหลือที่ ร้อยละ 15-20

Hb E screening test เป็นวิธี ตรวจกรองหาผู้ที่มี Hb E ที่มีวิธีการตรวจง่าย มีความแม่นยำสูง สามารถใช้เป็นวิธีตรวจกรองหาผู้เป็นพาหะของ Hb E เพื่อการควบคุมและการป้องกันการเกิดโรค Hb E/ β -thalassemia ได้

Key Words : ● Hemoglobin E ● Screening test

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2541;8:215-21.

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 21 ตุลาคม 2541 และให้ตีพิมพ์เมื่อ 18 พฤศจิกายน 2541

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ น.ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Hemoglobin E (Hb E) เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยที่สุดในประเทศไทย และพบมากแถบภาคอีสาน^{1,2} ผู้ที่เป็น Hb E trait และ homozygous Hb E ไม่มีอาการและอาการแสดงทางโลหิตวิทยา แต่เมื่อเป็นของ Hb E ไปรวมกับยีนของ β -thalassemia จะทำให้เกิดโรค Hb E/ β -thalassemia ซึ่งเป็นธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรง มีความจำเป็นต้องได้รับการควบคุมและการป้องกัน

เพื่อให้สามารถให้คำปรึกษาตลอดจนการรักษาทางพันธุศาสตร์ที่เหมาะสมแก่ประชาชนทั่วไป โดยเฉพาะหญิงฝากครรภ์จำเป็นต้องมีวิธีตรวจกรอง Hb E ที่ดี วิธีที่ใช้อยู่ เช่น วิธี Hb electrophoresis หรือวิธีทำ Hb typing ด้วย automated high performance liquid chromatography (HPLC)³ เป็นวิธีมาตรฐาน แต่วิธีดังกล่าวมีหลายขั้นตอน ถ้าใช้เป็นวิธีการตรวจกรองจะค่อนข้างยุ่งยากและต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจแต่ละราย

การรายงานครั้งนี้ขอเสนอวิธี Hb E screening test เป็นวิธีตรวจกรองสำหรับผู้ที่เป็นพาหะของ HbE ซึ่งมีขั้นตอนในการตรวจไม่ยุ่งยาก มีความไวสูงและมีความแม่นยำเทียบได้เท่ากับวิธี Hb electrophoresis และวิธี automated HPLC

วัสดุ

เลือดตัวอย่าง ได้จากหญิงฝากครรภ์ที่แผนกสูติ-ศาสตร์ฯ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 5,422 ราย ที่มาเข้าโครงการ การควบคุมและการป้องกันโรคธาลัสซีเมียในปี พ.ศ. 2540

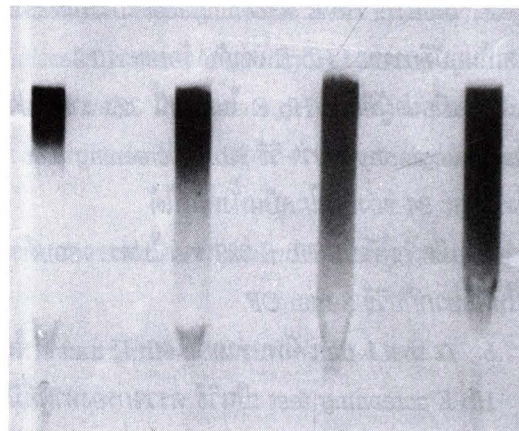
วิธีการ

1. น้ำยาประกอบด้วย working buffer pH 8.5 และ pH 8.2 คือ 0.05 M TRIS-HCl ปรับ pH ด้วย 4 N HCl เป็น pH 8.5 และ 8.2 และทุก 1,000 มล. เติมน KCN ลงไป 100 มก. (น้ำยานี้ stable ที่อุณหภูมิห้องสามารถใช้ได้ประมาณ 14 วัน โดยไม่ต้องปรับ pH ใหม่)
2. DEAE Sephadex A 50 solution เตรียมได้

โดย แช่ DEAE Sephadex A50 (Pharmacia Sweden) จำนวน 5 กรัมใน working buffer pH 8.5 จำนวน 250 มล. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1-2 วัน ก่อนนำมาใช้ล้างด้วย working buffer pH 8.5 อีก 2-3 ครั้ง

