

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจยืนยันฮีโมโกลบินเอฟในผลการตรวจแยกฮีโมโกลบินด้วยวิธี Acid Elution Test

สุภารัตน์ ชายเกตุ สุวิมล ศิริวรรณเชกุล และ สุมาลี จินดาดำรงเวช

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ความเป็นมา ธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อยในประเทศไทย การตรวจ Hb typing อาจพบปัญหาในการวินิจฉัยแยกระหว่างเบต้าธาลัสซีเมียที่มี Hb F สูงและการมีฮีโมโกลบินผิดปกติ เนื่องจากฮีโมโกลบินผิดปกติบางชนิดถูกแยกออกมาที่เดียวกับ Hb F วิธี acid elution test (AET) อาจช่วยยืนยันผล Hb F ซึ่งมีความสำคัญในการวินิจฉัยโรคเบต้าธาลัสซีเมีย **วัตถุประสงค์** ศึกษาการแยก Hb F ด้วยวิธี AET เพื่อใช้แยก Hb F กับฮีโมโกลบินผิดปกติอื่นๆ เมื่อผล Hb typing พบ Hb F-peak **วิธีการ** ย้อม Hb F ด้วยวิธี AET ในตัวอย่างเลือด 302 รายที่พบ Hb F-peak จากการทดสอบ Hb typing และตรวจยืนยันฮีโมโกลบินผิดปกติ (Hb Q-Thailand และ Hb Tak) ด้วยวิธี DNA analysis วิเคราะห์ทางสถิติเพื่อประเมินความเหมาะสมของวิธี AET ในการตรวจยืนยัน Hb F **ผลการวิจัย** วิธี AET มี sensitivity 93.3%, specificity 100%, positive predictive values (PPV) 100% และ negative predictive values (NPV) 80.0% และร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการแยกด้วยวิธี AET และ Hb typing มีความสอดคล้องกันด้วยค่า $r = 0.8595$ และ 0.8675 ตามลำดับ **สรุป** วิธี AET สามารถใช้ยืนยัน Hb F เพื่อลดความผิดพลาดในการแปลผล Hb typing ได้ซึ่งช่วยในการวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียได้อย่างถูกต้อง วิธีนี้ทำได้ง่าย ประหยัด ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษที่ยุ่งยาก และมีประโยชน์กับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องตรวจวิเคราะห์ Hb typing เพียงหลักการเดียว

คำสำคัญ : ● Hemoglobin F (Hb F) ● Abnormal Hb ● Acid elution test ● Hb typing ● Thalassemia

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2561;28:45-50.

ได้รับต้นฉบับ 17 มีนาคม 2560 รับลงตีพิมพ์ 24 ตุลาคม 2560

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ. สุมาลี จินดาดำรงเวช ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 e-mail: sumalee.jin@mahidol.ac.th

Original Article

Confirmation of Hb F in Hb Typing Result by Acid Elution Test

Suparat Chayket, Suwimol Siriworadechkul and Sumalee Jindadamrongwech

Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University

Abstract:

Background: *Thalassemia is a genetic disease commonly found in Thailand detected by hemoglobin (Hb) typing. Problems could occur such as some abnormal Hb variants are separated in Hb F-peak giving misdiagnosis between high Hb F condition in beta-thalassemia disease and abnormal Hb carrier. Staining of Hb F by the acid elution test (AET) might help to confirm whether a Hb F-peak was really Hb F, which would be important in beta-thalassemia diagnosis.* **Objective:** *To use AET for Hb F staining to distinguish between Hb F and abnormal Hb eluted in Hb F-peak.* **Methods:** *A total of 302 blood samples exhibiting Hb F-peak by Hb typing analysis was stained using AET. Abnormal Hb including Hb Q-Thailand and Hb Tak were confirmed by DNA analysis. Data were analyzed for AET method to use as Hb F confirmation.* **Results:** *Hb F staining by AET produced a sensitivity of 93.3%, specificity of 100%, positive predictive values (PPV) of 100% and negative predictive values (NPV) of 80.0% in detecting Hb F distinguished from abnormal hemoglobin. The correlations of %Hb F from Hb F staining and Hb typing on capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography were 0.8595 and 0.8675, respectively.* **Conclusion:** *AET could be used to confirm Hb F for correct Hb typing interpretation that improved thalassemia diagnosis. This method is simple, inexpensive, useful in laboratories and requires no special equipment involving only a single use of Hb typing instrument.*

Keywords : ● Hemoglobin F (Hb F) ● Abnormal Hb ● Acid elution test ● Hb typing ● Thalassemia

J Hematol Transfus Med 2018;28:45-50.

