

# การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี หนองคาย เลย และ หนองบัวลำภู

บุญนิภา สุวรรณกาล<sup>1</sup>, สิริภากร แสงกิจพร<sup>2</sup>, ธดาภรณ์ วงศ์พัฒน์<sup>1</sup>, สมชาย แสงกิจพร<sup>3</sup>

## บทคัดย่อ

ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์นับเป็นหน่วยงานหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีได้พัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการที่มีศักยภาพในการตรวจกรอง และตรวจยืนยันเพื่อวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำภูและจังหวัดเลย การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการส่งผลให้ตัวอย่างที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีทำการตรวจยืนยันมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 1,989 ตัวอย่างในปี 2546 เป็น 4,363 ตัวอย่าง ในปี 2548 ผลการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของ beta-thalassemia และฮีโมโกลบินผิดปกติ โดยเทคนิค DNA Sequencing พบความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของ beta-thalassemia 3 ชนิด ได้แก่ -28, codon 17 และ codon 41-42 ส่วนฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในการศึกษาครั้งนี้มี 7 ชนิด คือ Hb E, Hb Constant Spring (Hb CS), Hb Tak, Hb Pyrgos, Hb Hope, Hb J-Bangkok และ Hb Korle-Bu การตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเครือข่ายนี้มีความน่าเชื่อถือ มีการปฏิบัติตามข้อกำหนดด้านคุณภาพห้องปฏิบัติการ มีการควบคุมคุณภาพทั้งภายในห้องปฏิบัติการเอง และโดยหน่วยงานภายนอกจากการดำเนินงานใน 3 ปีที่ผ่านมาทำให้ได้เครือข่ายห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยโรคที่มีความน่าเชื่อถือ รวดเร็ว และครบวงจร สามารถสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี หนองคาย เลย และ หนองบัวลำภู ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

**คำสำคัญ :** เครือข่ายห้องปฏิบัติการ, ธาลัสซีเมีย

## บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางเรื้อรังทางพันธุกรรมที่พบบ่อยในทุกภูมิภาคของประเทศไทย<sup>(1-3)</sup> โรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่เป็นเป้าหมายในการควบคุมและป้องกันในประเทศไทยมี 3 ชนิด คือ Homozygous alpha-thalassemia 1, Homozygous beta-thalassemia และ beta-thalassemia/ Hb E<sup>(4)</sup> โดยทั่วไปการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียที่มีประสิทธิภาพและมีความคุ้มค่าสามารถทำได้โดยอาศัยความร่วมมือของหน่วยงานต่างๆ ในการให้ความรู้แก่ประชาชน และบุคลากรทางสาธารณสุข,

การตรวจหาสามี-ภรรยาคู่เสี่ยงที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคชนิดรุนแรง, การให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรม และการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์<sup>(5-6)</sup> จะเห็นได้ว่าห้องปฏิบัติการทางการแพทย์เป็นหน่วยงานหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่น่าเชื่อถือ และการรายงานผลที่รวดเร็ว นับเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จในการควบคุมและป้องกันโรคให้ดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

<sup>1</sup>ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

<sup>2</sup>สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

<sup>3</sup>ศูนย์วิจัยทางคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

## Development of Laboratory Network for Prevention and Control Program of Thalassemia in Udonthani, Nongkhai, Loei and Nongbualamphu provinces

Boonnipa Suwannakarn<sup>1</sup>, Siripakorn Sangkitporn<sup>2</sup>, Thadaporn Wongput<sup>1</sup>, Somchai Sangkitporn<sup>3</sup>

### Abstract

According to the important responsibility of medical laboratory in prevention and control of thalassemia, the Regional Medical Sciences Center Udonthani has developed the laboratory network in Udonthani, Nongkhai, Nongbualamphu and Loei provinces. This laboratory network could perform screening tests and confirmatory tests for diagnosis of thalassemia and abnormal hemoglobin (Hb). Results of the development of laboratory network showed that sample numbers that require the confirmatory tests increased three fold from 1,989 samples in 2003 to 4,363 samples in 2005. In this study, 3 mutations of beta-thalassemia and 7 abnormal Hb were reported. Three mutations of beta-thalassemia composed of -28, codon 17 and codons 41-42, whereas 7 abnormal Hb composed of Hb E, Hb CS, Hb Tak, Hb Pyrgos, Hb Hope, Hb J-Bangkok and Hb Korle-Bu. The network could provide the reliable laboratory results due to the standard practice under the quality control strategies including both internal quality control and external quality control. After 3 years of the study; reliable, fast and effective laboratory service co-operation have been developed to support the prevention and control program of thalassemia in Udonthani, Nongkhai, Loei and Nongbualamphu provinces.

