

แนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพ สำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF/DCIP

ประชาธิป พลลา¹, รวิวรรณ พวงพฤษ¹, ฉลอง ทวีชีพ^{1,2}, สัมฤทธิ์ นิ่มมงคล^{1,2}, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา^{3*},
กุลณภา ฟูเจริญ³, สุพรรณ ฟูเจริญ³, ณัฐยา แซ่ฮ้อ³, ภัทรธรรณ แสนไชยสุริยา⁴

บทคัดย่อ

ธาลัสซีเมียเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ที่เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่จำเป็นต้องมีการควบคุมและป้องกัน
แนวทางในการควบคุมป้องกันแนวทางหนึ่ง คือ การตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียด้วย OF-test และ DCIP-
test แต่การทดสอบดังกล่าวยังมีข้อจำกัด คือ ไม่มีผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ การศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาแนวทางการ
คัดเลือกตัวอย่างเลือดเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยวิธี OF/DCIP จากตัวอย่าง
เลือดที่เหลือจากการใช้งานประจำวัน และประเมินโอกาสที่จะได้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกและลบ รวมทั้งโอกาส
การตรวจพบพาหะธาลัสซีเมียที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย คือ พาหะ α -thalassemia
1, β -thalassemia และ Hb E ในตัวอย่างเลือดดังกล่าว โดยกำหนดเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างเลือดจากค่า MCV
และ Hb คือ **กลุ่มที่ 1:** MCV < 75 fl และ Hb > 10 g/dl เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวก (positive control)
จำนวน 99 ราย และ **กลุ่มที่ 2:** MCV > 85 fl และ Hb > 12 g/dl เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นลบ (negative
control) จำนวน 32 ราย ตัวอย่างเลือดทุกรายถูกนำไปทดสอบด้วยวิธี KCU-OF และ KCU-DCIP-Clear ตรวจวิ
เคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินด้วย cellulose acetate electrophoresis และตรวจวิเคราะห์ α -thalassemia ด้วยวิธี
polymerase chain reaction (PCR) ตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A ทุกรายนำไปตรวจวัดปริมาณ Hb
 A_2 ด้วยวิธี column chromatography ผลการศึกษา พบว่า ในการตรวจคัดกรองด้วย OF มีตัวอย่างที่ให้ผลการ
ตรวจเป็นบวกในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 80.8 (95 % CI = 71.7-88.0) และร้อยละ 18.7 (95 %
CI = 7.2-36.4) ตามลำดับ และให้ผลเป็นลบร้อยละ 19.2 (95 % CI = 12.0-28.3) และ 81.2 (95% CI = 63.6-
92.8) ตามลำดับ ส่วนผลการตรวจคัดกรองด้วย DCIP พบว่า มีตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจเป็นบวกในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่
2 คิดเป็นร้อยละ 78.8 (95% CI = 69.4-86.4) และ 3.1 (95% CI = 0.08-16.2) และให้ผลเป็นลบร้อยละ 21.2
(95 % CI = 13.6-30.6) และ 96.9 (95 % CI = 83.8-99.9) ตามลำดับ และพบว่ากลุ่มที่ 1 มีชนิดฮีโมโกลบิน
เป็น A_2A , EA และ EE คิดเป็นร้อยละ 26.3 (95 % CI = 17.9-36.1), 54.5 (95 % CI = 44.2-64.6) และ 17.2
(95% CI = 10.3-26.1) ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ 2 มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A ทุกราย (ร้อยละ 100; 95 % CI =
89.1-100) และตรวจไม่พบพาหะ β -thalassemia เลยในตัวอย่างเลือดทั้งสองกลุ่ม จากผลการตรวจวิเคราะห์ α -
thalassemia พบพาหะ α -thalassemia 1 ได้ร้อยละ 5.2 (95 % CI = 1.1-14.4) ในกลุ่มที่ 1 แต่ไม่พบในกลุ่มที่
2 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโอกาสการตรวจพบ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา
ค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม จากเกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกตัวอย่างมีโอกาสได้ตัวอย่างที่ให้ผลการทดสอบ OF เป็น
บวกจริงและลบจริงสูง จึงน่าจะสามารถใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันมาใช้
เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในงานประจำวันได้

คำสำคัญ : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย, OF-test, DCIP precipitation test, ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