3. นำ pasteur pipet มาดูดด้วยสาลี่ ค่อยๆ ปล่อยน้ำยา DEAE Sephadex ลงไปจนมีความสูงประมาณ 5 ซม. แล้วผ่าน column ด้วย 10 มล. ของ buffer 8.5

4. วิธีตรวจ นำเลือด (whole blood) 40 ไมโครลิตร ละลายใน 5 มล. ของ working buffer pH 8.5 แล้วผ่านลงใน column Sephadex ที่เตรียมไว้ เมื่อ hemolysate ซึมลงใน column หมดแล้ว ตรึงฮีโมโกลบินด้วย buffer pH 8.5 จำนวน 5 มล. เมื่อ buffer 8.5 ซึมผ่าน หมดแล้ว elute โดยผ่าน buffer pH 8.2 จำนวน 10 มล. ลงใน column เพื่อแยก Hb E ออกจาก Hb ชนิดอื่น ถ้าเลือดตัวอย่างมี Hb E จะเห็นเป็นทางสีแดงของ Hb E ลงมาตาม Sephadex column จนถึงปลายของ column ขณะที่เลือดตัวอย่างที่ไม่มี Hb E column ตอนล่างจะเป็นสีขาวของ DEAE Sephadex (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดง Hb E screening test C1 เป็นของปกติ (AA), C2 เป็น AE, C3 เป็น EF และ C4 เป็น EE จะเห็นว่าผู้ที่มี Hb E จะเห็นสีแดงของ Hb E เป็นทางยาวลงมาตาม column ซึ่งต่างไปจากของ C1 เป็นผู้ที่ไม่ได้มี Hb E จะเห็นตอนล่าง column DEAE Sephadex A50 เป็นสีขาว

ได้นำวิธี Hb E screening test ที่พัฒนาขึ้นนี้ไปศึกษาเปรียบเทียบความแม่นยำกับวิธี cellulose acetate Hb electrophoresis⁴ ในหญิงฝากครรภ์ 500 ราย และใช้เป็นวิธีตรวจกรองในหญิงฝากครรภ์ 4,922 ราย และศึกษาความไวและความแม่นยำของ Hb E screening test โดยการวัดปริมาณของ Hb E ที่ตรวจพบด้วยวิธี microcolumn chromatography⁵ และพร้อมกับตรวจเลือดตัวอย่างด้วยวิธี 2 minutes osmotic fragility test⁶ (2 min OF) และท้ายที่สุดศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณ Hb E ในผู้เป็นพาหะของ Hb E กับ α -thalassemia 1 (α -thal.1) ชนิด SEA type โดยวิธีการตรวจ α -thal.1 ที่ modify มาจากวิธีของ Chang^{7,8}

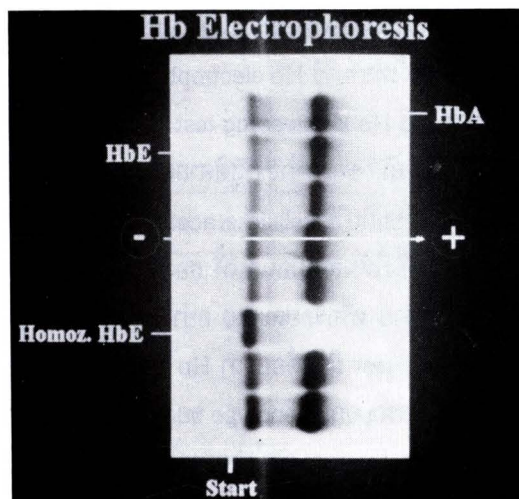
ผลการศึกษา

1. เมื่อศึกษาเปรียบเทียบ ความแม่นยำและความไว โดยนำเลือดของหญิงฝากครรภ์ 500 ราย มาตรวจด้วยวิธี Hb E screening test และเลือดตัวอย่างเดียวกันได้ส่งไปตรวจหา Hb E ด้วยวิธี cellulose acetate Hb electrophoresis พบมีผู้เป็นพาหะของ Hb E 50 ราย ตรงกันทั้ง 2 วิธี (รูปที่ 2) คิดเป็นอุบัติการณ์เท่ากับร้อยละ 10

2. เมื่อนำ Hb E screening test ไปตรวจกรองหญิงฝากครรภ์ จำนวน 4,922 ราย พบผู้มี Hb E เท่ากับ 505 ราย คิดเป็นอุบัติการณ์ เท่ากับร้อยละ 10.2