**Key words:** Laboratory network, Thalassemia

กระบวนการตรวจวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องในการป้องกันโรคธาลัสซีเมียมี 3 ขั้นตอนที่สำคัญคือ การตรวจกรอง, การตรวจยืนยัน และการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์มารดา การตรวจกรองเป็นการตรวจเบื้องต้นเพื่อค้นหาผู้ที่ เป็นพาหะ alpha-thalassemia 1, พาหะ beta-thalassemia, พาหะ Hb E และผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ โดยทั่วไปการตรวจกรองที่ทำได้ง่าย ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพง และได้รับการยอมรับตามหลักวิชาการ คือ การตรวจ Osmotic Fragility (OF) ร่วมกับการตรวจ

Dichlorophenolindophenol precipitation (DCIP) การตรวจ OF ใช้ในการตรวจกรองหาพาหะ alpha-thalassemia 1, พาหะ beta-thalassemia และผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ ในขณะทำการตรวจ DCIP เป็นการตรวจกรองหา Hb E การใช้ OF ร่วมกับ DCIP สามารถตรวจกรองหาผู้ที่ เป็นพาหะ beta-thalassemia, alpha-thalassemia 1 และ Hb E ได้ โดยมีความไวร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 69.8-79.7<sup>(7-8)</sup> ผู้ที่มีผลการตรวจกรองเป็นบวกจะต้องได้รับการตรวจ

<sup>1</sup>Regional Medical Sciences Center in Udonthani, Department of Medical Sciences, Udonthani 41330

<sup>2</sup>National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000

<sup>3</sup>Clinical Research Center, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000

ยืนยันเพื่อหาสาเหตุของความผิดปกติต่อไป ส่วนผู้ที่ปกติหรือมีความผิดปกติชนิดไม่รุนแรงจะมีผลการตรวจกรองเป็นลบ

การตรวจยืนยันประกอบด้วยการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb Typing) และการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของยีน โดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) หญิงตั้งครรภ์และสามีที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยว่าเป็นคู่เสี่ยงในการให้กำเนิดบุตรเป็นโรคชนิดรุนแรง 3 ชนิด คือ Homozygous alpha-thalassemia 1, Homozygous beta-thalassemia และ beta-thalassemia/ Hb E จะได้รับการให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมเพื่อตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์มารดาต่อไป

เนื่องจากการตรวจกรองเป็นการตรวจที่ทำได้ง่าย ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพง สามารถทำได้ในโรงพยาบาลทุกแห่ง ในขณะที่การตรวจยืนยันต้องอาศัยผู้ที่มีประสบการณ์และเทคโนโลยีที่มีราคาแพง ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีจึงได้ดำเนินโครงการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์ที่สำคัญในการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการให้มีความน่าเชื่อถือ รวดเร็ว และครบวงจรมุ่งเน้นการบริหารจัดการทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการสนับสนุนการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่รับผิดชอบ

## วัตถุประสงค์และวิธีการ

**รูปแบบการศึกษา :** เป็นการศึกษาวิจัยเชิงปฏิบัติการในการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการ เพื่อสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

**สถานที่ทำการศึกษา :** ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี และโรงพยาบาลต่างๆ ในพื้นที่รับผิดชอบ โดยมีโรงพยาบาลชุมชนนำร่อง 2 แห่ง คือ โรงพยาบาลเพ็ญ และโรงพยาบาลบ้านผือ จ.อุดรธานี

**ระยะเวลาที่ทำการศึกษา :** 3 ปี ตั้งแต่ปี 2546 - 2548

**ตัวอย่างเลือด :** เป็นตัวอย่างเลือดชนิด EDTA Blood ของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่อยู่ในความดูแลของ

โรงพยาบาลต่างๆในพื้นที่รับผิดชอบของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีรวม 9,851 ตัวอย่าง

## วิธีการ

1. การพัฒนาศักยภาพบุคลากรทางสาธารณสุขทั้งแพทย์ พยาบาล และบุคลากรทางห้องปฏิบัติการจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

2. การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการชั้นสูงทางสาธารณสุข ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี ให้สามารถตรวจยืนยันได้ ทั้งการตรวจ Hb Typing และการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1

2.1 การตรวจ Hb Typing : เป็นการตรวจทั้งชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินโดยเครื่องอัตโนมัติหลักการ HPLC รุ่น Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad Laboratories, U.S.A)<sup>(9)</sup>

การควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ : ทำเป็นประจำทุกรอบที่มีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย โดยใช้วัสดุควบคุมคุณภาพ LyphoCheck Hb A2 (Bio-Rad Laboratories, U.S.A) ทำซ้ำทุกๆ 30 ตัวอย่าง

การควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยหน่วยงานภายนอก : เข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการด้านการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ซึ่งดำเนินการโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีการส่งตัวอย่างเลือดครั้งละ 4 ตัวอย่าง มายังศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีเป็นประจำทุก 3 เดือน<sup>(10)</sup>