¹ นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4, ² โรงพยาบาลชัยภูมิ จ.ชัยภูมิ,

³ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์

⁴ ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Guideline for selecting left-over blood specimens for use as QC samples for thalassemia screening using OF/DCIP

Prachatip Phollarp¹, Rawiwan Puangplruk¹, Chalong Taweecheep^{1,2}, Samrit Nimmongkol^{1,2}, Kanokwan Sanchaisuriya^{3*}, Goonnapa Fucharoen³, Supan Fucharoen³, Nattaya Sae-Ung³, Pattara Sanchaisuriya⁴

Abstract

Thalassemia, an inherited hemoglobin disorder, is one of the major public health problems that need prevention and control. One of the control measures is carrier screening using a combination of OF and DCIP tests. The limitation of the tests, however, is no quality control products available. In order to develop a guideline for selecting left-over routine blood samples to serve as quality control samples, and to assess probability of gaining positive and negative results as well as probability to detect targeted thalassemia carriers, i.e. α -thalassemia 1, β -thalassemia and Hb E, the criteria for selecting left-over blood samples based on the MCV and Hb values were established to serve as positive (**group 1**; MCV < 75 fl and Hb > 10g/dl) and negative (**group 2**; MCV > 85 fl and Hb > 12 g/dl) control samples. All blood samples (99 in group 1 and 32 in group 2) were screened for thalassemia using the KKU-OF and KKU-DCIP-Clear tests. Cellulose acetate electrophoresis was performed to determine Hb-types. Alpha-thalassemia genes were identified by the polymerase chain reaction (PCR)-based method. Hemoglobin A₂ level was quantified in individuals with normal Hb-type using a microcolumn chromatography technique. It was found that the positive results of OF screening in group 1 and group 2 was 80.8% (95% CI = 71.8-88.0) and 18.7% (95% CI = 7.2-36.4), respectively; and, the negative results of OF screening in group 1 and 2 was 19.2% (95% CI = 12.0-28.3) and 81.2% (95% CI = 63.6-92.8), respectively. Meanwhile, the positive results of DCIP screening in group 1 and 2 were 78.8% (95% CI = 69.4-86.4) and 3.1% (95% CI = 0.08-16.2), respectively; and the negative results of DCIP screening in group 1 and 2 were 21.2% (95% CI = 13.6-30.6) and 96.9% (95% CI = 83.8-99.9), respectively. Determination of Hb-types in group 1 revealed 26.3% (95% CI = 17.9-36.1) A₂A, 54.5% (95%CI = 44.2-64.6) EA and 17.2% (95% CI = 10.3-26.1) EE. In group 2, Hb-type of all samples was A₂A (100%; 95% CI = 89.1-100). No β -thalassemia carrier was detected in both groups. PCR analysis of α -thalassemia genes detected 5.2% (95% CI = 1.1-14.4) α -thalassemia 1 carrier in group 1 but no

¹ Medical Technology student, Faculty of Associated Medical Sciences; Khon Kaen University,

² Chiyaphum Hospital, Chiyaphum province, ³Center for Research and Development in Medical Diagnostic Laboratory (CMDL); Khon Kaen University ⁴Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: kanokwan@kku.ac.th)

α - thalassemia 1 was identified in group 2. The results of the study indicate that probability to detect α -thalassemia 1 and β -thalassemia in the studied groups was relatively low. However, with the selecting criteria used in this study, a chance of gaining positive and negative OF test results was high. Therefore, the proposed criteria might be applicable for selecting left-over blood specimens to serve as positive and negative quality control samples for thalassemia screening in routine practice.

Key words: Thalassemia screening, OF-test, DCIP precipitation test, quality control sample