3. เมื่อนำผู้ที่ Hb E screening test เป็นบวก จำนวน 323 ราย (จากกลุ่ม 505 ราย ข้างต้น) ไปตรวจด้วยวิธี 2 min OF พบว่ามีเพียง 218 ราย (ร้อยละ 68) ให้ผลผิดปกติ (hemolytic activity น้อยกว่าร้อยละ 60 ในเวลา 2 นาที)

4. เมื่อนำผู้ที่ Hb E screening test เป็นบวก 323 ราย (จากกลุ่ม 505 ราย ข้างต้น) ไปวัดหาสัดส่วนของ Hb E ในน้ำเลือดพบมีค่าต่ำสุดที่วัดได้คือร้อยละ 11.5 และค่า Hb E ที่สูงสุดคือร้อยละ 94 สัดส่วน Hb



รูปที่ 2 แสดง cellulose acetate Hb electrophoresis ของผู้ที่ HbE screening test เป็นบวก ซึ่งผลการศึกษเปรียบเทียบในหญิงฝากครรภ์จะตรงกันทั้ง 2 วิธี

E ระหว่างร้อยละ 25-30 เป็นสัดส่วนที่พบบ่อยที่สุด คือ ร้อยละ 56.35

5. และเมื่อนำผู้ที่ 2 min OF เป็นบวก (จาก 218 ราย) จำนวน 155 คน ไปตรวจหาพาหะของ α -thal.1 พบผู้มี α -thal.1 ร่วมอยู่ด้วย 16 ราย (ร้อยละ 10.3 ราย) โดยผู้ที่มี α -thal.1 จะมีค่า Hb E ในสัดส่วนที่ลดลงคือร้อยละ 15-20

วิจารณ์

Hb E screening test เป็น วิธีที่ดัดแปลงมาจากการวัดหาสัดส่วนของ Hb A₂ ด้วยวิธี microcolumn DEAESephadex A50 chromatography อาศัยความจำเพาะของ working buffer pH 8.2 HbE จะถูกแยกออกจากฮีโมโกลบินชนิดอื่นเหมือนกับ Hb A₂ เพียงแต่ถ้าเป็น HbE จะมีค่าสัดส่วนที่สูงเกินร้อยละ 10 ขึ้นไป และสามารถมองเห็นสีแดงของฮีโมโกลบินได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมในการใช้เป็นการตรวจกรองหาผู้เป็น Hb E trait ได้ดี ทั้งนี้เพราะ Hb E trait จะมีสัดส่วนของ Hb E อยู่ที่ประมาณร้อยละ 25

ความไวและความจำเพาะของวิธี Hb E screening test เทียบได้เท่ากับวิธี Hb electrophoresis จะเห็นได้จากการนำวิธี Hb E screening test ไปตรวจสอบหญิงที่มาฝากครรภ์ ของภาควิชาสูติศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เทียบกับวิธี cellulose acetate Hb electrophoresis ซึ่งให้ผลเหมือนกันทั้งสองวิธี คือพบผู้เป็นพาหะ 50 ราย หรือร้อยละ 10 อย่างไรก็ตาม Hb E screening test มีข้อดีกว่า Hb electrophoresis ตรงที่ไม่สามารถบอก phenotype ของผู้ที่เป็น Hb E ได้ คือ Hb E screening test ไม่สามารถแยกระหว่าง Hb EA, Hb EF (Hb E/ β -thalassemia) และ Hb EE (homozygous Hb E) ออกจากกันได้

เมื่อนำวิธี Hb E screening test ไปตรวจกรองหญิงฝากครรภ์ที่มาฝากครรภ์ที่ภาควิชาสูติศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 4,922 พบว่ามีผู้เป็นพาหะของ Hb E 505 ราย หรือเท่ากับร้อยละ 10.2 ซึ่งเป็นอุบัติการณ์ที่ใกล้เคียงกับที่ตรวจด้วยวิธี Hb electrophoresis ข้างต้น แสดงให้เห็นว่า Hb E screening test น่าจะใช้เป็นวิธีตรวจกรองสำหรับ Hb E ได้