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบบ่อยในประเทศไทย ซึ่งมีสาเหตุจากการกลายพันธุ์หรือการขาดหายไปของยีนโกลบินที่เกี่ยวข้องกับการสร้างฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง โดยพบพาหะชนิดแอลฟาธาลัสซีเมียประมาณร้อยละ 30-40 และเบต้าธาลัสซีเมียประมาณร้อยละ 3-9¹ ทั้งนี้โรคธาลัสซีเมียที่มีความสำคัญทางสาธารณสุขในประเทศไทย และมีการรณรงค์เพื่อควบคุมไม่ให้เกิดผู้ป่วยใหม่ 3 โรค คือ Hb Bart's hydrops fetalis syndrome, homozygous beta-thalassemia disease และ beta-thalassemia/Hb E disease การตรวจประจำในห้องปฏิบัติการนิยมตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียและพาหะโดยวิธี osmotic fragility test (OF) และ dichlorophenol indophenol precipitation test (DCIP) การตรวจวินิจฉัยด้วยการตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบิน (Hb typing) และการตรวจยืนยันหาชนิดที่ผิดปกติด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งปัจจุบันการตรวจ Hb typing ส่วนใหญ่ใช้เป็นเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ ได้แก่ เครื่องที่ใช้หลักการ capillary electrophoresis (CE) และ high-performance liquid chromatography (HPLC) โดยให้ผลการทดสอบที่ถูกต้องและแม่นยำ² อย่างไรก็ตามการใช้เครื่องทั้ง CE และ HPLC ก็มีข้อจำกัด เช่น ในรายที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติบางชนิด เช่น Hb Q-Thailand หรือ Hb Tak จะพบที่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Capillarys 2 CE แต่พบที่ตำแหน่งของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb S (S-window) จากเครื่อง Variant HPLC^{3,4} ในขณะที่ Hb Okayama หรือ Hb Camperdown จะพบที่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Variant HPLC^{5,6} สำหรับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องตรวจวิเคราะห์ Hb typing ทั้งสองชนิดนี้ สามารถใช้ในการยืนยันว่าเป็น Hb F จริงได้เมื่อพบที่ตำแหน่งของ Hb F จากทั้งสองเครื่อง และน่าจะเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่นเมื่อพบที่ตำแหน่งของ Hb F จากเครื่องใดเครื่องหนึ่งแต่พบ abnormal peak จากอีกเครื่อง

สำหรับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องตรวจวิเคราะห์ Hb typing เพียงหลักการเดียวอาจไม่สามารถระบุได้ว่าฮีโมโกลบินที่ถูกแยกออกมาในตำแหน่งของ Hb F (Hb F-peak) นั้น เป็น Hb F จริงหรือเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติอื่น ซึ่งจะทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ เนื่องจากภาวะที่มี Hb F สูงจะสัมพันธ์กับโรคเบต้าธาลัสซีเมียแต่หากไม่ใช่ Hb F จริงแต่เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติอื่น ก็อาจเป็นเพียงพาหะแต่ไม่เป็นโรคธาลัสซีเมีย การตรวจเพื่อยืนยัน Hb F-peak ว่าเป็น Hb F จริงจึงมีความสำคัญต่อการแปลผล Hb typing ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะยืนยัน Hb F ด้วยวิธี acid

elution test (AET) ซึ่งทำได้ง่ายและประหยัด เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการยืนยันและจำแนก Hb F ออกจากฮีโมโกลบินผิดปกติอื่น

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยนี้ศึกษาในตัวอย่างเลือดจำนวน 302 ราย ซึ่งมาจากแผนกต่างๆ ของโรงพยาบาลรามธิบดี โดยใช้เลือดผสมสารกันเลือดแข็ง EDTA ร้อยละ 3 มิลลิลิตร ซึ่งเหลือจากการตรวจในห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคเลือด ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ตัวอย่างเลือดทั้งหมดได้ทำการทดสอบ CBC (complete blood count) ด้วยเครื่อง Sysmex XS-1000i (Sysmex Corp., Kobe, Japan) เพื่อหาค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงและทดสอบ Hb typing ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Capillarys 2 CE (Sebia, Lisses, France) และ Variant-II HPLC (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) และมีผลการตรวจ Hb typing ที่มีค่า Hb F $\geq 5\%$ จากอย่างน้อยหนึ่งเครื่อง

โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล รหัสเลขที่ MURA2014/441

การย้อม Hb F ด้วยวิธี Acid elution test

ผู้วิจัยพัฒนาวิธีการทดสอบจาก ยุทธานุ วัฒนดี และคณะ⁷ โดยนำเสมียร์เลือด มา fix ด้วย 80% ethyl alcohol นาน 3 นาที จากนั้นย้อมด้วยสี amido black ที่เป็นกรด (pH 2) นาน 3 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น รอให้เสมียร์เลือดแห้ง แล้วนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเม็ดเลือดแดงที่มี Hb F อยู่จะทนกรดทำให้ฮีโมโกลบินชนิดนี้ไม่ถูกชะล้างออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงจึงเห็นเม็ดเลือดแดงติดสี ซึ่งอาจเป็นแบบ pancellular pattern หรือ heterocellular pattern (Figure 1) ในขณะที่ฮีโมโกลบินชนิดอื่นๆจะไม่ทนกรด และถูกชะล้างออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเห็นเป็น ghost cell (Figure 2) นับค่าเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงที่มี Hb F (F-cell) ต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง 1,000 ตัว แล้วคำนวณร้อยละของ F-cell ผลบวกคือ พบ F-cell $\geq 1\%$ ผลลบคือ พบ F-cell $< 1\%$ หรือไม่พบ F-cell เลย

การตรวจวิเคราะห์ DNA เพื่อยืนยันผลฮีโมโกลบินผิดปกติ

ในรายที่ให้ผลลบจากการย้อม Hb F จะนำมาตรวจเพื่อยืนยันชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในคนไทย โดยนำตัวอย่างเลือดมาสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาวด้วยชุดสกัด MagCore Genomic DNA Whole Blood Kit (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan) จากนั้นนำ DNA มาตรวจด้วยวิธี multiplex ampli-

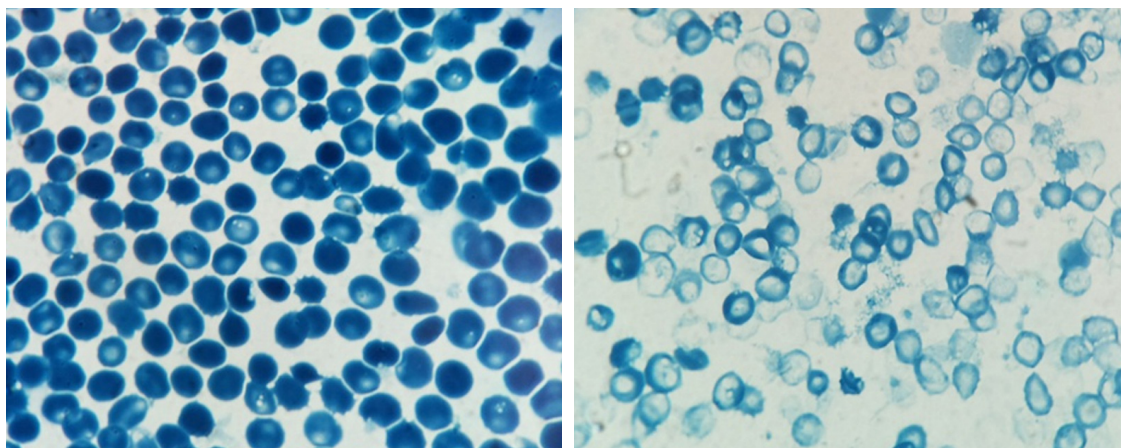


Figure 1 Pancellular pattern (left) and heterocellular pattern (right) of red blood cells containing Hb F stained positive by acid elution test.