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคเลือดจางทางกรรมพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนโกลบิน ส่งผลให้มีการสร้างฮีโมโกลบินภายในเม็ดเลือดแดงลดน้อยลงหรือผิดปกติไป ผู้ที่เป็นโรคมีอาการแสดงทางคลินิกที่มีความรุนแรงแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของยีนธาลัสซีเมียที่ได้รับการถ่ายทอดมา ในกรณีที่มีความรุนแรงมากที่สุดจะเสียชีวิตตั้งแต่ในครรภ์หรือภายหลังคลอดไม่นานนัก ส่วนที่มีอาการรุนแรงรองลงมาจะมีอาการซีด ตัวเหลือง ตาเหลือง ตับและม้ามโต ต้องได้รับการถ่ายเลือดเป็นประจำสม่ำเสมอ นับเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญของหลายๆ ประเทศในโลก⁽¹⁾ สำหรับในประเทศไทยโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมและป้องกัน มี 3 ชนิด คือ โฮโมไซกัสอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (Homozygous α -thalassemia 1) โฮโมไซกัสบีตาธาลัสซีเมีย (Homozygous β -thalassemia) และบีตาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี (β -thalassemia/Hb E)⁽²⁾ ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดเป็นนโยบายให้มีการค้นหาพาหะธาลัสซีเมียเป้าหมายทั้งสามชนิดในหญิงตั้งครรภ์ทุกราย⁽³⁾ โดยอาศัยการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ คือ การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง (osmotic fragility test; OF- test) เพื่อค้นหาพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia⁽⁴⁾ ร่วมกับการทดสอบพาหะฮีโมโกลบินอี (Hb E) โดยการตกตะกอนด้วยสารดีซีไอพี (DCIP precipitation test)⁽⁵⁾ ซึ่งปัจจุบันการทดสอบทั้ง 2 ชนิดได้มีการผลิตเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปจำหน่ายและใช้กัน

อย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยชุดน้ำยาสำเร็จรูปที่นิยมใช้กันทั่วไป คือ KKU-OF test และ KKU-DCIP-Clear test อย่างไรก็ตาม ชุดน้ำยาสำเร็จรูปดังกล่าวยังไม่มีความควบคุมคุณภาพให้เท่ากับบรรจุกฎเกณฑ์ ทั้งนี้เนื่องจากข้อจำกัดของการทดสอบที่จะต้องใช้เวลาใหม่ในการทดสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง OF-test ดังนั้นโรงพยาบาลแต่ละแห่งจะต้องจัดหาเลือดสำหรับควบคุมคุณภาพเอง จากปัญหาดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาแนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจกรอง ธาลัสซีเมียด้วย OF-test และ DCIP-test จากตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการใช้งานประจำวัน โดยกำหนดเกณฑ์การเลือกตัวอย่างเลือดที่จะนำมาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับการทดสอบ OF-test จากค่า MCV < 75 fl และมีค่า Hb > 10 g/dl ซึ่งเป็นค่าที่พบได้ในพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia^(6,7) มาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวก (positive control; PC) และกำหนดค่า MCV > 85 fl และมีค่า Hb > 12 g/dl สำหรับใช้เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นลบ (negative control; NC) ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าตัวอย่างเลือดที่ถูกเลือกด้วยเกณฑ์ที่กำหนดไว้นั้นจะมีโอกาสพบตัวอย่างเลือดที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียที่เป็นเป้าหมาย คือ พาหะ α -thalassemia 1, β -thalassemia และ Hb E มากน้อยเพียงใด ผลที่ได้จะสามารถนำไปใช้ในการเลือกตัวอย่างเลือดเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพได้อย่างเหมาะสม

ตัวอย่างเลือดและวิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างเลือด

เป็นตัวอย่างเลือดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งที่เหลือจากการตรวจ CBC ของห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลชัยภูมิ ที่ได้ผ่านการตรวจข้อมูลทางโลหิตวิทยาเบื้องต้น โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่าง คือ

กลุ่มที่ 1: ตัวอย่างเลือดที่มีค่า MCV < 75 fl และมีค่า Hb > 10 g/dl จำนวน 99 ราย

กลุ่มที่ 2: ตัวอย่างเลือดที่มีค่า MCV > 85 fl และมีค่า Hb > 12 g/dl จำนวน 32 ราย

โดยมีการคำนวณขนาดตัวอย่างจากโอกาสที่จะตรวจพบพาหะธาลัสซีเมียที่เป็นเป้าหมาย (α -thalassemia 1 และ β -thalassemia) และโอกาสที่จะตรวจพบคนปกติในกลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงตามเกณฑ์ที่กำหนด โดยอาศัยข้อมูลจากการศึกษาของ Sanchaisuriya K และคณะ⁽⁷⁾

โครงการวิจัยนี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว (รหัสโครงการ HE500349)