การศึกษาสัดส่วนของ Hb E โดยการวัดด้วยวิธี microcolumn chromatography จากผู้ที่ Hb E screening test เป็นบวกจำนวน 323 ราย ของกลุ่มข้างต้นพบว่าค่าต่ำสุดของ Hb E ที่วัดได้เท่ากับร้อยละ 11.5 และค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 94 (ตารางที่ 1) และจากพวกที่ Hb E screening test ให้ผลลบ 4,423 ราย ได้นำตัวอย่างเลือด 760 ราย มาวัดหาค่าสัดส่วนของ Hb A₂ และพบว่ามี 1 ราย ที่มีค่า Hb A₂ สูงเท่ากับร้อยละ 9.6 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับค่าต่ำสุดที่ Hb E screening test อ่านได้ คือในระดับร้อยละ 11.5 ซึ่งค่าสัดส่วนดังกล่าวยังต้องการพิสูจน์ในระดับโมเลกุลต่อไปว่าเป็นฮีโมโกลบิน Hb A₂ หรือ Hb E

สัดส่วนของ Hb E ของผู้ที่ Hb E screening test เป็นบวกที่ตรงร้อยละ 25-30 (ตารางที่ 1) พบมีจำนวนรายมากที่สุด พวกนี้น่าจะเป็น Hb E trait และเมื่อดู

ความสัมพันธ์กับการตรวจด้วยวิธี 2 min OF จะพบว่า 2 min OF ให้ผลบวกมากกว่าผลลบไม่มาก (6:4) ความแตกต่างของ Hb E trait ในเรื่อง osmotic fragility ที่ตรวจพบอาจเกี่ยวกับ heterogenicity ของ Hb E gene ได้ ในส่วนที่เกี่ยวกับสัดส่วนของ Hb E กับ 2 min OF (ตารางที่ 1) จะเห็นว่าเมื่อ Hb E ลดต่ำลงมาอยู่ที่ร้อยละ 11.0-14 และ 15-19.9 ค่า 2 min OF 22 ราย จาก 25 ราย ให้ผลเป็นบวก มี 3 ราย^(*) ให้ผลเป็นลบและไม่ปกติอาจเป็น false negative ของวิธี 2 min OF ได้ ซึ่งจะได้ตามหญิงฝากครรภ์ทั้ง 3 รายมาศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับ α -thal.1 trait inter action ของ α -thal.1 gene กับ Hb E gene ทำให้สัดส่วนของ Hb E ลดลงไป จะเห็นได้จากข้อมูลในตารางที่ 1 ผู้ที่เป็น Hb E trait เมื่อมี α -thal.1 ยีนมารวมด้วย ค่าสัดส่วนของ Hb E จะลดลงไปอยู่ที่ร้อยละ 15-20 ซึ่งต่างไปจากของคนที่เป็น Hb E trait ปกติจะมีสัดส่วนอยู่ที่ร้อยละ 25-30 ซึ่งตรงกับที่เคยมีรายงานมาจากการศึกษาที่จังหวัดขอนแก่น^(*) อย่างไรก็ตามในตารางที่ 1 มีหญิงฝากครรภ์ 1 ราย^(**) ที่มีค่าสัดส่วนของ Hb E ระหว่างร้อยละ 11-14.9 และ 2 min OF เป็นบวกแต่ไม่พบยีนของ α -thal.1 น่าจะเกี่ยวข้องกับภาวะ iron deficiency anemia และอีก 2 ราย^(**) ที่มีค่าสัดส่วนของ Hb E อยู่ระหว่างร้อยละ 30-34.9 และ 65-69.9 2 min OF เป็นบวกและมียีนของ α -thal.1 รวมอยู่ด้วย หญิงดังกล่าวอาจเป็น Hb E/ β -thalassemia ซึ่งทั้งสองรายจะได้รับการติดตามมาศึกษาโดยละเอียด เมื่อคราวนำบุตรที่เกิดมาเพื่อขอรับการฉีดวัคซีนต่อไป

ท้ายที่สุดในประเทศไทยมีวิธีตรวจคัดกรองที่ใช้กับอยู่อย่างแพร่หลายคือวิธี DCIP¹⁰ ตลอดจนวิธี DCIP ที่ modify¹¹ไป ทำให้การตรวจกรองทำได้ง่ายและแม่นยำขึ้น แต่ก็ยังมีข้อจำกัดทางด้านห้องปฏิบัติการอีกหลายอย่าง ซึ่ง Hb E screening test ที่พัฒนาจาก micro-column chromatography อาจช่วยเสริมให้การตรวจ

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของผู้ที่ตรวจกรองด้วย Hb E screening test เป็นบวกกับสัดส่วนของ Hb E, α -thal.1 trait และ 2 min OF