2.2 การตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 เป็นการตรวจหาความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของ alpha -thalassemia 1 โดยวิธี PCR ซึ่งมี 2 รูปแบบดังนี้

2.2.1 การตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 โดยวิธี Multiplex PCR : ตัวอย่างที่ส่งตรวจจะถูกนำมาเตรียม DNA โดยใช้ยา NucleoSpin (Macherey-Nagel, Germany) ซึ่งอาศัยคุณสมบัติของ

DNA ในการจับกับ Silica Membrane จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไปตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 โดยวิธี Multiplex PCR และอ่านผลโดยการทำ Agarose Gel Electrophoresis<sup>(11)</sup>

2.2.2 การตรวจวินิจฉัย alpha -thalas semia 1 โดยเครื่องอัตโนมัติ อาศัยการเตรียม DNA โดยใช้เครื่องสกัดสารพันธุกรรมอัตโนมัติรุ่น Xiril 100 (Xiril, Switzerland) ร่วมกับการตรวจวินิจฉัย alpha-thalas semia 1 โดยวิธี Multiplex PCR ร่วมกับการวิเคราะห์ Dissociation Curve โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ สารพันธุกรรมในสภาพจริง (รุ่น ABI 7500, Applied Biosystems, U.S.A)<sup>(12)</sup>

การควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ภายใน ห้องปฏิบัติการ : ทำเป็นประจำทุกรอบที่มีการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย โดยใช้ DNA ที่ผ่านการตรวจ ยืนยันโดยเทคนิค DNA Sequencing จากสถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์สาธารณสุขเป็นวัสดุควบคุมคุณภาพ

การควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดย หน่วยงานภายนอก : เข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญ ทางห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัย alpha-thalas semia 1 ซึ่งดำเนินการโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีการส่งตัวอย่าง เลือดครั้งละ 4 ตัวอย่างมายังศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ อุตรธานีเป็นประจำทุก 3 เดือน<sup>(13)</sup>

3. การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการตรวจ วินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่รับผิดชอบของศูนย์ วิทยาศาสตร์การแพทย์อุตรธานีให้สามารถรายงานผลการ ตรวจวิเคราะห์ได้อย่างน่าเชื่อถือ รวดเร็ว และครบวงจร

4. การประเมินผลการดำเนินโครงการ

## การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์เนื้อหา

## ผลการศึกษา

### 1. การพัฒนาศักยภาพบุคลากร

1.1 บุคลากรที่เกี่ยวข้องในการตรวจวิเคราะห์ ทางห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ อุตรธานี ได้รับการพัฒนาศักยภาพเป็นประจำอย่าง ต่อเนื่อง ตามโครงการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์<sup>(14)</sup>

1.2 บุคลากรที่เกี่ยวข้องในการพัฒนาเครือข่าย ในพื้นที่รับผิดชอบของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ อุตรธานี ทั้งแพทย์ พยาบาล และบุคลากรทางห้อง ปฏิบัติการ ได้รับการถ่ายทอดองค์ความรู้ในการควบคุม และป้องกันโรคธาลัสซีเมียเป็นประจำอย่างต่อเนื่อง ดังนี้

1.2.1 วันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2546 ณ โรงแรมเจริญศรีแกรนด์ รอยัล จ.อุตรธานี เรื่อง การควบคุม และป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

1.2.2 วันที่ 20 สิงหาคม 2547 ณ โรงแรมเจริญศรีแกรนด์ รอยัล จ.อุตรธานี เรื่อง การควบคุม และป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

1.2.3 วันที่ 24 กันยายน 2547 ณ ห้อง ประชุมโรงพยาบาลเพ็ญ จ.อุตรธานี เรื่อง การควบคุม และป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

1.2.4 วันที่ 29 ตุลาคม 2547 ณ ห้อง ประชุมโรงพยาบาลบ้านผือ จ.อุตรธานี เรื่อง การควบคุม และป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

1.2.5 วันที่ 25 มกราคม 2548 ณ ห้อง ประชุมโรงพยาบาลเพ็ญและโรงพยาบาลบ้านผือ จ.อุตรธานี เรื่อง การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

### 2. การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการชั้นสูง สาธารณสุข ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุตรธานี

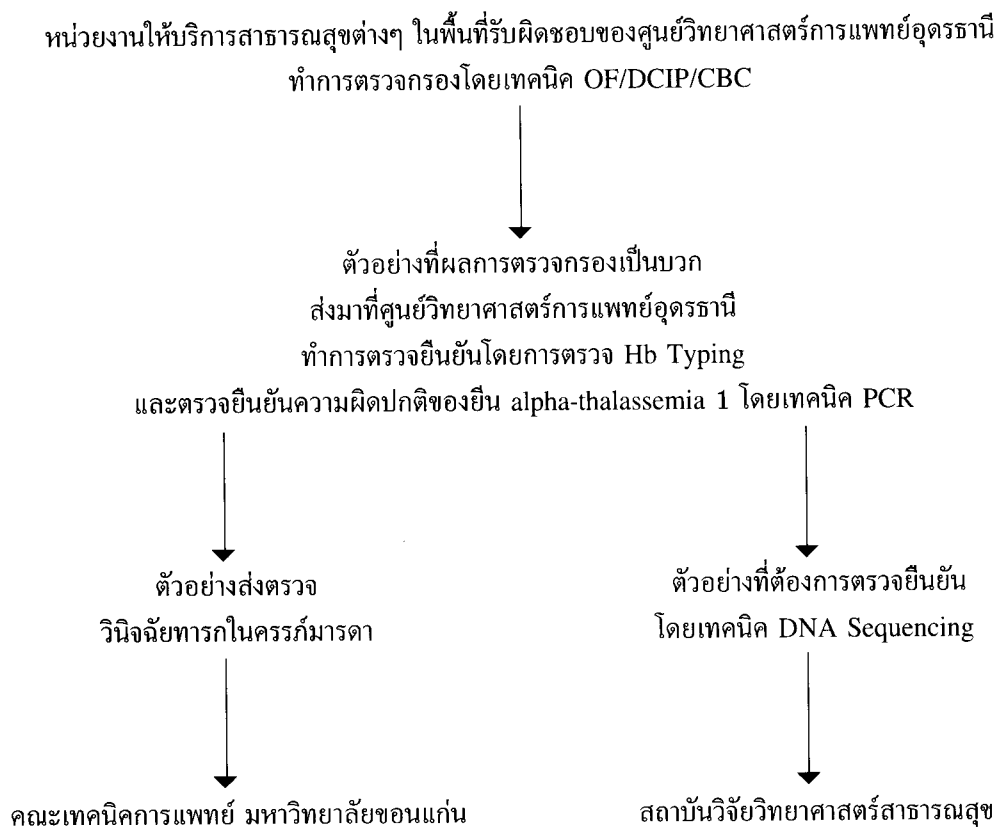
ห้องปฏิบัติการชั้นสูงสาธารณสุข ศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์อุตรธานีได้รับการสนับสนุนจากกรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ทั้งในด้านครุภัณฑ์และวัสดุที่จำเป็นในการตรวจ ยืนยัน ทั้งการตรวจ Hb Typing และการตรวจวินิจฉัย

alpha-thalassemia 1 โดยมีการพัฒนางานเป็นระยะอย่างต่อเนื่อง เริ่มจากการตรวจ Hb Typing โดยวิธี HPLC ร่วมกับการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 โดยวิธี Multiplex PCR ในปี 2546-2547 และในปี 2548 เป็นต้นมา การตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 ได้เปลี่ยนมาใช้วิธี PCR ร่วมกับการวิเคราะห์ Dissociation Curve

### 3. การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีได้ประสานกับหน่วยงานต่างๆ ในพื้นที่เพื่อพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียดังสรุปใน รูปที่ 1 เริ่มจากการสนับสนุนด้านองค์ความรู้เพื่อให้โรงพยาบาลต่างๆ สามารถตรวจกรองได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตัวอย่างที่ผลการตรวจกรองเป็นบวกจะส่งมายังศูนย์วิทยาศาสตร์

การแพทย์อุดรธานีเพื่อตรวจยืนยัน และประเมินความเสี่ยงของหญิงตั้งครรภ์และสามีในการมีบุตรเป็นโรคชนิดรุนแรงส่วนตัวอย่างที่จะต้องตรวจยืนยันความผิดปกติของยีนนอกเหนือจาก alpha-thalassemia 1 จะส่งไปยังสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในกรณีที่ตัวอย่างที่จะต้องส่งตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของทารกในครรภ์มารดาจะส่งไปยัง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อให้กระบวนการตรวจวินิจฉัยดำเนินไปได้ อย่างครบวงจร ส่วนโรงพยาบาลที่สามารถตรวจ Hb Typing ได้เอง ก็สามารถส่งตัวอย่างมาที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี เพื่อตรวจ alpha-thalassemia 1 หรือให้ทางศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีดำเนินการส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของทารกในครรภ์มารดาได้



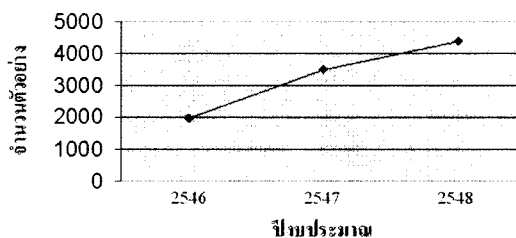
รูปที่ 1 รูปแบบการพัฒนาห้องปฏิบัติการและเครือข่ายการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย

#### 4. การประเมินผลการดำเนินโครงการ พิจารณาจากตัวชี้วัดด้านต่างๆ ดังนี้

4.1 ความน่าเชื่อถือของผลการตรวจวิเคราะห์พิจารณาจากผลการเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ ทั้งด้านการตรวจ Hb Typing และด้านการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 ซึ่งดำเนินโครงการโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และเชิญห้องปฏิบัติการในสังกัดมหาวิทยาลัยเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้วยทุกครั้ง ผลการเข้าร่วมโครงการพบว่าผลการตรวจวิเคราะห์ Hb Typing และ alpha-thalassemia 1 ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีผ่านเกณฑ์การประเมินทุกครั้ง

4.2 ความรวดเร็วในการให้บริการ พบว่าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีใช้ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์โดยเฉลี่ยน้อยกว่าระยะเวลาที่กำหนด โดยการตรวจ Hb Typing ใช้ระยะเวลาวิเคราะห์โดยเฉลี่ย 3 วันทำการ เร็วกว่าระยะเวลาที่กำหนดไว้ที่ 5 วันทำการ และการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 ใช้ระยะเวลาวิเคราะห์โดยเฉลี่ย 5 วันทำการ เร็วกว่าระยะเวลาที่กำหนดไว้ที่ 7 วันทำการ

4.3 จำนวนตัวอย่างเลือดที่เข้าสู่กระบวนการตรวจยืนยันของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีพบว่าจำนวนตัวอย่างส่งตรวจ Hb Typing และการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 จากห้องปฏิบัติการเครือข่ายทั้งหมดรวบรวมตั้งแต่ปี 2546 ถึง 2548 มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง หากรวมจำนวนตัวอย่างที่ส่งตรวจทั้งสองการทดสอบ พบว่ามีการเพิ่มขึ้นจาก 1,989 ตัวอย่างในปี 2546 เป็น 4,363 ตัวอย่าง ในปี 2548

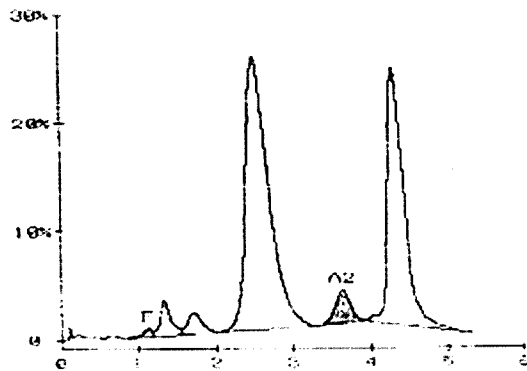


รูปที่ 2 ปริมาณตัวอย่างที่ได้รับการตรวจ Hb typing และการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1 จากห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี รวบรวมตั้งแต่ปี 2546-2548

จากการดำเนินโครงการที่ผ่านมา มีตัวอย่างส่งตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของทารกในครรภ์มารดา จำนวน 28 ตัวอย่าง ซึ่งศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีได้ส่งต่อไปยังศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ผลการตรวจพบทารกในครรภ์ปกติ 9 ราย, เป็นพาหะของ beta-thalassemia 4 ราย, พาหะของ alpha-thalassemia 5 ราย, เป็นพาหะ Hb E 5 ราย, เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิด Homozygous alpha-thalassemia 1 จำนวน 2 ราย, Homozygous beta-thalassemia 2 ราย และ beta-thalassemia/ Hb E จำนวน 2 ราย

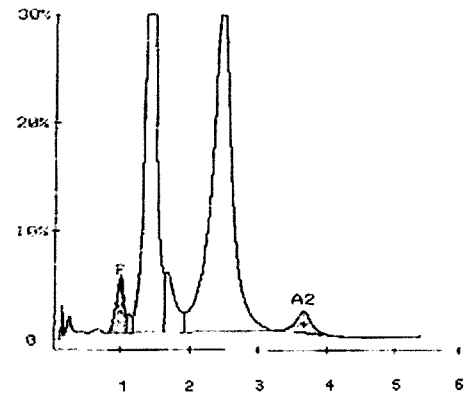
ผลการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของยีน beta-thalassemia และฮีโมโกลบินผิดปกติใน 20 ครอบครัว โดยเทคนิค DNA Sequencing พบความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของ beta-thalassemia 3 ชนิด ได้แก่ -28, codon 17 และ codon 41-42 ส่วนฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในการศึกษาครั้งนี้มี 7 ชนิด ชนิดที่พบได้บ่อยคือ Hb E และ Hb CS นอกจากนั้นเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้ไม่บ่อยอีก 5 ชนิด ได้แก่ Hb Tak, Hb Pyrgos, Hb Hope, Hb J-Bangkok และ Hb Korle-Bu ซึ่งมีค่า Retention Time 4.28, 1.48, 1.41, 2.06 และ 3.99 นาทีตามลำดับ