2. วิธีการศึกษา

2.1. ตัวอย่างเลือดทุกรายที่คัดเลือกตามเกณฑ์จะถูกนำไปทำการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาลำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear⁽⁶⁾ และตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis⁽⁸⁾

2.2. ตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A ทุกราย จะถูกนำไปตรวจวัดปริมาณ Hb A_2 ด้วยวิธี KKU-minicolumn chromatography⁽⁸⁾ ตัวอย่างที่มีปริมาณ Hb A_2 ที่มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 ร่วมกับค่า MCV < 80 fl หรือ MCH < 27 pg จะให้การวินิจฉัยว่าเป็นพาหะ β -thalassemia

2.3. ตัวอย่างเลือดทุกรายจะถูกนำไปเตรียมดีเอ็นเอเพื่อตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 (SEA deletion), α -thalassemia 2 (3.7 และ 4.2 kb deletion), $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ และ α^{Pakse} ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)⁽⁹⁻¹²⁾

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติเชิงพรรณนาแสดงผลการตรวจคัดกรองชนิดฮีโมโกลบิน และชนิดของยีนธาลัสซีเมียที่ตรวจพบในแต่ละกลุ่มตัวอย่างเป็นร้อยละ และ 95 % confidence interval (95% CI)

ผลการศึกษา

1. ผลการตรวจกรองธาลัสซีเมีย

จากการนำตัวอย่างเลือดที่ได้คัดเลือกตามเกณฑ์ที่กำหนดทั้ง 2 กลุ่ม ไปทำการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KKU-OF test และ KKU-DCIP-Clear พบว่าร้อยละ 80.8 (95% CI = 71.7-88.0) ของตัวอย่างที่คัดเลือกตามเกณฑ์ในกลุ่มที่ 1 ให้ผลการตรวจคัดกรองด้วย OF เป็นบวก และร้อยละ 19.2 (95% CI = 12.0-28.3) ให้ผลเป็นลบ ในขณะที่ผลการตรวจคัดกรองด้วย OF-test ในกลุ่มที่ 2 จะให้ผลในทิศทางที่ตรงกันข้ามคือให้ผลเป็นบวกร้อยละ 18.7 (95% CI = 7.2-36.4) และเป็นลบร้อยละ 81.3 (95% CI = 63.6-92.8) ส่วนผลการตรวจกรองด้วย DCIP พบว่ามีตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจเป็นบวกในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 78.8 (95% CI = 69.4-86.4) และ 3.1 (95% CI = 0.1-16.2) ตามลำดับ และให้ผลเป็นลบร้อยละ 21.2 (95% CI = 13.6-30.6) และ 96.9 (95% CI = 83.8-99.9) ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจกรองธาลัสซีเมียด้วย OF-test และ DCIP-test ในตัวอย่างเลือด กลุ่มที่ 1 (MCV < 75 fl และ Hb > 10 g/dl) และ กลุ่มที่ 2 (MCV > 75 fl และ Hb > 12 g/dl)

กลุ่มตัวอย่าง	ผลการตรวจกรอง	อัตราการตรวจพบ (%)	95 % CI
กลุ่มที่ 1 (N=99)	OF-test		
	Positive	80.8	71.7-88.0
	Negative	19.2	12.0-28.3
	DCIP-test		
	Positive	78.8	69.4-86.4
	Negative	21.2	13.6-30.6
กลุ่มที่ 2 (N=32)	OF-test		
	Positive	18.7	7.2-36.4
	Negative	81.2	63.6-92.8
	DCIP-test		
	Positive	3.1	0.1-16.2
	Negative	96.9	83.8-99.9

2. ผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบิน

เมื่อนำตัวอย่างเลือดทุกรายไปตรวจหาชนิดฮีโมโกลบิน พบว่า ตัวอย่างเลือดในกลุ่มที่ 1 มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A₂A, EA และ EE คิดเป็นร้อยละ 26.3 (95% CI = 17.9-36.1), 54.5 (95% CI = 44.2-64.6) และ 17.2 (95% CI = 10.3-26.1) ตามลำดับ และพบชนิดอื่นร้อยละ 2.0 (95% CI = 0.2-7.1) คือ