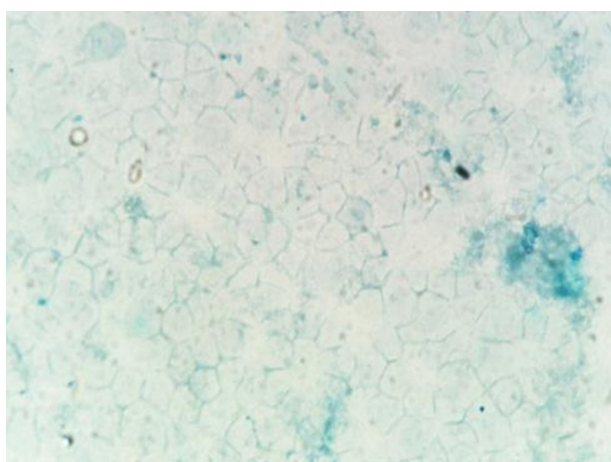


Figure 2 Red blood cells stained negative by acid elution test represent as ghost cells.

fication refractory mutation system-polymerase chain reaction (ARMS-PCR)⁴ โดยใช้ primers จำเพาะต่อ Hb Q-Thailand และ Hb Tak เนื่องจากมีการวิจัยก่อนหน้านี้แล้วว่า ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดที่มักแยกออกมาในตำแหน่งเดียวกับ Hb F และพบบ่อยในคนไทย ได้แก่ Hb Q-Thailand และ Hb Tak^{4,8}

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หาค่า sensitivity, specificity, positive predictive values (PPV) และ negative predictive values (NPV) และวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation analysis; r) ระหว่างการทดสอบ AET และ Hb typing โดยใช้ HPLC และ CE ด้วยโปรแกรม SPSS (version 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยตัวอย่างเลือดทั้งหมด 302 ราย จากการตรวจวิเคราะห์ Hb typing ด้วยเครื่อง CE และ HPLC พบว่าเป็น Hb

F จริง 294 ราย (พบ Hb F-peak $\geq 5\%$ จากทั้งสองเครื่อง) และเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติ 8 ราย (พบ Hb F-peak $\geq 5\%$ เพียงเครื่องเดียว อีกเครื่องอาจพบ abnormal peak หรือ Hb F-peak $< 5\%$) เมื่อย้อม Hb F ด้วยวิธี AET จากตัวอย่างที่ตรวจ 294 รายเป็น Hb F จริง คือ AET ให้ผลบวก 292 รายและผลลบ 2 ราย ส่วนอีก 8 รายที่ไม่ใช่ Hb F จริง โดยให้ผลลบกับการย้อม AET ดังแสดงใน Table 1 การย้อม Hb F ด้วยวิธี AET มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 99.3 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 100 มี positive predictive values (PPV) ร้อยละ 100 และ negative predictive values (NPV) ร้อยละ 80

เมื่อนำผลของ 292 รายที่มี Hb F จริง (true positive) มาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการย้อมด้วยวิธี AET กับร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการ Hb typing ทั้งเครื่อง CE และ HPLC พบว่าค่า $r = 0.8595$ และ 0.8675 ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของ Hb F และค่า absolute Hb F จากเครื่อง CE และ HPLC มีค่า $r = 0.8735$ และ 0.8831 ตามลำดับ โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของ Hb F จากเครื่อง CE เทียบกับ HPLC คือ 0.9736

จากผลของตัวอย่าง 8 รายที่ไม่ใช่ Hb F (true negative) และน่าจะเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่ถูกแยกออกมาตรงตำแหน่งเดียวกับ Hb F คือ zone 7 จากเครื่อง CE และ F-window (retention time ระหว่าง 2.13-2.88) จากเครื่อง HPLC เมื่อตรวจยืนยันด้วยวิธี ARMS-PCR พบว่าเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb Q-Thailand 5 ราย, Hb Tak 1 ราย และยังไม่ทราบชนิด (unknown mutation) 2 ราย

Table 1 Hb F staining by acid elution test (AET) compared with Hb typing in 302 blood samples

AET	Hb typing (from both CE and HPLC)		
	Hb F	Abnormal Hb	Total
Positive	292	0	292
Negative	2	8	10
Total	294	8	302