| ANALYTE ID | %    | TIME | AREA    |
|------------|------|------|---------|
| F          | 0.6  | 1.12 | 15677   |
| P2         | 3.1  | 1.33 | 80203   |
| P2         | 2.6  | 1.70 | 66247   |
| Ao         | 52.7 | 2.49 | 1349972 |
| A2         | 4.5  | 3.62 | 106632  |
| D-WINDOW   | 36.2 | 4.28 | 525739  |
| TOTAL AREA |      |      | 2544670 |
| F          | 0.6% | A2   | 4.5%    |



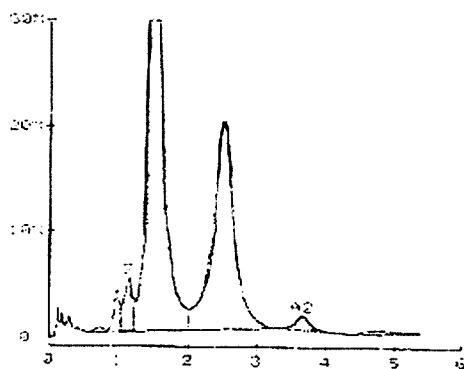
รูปที่ 1 (ก)

| ANALYTE ID | %    | TIME | AREA    |
|------------|------|------|---------|
| F          | 3.8  | 0.99 | 79984   |
| Unknown 1  | 0.6  | 1.11 | 16234   |
| P2         | 43.0 | 1.41 | 1135919 |
| P3         | 4.5  | 1.65 | 118818  |
| Ao         | 46.1 | 2.45 | 1216527 |
| A2         | 2.8  | 3.64 | 63584   |
| TOTAL AREA |      |      | 2630986 |
| F          | 3.8% | A2   | 2.8%    |



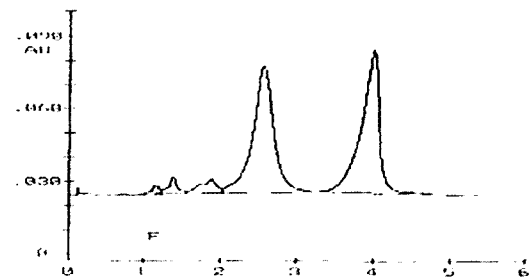
รูปที่ 2 (ข)

| ANALYTE ID | %    | TIME | AREA    |
|------------|------|------|---------|
| P1         | 0.3  | 0.70 | 5716    |
| Unknown 1  | 1.8  | 3.96 | 35211   |
| P          | 3.3  | 1.14 | 72516   |
| Unknown 2  | 56.4 | 1.40 | 1134201 |
| Ao         | 35.0 | 2.52 | 703167  |
| A2         | 2.2  | 3.65 | 35192   |
| Unknown 3  | 1.0  | 4.75 | 19803   |
| TOTAL AREA |      |      | 2035932 |
| F          | 0.3% | A2   | 2.2%    |



รูปที่ 3 (ค)

| ANALYTE ID | %    | TIME | AREA    |
|------------|------|------|---------|
| P1         | 0.1  | 0.72 | 1101    |
| F          | 1.3  | 1.15 | 28306   |
| P2         | 2.6  | 1.37 | 55225   |
| P3         | 4.2  | 1.87 | 89314   |
| Ao         | 46.1 | 2.54 | 910213  |
| D-WINDOW   | 45.5 | 3.99 | 978336  |
| TOTAL AREA |      |      | 2134544 |
| F          | 1.3% | A2   | 0.6%    |



รูปที่ 4 (ง)

รูปที่ 3 โครมาโตแกรมของ Hb Tak: RT 4.28 นาที (ก), Hb Pyrgos: RT 1.48 นาที (ข), Hb Hope: RT 1.41 นาที (ค) และ Hb Korle Bu: RT 3.99 นาที (ง) จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน โดยวิธี HPLC

## วิจารณ์

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี ในฐานะที่เป็นหน่วยงานในสังกัดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีหน้าที่วิเคราะห์ วิจัย เพื่อสนับสนุนการแก้ไขปัญหาสาธารณสุขในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำภู และจังหวัดเลย ได้เริ่มดำเนินการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย ในปี 2546 โดยได้รับคำแนะนำทางวิชาการเป็นอย่างดีจากคณาจารย์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้รับการสนับสนุนทั้งด้านนโยบาย ครุภัณฑ์ และวัสดุ ที่เกี่ยวข้องจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ การดำเนินงานที่ผ่านมาได้รับความร่วมมือเป็นอย่างดีจากหน่วยงานในพื้นที่ นับตั้งแต่สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสถานีนอมนัย และโรงพยาบาลต่างๆ

การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียเริ่มจากการพัฒนาศักยภาพบุคลากรที่เกี่ยวข้องทั้งแพทย์ พยาบาล และบุคลากรทางห้องปฏิบัติการเป็นประจำอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ถูกต้อง และร่วมกันกำหนดแนวทางในการปฏิบัติงาน มีการพัฒนาศักยภาพของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ให้สามารถตรวจยืนยันได้ครบทั้ง การตรวจ Hb Typing และการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1<sup>(14)</sup> การตรวจวิเคราะห์มีการควบคุมคุณภาพทั้งภายในห้องปฏิบัติการเอง ซึ่งจะต้องทำทุกครั้งทีวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วย และมีการควบคุมคุณภาพโดยหน่วยงานภายนอก ในรูปแบบการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการซึ่งดำเนินการโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์<sup>(10,13)</sup> ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีมีความน่าเชื่อถือ นอกจากนั้น การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองรายการมีความรวดเร็วสามารถรายงานให้ผู้ให้บริการทราบทันตามเวลาที่กำหนดและในกรณีที่ต้องตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์มารดา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีก็ได้ประสานในการจัดส่งตัวอย่างไปยัง ศูนย์วิจัยและพัฒนา

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อให้กระบวนการทางห้องปฏิบัติการดำเนินไปได้อย่างครบวงจรสำหรับความน่าเชื่อถือของผลการตรวจกรอง OF และ DCIP ซึ่งไม่มีวัสดุควบคุมคุณภาพสำหรับการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ และยังไม่มีหน่วยงานใดดำเนินโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการทางศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีได้ให้คำแนะนำกับทางโรงพยาบาลให้นำตัวอย่างที่ได้รับผลการตรวจยืนยัน Hb E แล้วมาใช้เป็นวัสดุควบคุมคุณภาพการตรวจ DCIP ได้แต่ไม่ควรเก็บตัวอย่างไว้นานเกินไปเพราะจะทำให้อ่านผลผิดพลาดได้ นอกจากนั้นยังให้คำแนะนำในการเปรียบเทียบผลการตรวจกรองของทางโรงพยาบาลกับผลการตรวจยืนยันที่ได้รับว่าสอดคล้องไปด้วยกันหรือไม่ หากไม่สอดคล้องจะได้หาแนวทางแก้ไขปัญหาร่วมกันต่อไป

สำหรับยีนที่เป็นสาเหตุของ beta thalassemia ในการศึกษาครั้งนี้พบเพียง 3 ชนิด คือ codon 41-42, codon 17 และ -28 อาจเป็นเพราะตัวอย่างในการศึกษายังน้อยเกินไป จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ส่วนยีนที่เป็นสาเหตุของฮีโมโกลบินผิดปกติมี 7 ชนิด เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย 2 ชนิด คือ Hb E และ Hb CS ส่วนอีก 5 ชนิดเป็นชนิดที่พบไม่บ่อย ได้แก่ Hb Tak, Hb Pyrgos, Hb Hope, Hb J-Bangkok และ Hb Korle-Bu ผลการศึกษาฮีโมโกลบินผิดปกติทำให้ทราบคุณสมบัติของฮีโมโกลบินแต่ละชนิด ซึ่งหลายชนิดมี RT ที่ใกล้เคียงกันในการศึกษาครั้งนี้พบว่า Hb Tak และ Hb Korle-Bu มี RT ใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วง D Window ทำให้เครื่อง HPLC รายงานเป็น D Window ทั้งคู่ ในขณะที่ Hb Hope และ Hb Pyrgos ก็มี RT ใกล้เคียงกันมากจน ไม่สามารถแยกความแตกต่างต้องตรวจยืนยันโดยวิธีพิเศษเพิ่มเติม เช่น DNA Sequencing ดังนั้น ในทางปฏิบัติหากพบฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้ไม่บ่อย จากการตรวจ Hb Typing ควรรายงานในเบื้องต้นเพียงว่าพบ Abnormal Hb หรือ



Unidentify Abnormal Hb และส่งตรวจยืนยัน โดยวิธีพิเศษ เช่น การตรวจ DNA Sequencing หรือ Amino Acid Analysis ต่อไป<sup>(15)</sup>