% Hb E		2 min OF		2 min OF - Hb E : pos	
Range	Cases	Pos	Neg (>60)	α -thal.1-Pos	Neg
11.0-14.9	4	3	1*	1	1***
15.0-19.9	18	16	2*	11	0
20.0-24.9	78	46	32	2	33
25.0-29.9	182	116	66	0	84
30.0-34.9	18	14	4	1**	10
35.0-39.9	4	4	0	0	1
40.0-44.9	0	0	0	0	0
45.9-49.9	1	1	0	0	1
50.0-54.9	0	0	0	0	0
55.0-59.9	1	1	0	0	1
60.0-64.9	0	0	0	0	0
65.0-69.9	1	1	0	1**	0
70.0-74.9	2	2	0	0	2
75.0-79.9	5	5	0	0	5
80.0-84.9	3	3	0	0	3
85.0-89.9	2	2	0	0	2
>90	4	4	0	0	4
Total cases	323	218	105	16	139
%	-	67.49	32.51	10.3	89.7

*, **, *** เป็นรายที่มีปัญหาซึ่งจะได้รับการติดตามมาศึกษาต่อไป

กรองหาผู้เป็นพาหะของ Hb E มีความแม่นยำยิ่งขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่การให้ genetic counseling ที่เหมาะสมที่สุดแก่ประชาชนของประเทศ ในการควบคุมและการป้องกันโรค Hb E/ β -thalassemia ได้

สรุป

ได้เสนอวิธี Hb E screening test เพื่อนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองหาผู้ที่เป็น Hb E โดยพัฒนาจากวิธี

microcolumn DEAE Sephadex A50 chromatography ซึ่งอาศัยคุณสมบัติของ Hb E ที่สามารถแยกตัวจาก Hb ชนิดอื่นๆ ได้ง่ายเมื่อถูก elute ด้วย working buffer pH 8.2 Hb E จะปรากฏเป็นสีแดงของสีอีโมโกลบินลงมาตาม column DEAE Sephadex A50 และสามารถมองเห็นได้ชัดเจน ต่างจากของ column ของผู้ที่ไม่ใช่ Hb E Hb E screening จะช่วยเสริมวิธี 2 min OF ทำให้สามารถตรวจกรองหาผู้เป็นพาหะของ

โรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่การให้ genetic counseling เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียได้อย่างถูกต้อง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้รายงานขอขอบคุณ คุณเอวีรัตน์ ปัญญาเขียวที่ช่วยตรวจทางห้องปฏิบัติการ คุณหน้อย ศรียวง ช่วยประสานงานเกี่ยวกับตัวอย่างเลือดของหญิงฝากครรภ์จากภาควิชาสูติศาสตร์วชิรพยาบาล และคุณกนกวรรณ ปิ่นทองที่ช่วยพิมพ์งานเพื่อการเผยแพร่ในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Flatz G, Pik C, Sringam S. Hemoglobin E and β -thalassemia: their distribution in Thailand. *Ann Hum Genet* 1965;29:151-79.
2. Yongvanit P, Sriboonlue P, Mularlee N, et al. DNA haplotypes and frameworks linked to the β -globin. Locus in an Austro-Asiatic population with a high prevalence of hemoglobin E. *Hum Genet* 1989;83:171-4.
3. Fucharoen S, Winichagoon P, Wisedpanichkij R, et al. Prenatal and postnatal diagnoses of thalassemia and hemoglobinopathies by HPLC. *Clin Chem* 1998;44:740-8.
4. Huisman THJ, Jonxis JHP. The Hemoglobinopathies. Techniques of Identification. New York and Basel : Marcel Dekker Inc. 1997;105-15
5. Chamrasatanakorn T, Sanguansermsri T, Punyakeaw A. A Modified Microcolumn Chromatography for Hb A₂ Determination. *Bull Chiamg Mai Assoc Med Sci* 1998;31:32-5.
6. Chamrasatanakorn T, Sanguansermsri T, Punyakeaw A. Two minutes Osmotic Fragility Test (2 MIN OF) and Severe Thalassemia Trait Screening. *Bull Chiamg Mai Assoc Med Sci* 1998;31:28-31.
7. Chang JG, Lee LS, Lin CP, Chen PH, Chen CP. Rapid diagnosis of α -thalassemia-1 of Southeast Asia and hydrops fetalis by polymerase chain reaction. *Blood* 1991;78:853-4.
8. Kitsirisakul B, Steger HF, Sanguansermsri T. Frequency of α -thalassemia-1 of the southeast asian-type among pregnant women in northern Thailand determined by PCR technique. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1996;35:362-3.
9. นพรัตน์ แซ่อือ, รุ่งฤดี ใบสูงเนิน, กุลนา พูเจริญ และคณะ พหะซีโมโกลบินอีที่มียื่นแฝงอัลฟา-ธาลัสซีเมีย1 บทคัดย่อการประชุมวิชาการเรื่องการควบคุมและการป้องกันโรคธาลัสซีเมีย ครั้งที่ 3 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2538 หน้า P1.
10. Kulapongs P, Sanguansermsri T, Merty G, Tawarat S. Dichlorophenol-indophenol (DCIP) precipitation test : a new screening test of HbE and H. *Paediatr soc Thailand* 1976;15:1-7
11. ยุพิน ใจแปง, กุลนา พูเจริญ, เกรียงไกร กิจเจริญ และคณะ การทดสอบทางห้องปฏิบัติการแบบง่ายเพื่อตรวจกรองธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ. วารสารการอนามัยและสิ่งแวดล้อม 2536;16:45-57.