Sensitivity = 99.3%; Specificity = 100%; PPV = 100%; NPV = 80%

วิจารณ์

เนื่องจากการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วย Hb typing ด้วยเครื่อง CE และ HPLC มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถแยก Hb F ออกจากฮีโมโกลบินผิดปกติบางชนิดได้ การพิสูจน์ว่า Hb F-peak เป็น Hb F จริงหรือไม่มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยโรคเบต้าธาลัสซีเมีย ซึ่งอาจทำได้โดยตรวจวิเคราะห์ Hb typing จากทั้ง CE และ HPLC เพื่อยืนยันว่าใช่ Hb F จริงซึ่งจะพบ Hb F-peak จากทั้งสองเครื่อง เช่น กรณีของฮีโมโกลบินผิดปกติซึ่งพบได้บ่อยในประเทศไทย เช่น Hb Q-Thailand และ Hb Tak^{4,8} เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CE จะพบที่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F ทำให้สงสัยได้ว่าเป็น Hb F จริงหรือไม่ แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จะพบที่ตำแหน่งของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด Hb S (S-window)⁴ แต่วิธีนี้มีความเสี่ยงสูงและทำได้ในห้องปฏิบัติการที่มีทั้งสองเครื่องดังกล่าว

Kleihauer E. และคณะ⁹ ได้เริ่มใช้วิธี AET หรือ Kleihauer-Betke test ในการวินิจฉัย Hb F ในเม็ดเลือดแดงของทารกในครรภ์และทารกแรกเกิด การย้อม Hb F ด้วยวิธี AET จึงเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย และประหยัด สามารถช่วยยืนยันการมีหรือไม่มี Hb F ในผล Hb typing ได้ ซึ่งจากผลการศึกษานี้พบว่า เมื่อเปรียบเทียบ Hb F จากการย้อมด้วยวิธี AET และผลจาก Hb typing ให้ผล sensitivity, specificity, positive predictive values และ negative predictive values ที่ดีและเชื่อถือได้ โดยเฉพาะ specificity และ PPV มีค่าร้อยละ 100 แสดงว่าถ้า Hb F-peak ที่ตรวจพบจาก Hb typing ไม่ใช่ Hb F เช่น เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่ถูกแยกออกมาที่ตำแหน่งเดียวกันกับ Hb F เมื่อย้อม AET จะให้ผลเป็นลบเสมอ และกรณีถ้าย้อม AET แล้วให้ผลบวก จะยืนยันได้ว่า Hb F-peak นั้นเป็น Hb F แน่แน่นอนเนื่องจาก sensitivity และ NPV มีค่า 99.3% และ 80% ตามลำดับนั้น หมายความว่า ยังคงมี Hb F จริงบางรายที่ให้ผลลบและเป็นผลลบปลอม นั่นคือเมื่อย้อม AET แล้วให้ผลลบยังไม่สามารถ rule out Hb F ได้ ดังนั้น การย้อม Hb F ด้วยวิธี AET เหมาะสำหรับการใช้ตรวจเพื่อยืนยัน Hb F-peak ว่าเป็น Hb

F จริง เพื่อประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคเบต้าธาลัสซีเมีย ซึ่งถ้าให้ผลบวกจะยืนยันว่าเป็น Hb F จริง แต่ทั้งนี้ AET อาจไม่เหมาะสมในการตรวจคัดกรองภาวะที่มี Hb F สูง เนื่องจากเมื่อย้อมได้ผลลบจะไม่สามารถบอกได้แน่นอนว่าไม่ใช่ Hb F และต้องตรวจยืนยันด้วยวิธีอื่นต่อไป

จากตัวอย่างที่ไม่ใช่ Hb F จำนวน 8 รายที่ตรวจยืนยันชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติ พบว่าส่วนใหญ่คือ Hb Q-Thailand และ Hb Tak แต่ยังมีอีก 2 รายที่ยังไม่ทราบชนิด ซึ่งต้องทำการตรวจหาชนิดของ mutation เพิ่มเติมต่อไปด้วยการทำ DNA sequencing ดังนั้นยังมีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่นๆ ที่พบได้ในคนไทย นอกเหนือไปจาก Hb Q-Thailand และ Hb Tak ที่ถูกแยกออกมาในตำแหน่งเดียวกับ Hb F ได้

เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้ใช้ค่าร้อยละของ Hb F แต่ในตัวอย่างแต่ละรายมีค่าฮีโมโกลบิน (total Hb) มากน้อยแตกต่างกันไป ซึ่งมีผลต่อปริมาณ Hb F ที่แท้จริงและอาจมีผลกระทบต่อผลการอ่านผลการย้อม AET คณะผู้วิจัยจึงได้คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างร้อยละของ Hb F และ absolute Hb F ที่ได้จากผล Hb typing พบว่ามีความสอดคล้องไปทางเดียวกันดี และค่าร้อยละของ Hb F ระหว่างเครื่องวิเคราะห์ CE กับ HPLC ก็มีความสอดคล้องกันดี จึงสามารถใช้ค่าร้อยละของ Hb F ในการวิจัยได้โดยไม่ผิดพลาดจากปริมาณ total Hb ในตัวอย่างแต่ละราย นอกจากนี้ยังพบว่าร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการย้อม AET และจากผล Hb typing มีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน ดังนั้นสามารถใช้ร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการย้อมแปลผลได้เทียบเท่ากับร้อยละของ Hb F ที่ได้จาก Hb typing แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมา การใช้วิธี AET ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Hb F ยังขาดความถูกต้องและแม่นยำ เมื่อเทียบกับวิธี Hb typing หรือ flow cytometry เนื่องจากมี false positive^{10,11} ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่ให้ค่า specificity 100% การย้อม Hb F ด้วยวิธี AET นี้จึงเป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก และเป็นประโยชน์ในการช่วยยืนยัน Hb F สำหรับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่อง Hb typing เพียงแค่หลักการเดียว

สรุป

การย้อม Hb F ด้วยวิธี AET สามารถใช้ยืนยันและจำแนก Hb F จากฮีโมโกลบินผิดปกติอื่น ที่พบในตำแหน่งเดียวกับ Hb F ในการตรวจ Hb typing ได้ เพื่อช่วยลดความผิดพลาดในการวินิจฉัยโรคเบต้าธาลัสซีเมียและกรณีที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในตำแหน่งเดียวกับ Hb F นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการยังสามารถใช้ค่าร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการย้อม แปรผลเทียบเคียงได้กับร้อยละของ Hb F ที่ได้จากการ Hb typing การย้อม Hb F ด้วยวิธี AET เป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษที่ยุ่งยาก และมีประโยชน์กับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องตรวจวิเคราะห์ Hb typing เพียงหลักการเดียว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคเลือด ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobin*. 1987;11:65-88.
2. Boonkant P, Sangkitporn S, Yodtup C, Masasso S, Sangkitporn S. Validation of automated hemoglobin analyzer: Capillarys 2 Flex Piercing for diagnosis of thalassemias and hemoglobinopathies. *J Med Tech Assoc Thai*. 2013;41:4457-71.
3. Singsanan S, Karnpean R, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-Ung N, Fucharoen S. Hemoglobin Q-Thailand related disorders: origin, molecular, hematological and diagnostic aspects. *Blood Cells Mol Dis*. 2010;45:210-4.
4. Jindadamrongwech S, Tungbuppha N, Chuncharunee S, Butthep P. Hb Tak and Hb Q-Thailand in Thai patients are S-window hemoglobin variants revealed by high performance liquid chromatography. *Hemoglobin*. 2010;34:161-4.
5. Regina T, Mendoza T, Roberto P, Ferreira S, Viviani NM, Albuquerque DM, Rizzi I and Araújo JT. Camperdown hemoglobin associated with β^0 thalassemia in a Brazilian child. *Genet Mol Biol*. 2005;28:394-6.
6. Khera R, Singh T, Khuana N, Gupta N, Dubey AP. HPLC in characterization of hemoglobin profile in thalassemia syndromes and hemoglobinopathies: a clinicohematological correlation. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2015;31:110-5.
7. Munde Y, Kantasuit J, Keyoonwong K, Dankai D, Saejeng A, Pomsilapatip J. Development of reagent kits for enumeration of reticulocytes, fetal cells and malarial infected red cells by flow cytometry. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci*. 2005;38:81-94.
8. Panyasai S, Fucharoen G, Fucharoen S. Hemoglobin variants in Northern Thailand: Prevalence, heterogeneity and molecular characteristics. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2016;20:37-43.
9. Kleihauer E, Schmidt RM, Huisman THJ, Lehman H. Determination of fetal hemoglobin: elution technique in: The detection of hemoglobinopathies CRC press. 1974:20-2.
10. Kim YA, Makar RS. Detection of fetomaternal hemorrhage. *Am J Hematol*. 2012;87:417-23.
11. Chambers E, Davies L, Evans S, Birchall J, Kumpel B. Comparison of haemoglobin F detection by the acid elution test, flow cytometry and high-performance liquid chromatography in maternal blood samples analysed for fetomaternal haemorrhage. *Transfus Med*. 2012;22:199-204.