ความสำเร็จของโครงการประการหนึ่งอาจพิจารณาได้จากจำนวนตัวอย่างที่เข้าสู่การให้บริการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 1,989 ตัวอย่างในปี 2546 เป็น 3,499 ตัวอย่างในปี 2547 และ 4,363 ตัวอย่างในปี 2548 สำหรับปี 2548 มีจำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นมากอย่างเห็นได้ชัด เหตุผลส่วนหนึ่งคือ การที่คณะกรรมการหลักประกันสุขภาพแห่งชาติได้เริ่มมีนโยบายในการสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์ โดยการจัดสรรงบประมาณเพิ่มเติมผ่านกรมอนามัยไปยังหน่วยงานต่างๆ เพื่อใช้เป็นค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการอย่างครบวงจร หากการจัดสรรงบประมาณยังมีต่อไปอย่างต่อเนื่อง และเพียงพอจะช่วยสนับสนุนให้การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียของประเทศประสบความสำเร็จได้

### สรุป

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานีได้ร่วมกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำภู และจังหวัดเลย เพื่อพัฒนาเครือข่ายการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียทางห้องปฏิบัติการ โดยการพัฒนาศักยภาพของบุคลากรในพื้นที่รับผิดชอบ และสร้างเครือข่ายการจัดการตัวอย่างให้ได้รับการตรวจกรองการตรวจยืนยัน และการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ได้อย่างครบวงจร ผลการตรวจวิเคราะห์มีความน่าเชื่อถือและรวดเร็ว สามารถสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคุณอาจารย์ผู้เชี่ยวชาญด้านธาลัสซีเมียจากคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย

ขอนแก่น ที่ให้คำปรึกษาแนะนำอันเป็นประโยชน์ ขอขอบคุณโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการทุกแห่งที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี อย่างต่อเนื่องสม่ำเสมอตลอดการดำเนินโครงการ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายโลหิตวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ในการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

### เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Na-Nakorn S, Pootrakul S, Sookanek M, Disthasongchan P, Pornpatkul M, et al. Alpha- and beta-thalassemia in Thailand. Ann N Y Acad Sci 1969; 165: 60-82.
2. วิชัย เหล่าสมบัติ. ธาลัสซีเมีย. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์, 2541.
3. อรุณี เจตศรีสุภาพ, สุพรรณ พูเจริญ. องค์ความรู้ธาลัสซีเมีย 2546. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2547.
4. บุญเชียร ปานเสถียรกุล, บรรณานิการ. ธาลัสซีเมีย สถานการณ์ปัจจุบันและกลวิธีในการป้องกันและควบคุมโรคเลือดในประเทศไทย (พ.ศ.2532-2533). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: นานักวิชาการพิมพ์; 2533.
5. Phelan L, Bain BJ, Roper D, Jury C, Bain K. An analysis of relative costs and potential benefits of different policies for antenatal screening for beta-thalassemia trait and variant haemoglobins. J Clin Pathol. 1999; 52: 697-700.

6. ชเนนทร์ วนาภิรักษ์. ความคุ้มทุนของโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย: กรณีศึกษาของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 8; 8-9 สิงหาคม 2545; ณ โรงแรมโฆษะ. ขอนแก่น. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2545.
7. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in southeast Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-372.
8. Sangkitporn SK, Sangkitporn S, Sangnoi A, et al. Validation of osmotic fragility test and dichlorophenolindophenol precipitation test for screening of thalassemia and Hb E. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005; 36: 1538-42.
9. Fucharoen S, Winichagoon P, Wisedpanichkij R, Sae-Ngow B, Sriphanich R, Oncoung W, et al. Prenatal and postnatal diagnoses of thalassemias and hemoglobinopathies by HPLC. *Clin Chem* 1998; 44: 740-8.
10. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. แนวทางดำเนินโครงการทดสอบความชำนาญด้านการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน. นนทบุรี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2549.
11. สมชาย แสงกิจพร, สิริภากร แสงกิจพร, อารีรัตน์ สังข์น้อย, ปรีศนา เจริญพร. ชีวโมเลกุลของ  $\alpha^0$ -thalassemia ในประเทศไทย. *วารสารสหเวชศาสตร์* 2546; 3: 207-14.
12. Sangkitporn SK, Wangkahat K, Sangnoi A, Songkharm B, Charoenporn P, Sangkitporn S. Rapid diagnosis of  $\alpha^0$ -thalassemia using the relative quantitative PCR and the dissociation curve analysis. *Clin Lab Haematol*. 2003; 25: 359-365.
13. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. แนวทางดำเนินโครงการทดสอบความชำนาญด้านการตรวจวินิจฉัย alpha-thalassemia 1. นนทบุรี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2549.
14. สุพรรณ ศรีธรรมมา, สิริภากร แสงกิจพร, สมชาย แสงกิจพร. การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียของประเทศไทย. *วารสารวิชาการสาธารณสุข* 2548; 14: 34-44.
15. Svasti J, Srisomsap C, Winichagoon P, Fucharoen S. Detection and structural analysis of abnormal hemoglobins found in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30: 89-93.