Hb E Screening Test

Torpong Sanguanserm Sri *Chousuphang Sangkapreecha and Heinrich F. Steger

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

*Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Bangkok, Thailand

Abstract : Hb E screening test was modified from the microcolumn DEAE Sephadex A 50 chromatography method. It has been used for screening of Hb E cases by applying a 40 μ L blood sample dissolved in 5 millilitres of working buffer pH 8.5 into a pasteur pipette containing DEAE Sephadex A50 of 5 centrimetres high. Hemoglobin is adsorbed on the column when the blood sample moves through. An aliquot of 5 millilitres of working buffer pH 8.5 is applied in order to fix the hemoglobin. Then Hb E is eluted with 10 millilitres of working buffer pH 8.2 and red colour along the column is noticed whereas Hb A, Hb F, Hb H and Hb Bart's remain on the upper part of the column. The white color of DEAE Sephadex A50 at the lower part of the column indicates no Hb E in the blood sample.

The results obtained from the study on Hb E screening test are as follows :

1. Five hundred blood samples from pregnant women were tested along with cellulose acetate Hb electrophoresis method, 50 corresponding Hb E cases were shown by both methods.
2. Five hundred and five Hb E cases out of 4,922 pregnant women were found, i.e. 10.2% incidence was shown.
3. Upon determination of Hb E proportion in 323 Hb E positive cases by Hb E screening test, the Hb proportion ranging from 11.5-94.0% of total hemoglobin can be read.
4. Only 68% of those 323 Hb E trait cases were found to be positive when determining by 2 min OF method.
5. α -thal.1 trait in positive Hb E cases reported by Hb E screening test was mostly found in cases of Hb E proportion ranging between 15-20%.

Hb E screening test is a simple and accurate method for Hb E screening. It can be applied in searching for Hb E carriers which are useful for the control and prevention of Hb E/ β -thalassemia.

Key Words : ● Hemoglobin E ● Screening test

Thai J Hematol Transf Med 1998;8:215-21.๗

บุคคลแม้มีกำลังกายแข็งแรง
 แต่ถ้าขาดกำลังใจ จะประกอบกิจการใดๆ
 ก็มักจะย่อท้อมีอาการเบื่อหน่าย
 ทำให้กำลังกายย่อหย่อนลงตามกัน
 การงานที่ประกอบก็ไม่สำเร็จผลสมหวัง
 ส่วนบุคคลผู้มีกำลังกายบพพร้อม
 แต่มีกำลังใจอาจหาญไม่ย่อท้อ
 ก็อุตสาหะ อดทนกระทำในกิจการ
 อันเป็นหน้าที่ของตนจนสุดความสามารถ
 กำลังกายและกำลังใจ ๒ ประการนี้
 เป็นเครื่องอุปการะแก่กัน
 ถ้ามีบริบูรณ์ครบทั้ง ๒ สถาน ในบุคคลใด
 ก็ส่งเสริมบุคคลนั้นให้เป็นผู้สามารถยิ่งขึ้น

คัดจากหนังสือพระธรรมเทศนาสอนประชาชน
 ที่ระลึกพระมหารัชฆังคลาจารย์
 วัดปากน้ำ ภาษีเจริญ
 (๕ ธันวาคม ๒๕๓๘)