CSA₂ABart's และ ETak ชนิดละ 1 ราย ส่วนในกลุ่มที่ 2 พบว่ามีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A₂A ทุกราย (ร้อยละ 100; 95% CI = 89.1-100) (ตารางที่ 2) และพบว่า ตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A₂A ทุกรายทั้งในกลุ่มที่ 1 และ 2 มีปริมาณ Hb A₂ น้อยกว่าร้อยละ 4 ของปริมาณฮีโมโกลบินรวม

ตารางที่ 2 ผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในตัวอย่างเลือด กลุ่มที่ 1 (MCV < 75 fl และ Hb > 10 g/dl) และ กลุ่มที่ 2 (MCV > 75 fl และ Hb > 12 g/dl)

กลุ่มตัวอย่าง	ชนิดฮีโมโกลบิน	อัตราการตรวจพบ (%)	95 % CI
กลุ่มที่ 1 (N=99)	A ₂ A*	26.3	17.9-36.1
	EA	54.5	44.2-64.6
	EE	17.2	10.3-26.1
	Others [§]	2.0	0.2-7.1
กลุ่มที่ 2 (N=32)	A ₂ A*	100	89.1-100.0

* ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (พิสัย) ของปริมาณ Hb A₂ ในกลุ่มที่ 1 และ กลุ่มที่ 2 = 2.3 ± 0.6 (1.4-3.4) และ 2.2 ± 0.4 (1.6-2.8) ตามลำดับ

[§] CSA₂ABart's 1 ราย และ E Tak 1 ราย

3. ผลการตรวจยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย

ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจหายีนอัลฟาธาลัสซีเมียในการศึกษาครั้งนี้ มีจำนวนตัวอย่างที่สามารถเตรียมดีเอ็นเอได้อย่างมีคุณภาพที่สามารถสรุปผลการตรวจวิเคราะห์ได้เป็นจำนวนทั้งสิ้น 86 ราย จากจำนวนทั้งสิ้น 131 ราย แบ่งเป็นตัวอย่างกลุ่มที่ 1 จำนวน 58 ราย และกลุ่มที่ 2 จำนวน 28 ราย จากผลการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอในตัวอย่างกลุ่มที่ 1 พบพาหะ α -thalassemia ทั้งสิ้นร้อยละ 40 แบ่งเป็นพาหะ α -thalassemia 1 ร้อยละ 5.2 (95% CI = 1.1-

14.4), α -thalassemia 2 ร้อยละ 27.6 (95% CI = 16.7-40.9), พาหะ Hb Constant Spring (Hb CS) ร้อยละ 5.2 (95% CI = 1.1-14.4) และพาหะ Hb Pakse' ร้อยละ 2 (95% CI = 0.4-19.9) โดยพาหะ α -thalassemia 2, Hb CS และ Hb Pakse' พบทั้งชนิดที่มีและไม่มี Hb E ร่วม (ตารางที่ 3) ส่วนในกลุ่มที่ 2 นั้น พบพบพาหะ α -thalassemia 2, Hb CS และ Hb Pakse' ได้ชนิดละ 1 ราย (ร้อยละ 3.6; 95% CI = 0.09-18.3)

ตารางที่ 3 ชนิดของอัลฟาธาลัสซีเมียที่ตรวจพบในตัวอย่างเลือด กลุ่มที่ 1 (MCV < 75 fl และ Hb > 10 g/dl) และ กลุ่มที่ 2 (MCV > 75 fl และ Hb > 12 g/dl)

กลุ่มตัวอย่าง	ชนิดอัลฟาธาลัสซีเมีย	อัตราการตรวจพบ (%)	95% CI
กลุ่มที่ 1 (N = 58)	α - thalassemia 1 heterozygote	5.2	1.1-14.4
	α - thalassemia 2	27.6	16.7-40.9
	Heterozygote	1.7	
	Heterozygous state coinherited with Hb E	15.5	
	Homozygous α -thalassemia 2	5.2	
	Homozygous state coinherited with Hb E	5.2	
	Hb Constant Spring	5.2	1.1-14.4
	Heterozygote	1.7	
	Heterozygous state coinherited with Hb E	1.7	
	Homozygous Hb Constant Spring	1.7	
	Hb Pakse'	2	0.4-11.9
	Heterozygote	1.7	
	Heterozygous state coinherited with Hb E	1.7	
กลุ่มที่ 2 (N = 28)	Heterozygous α - thalassemia 2	3.6	0.09-18.3
	Hb Constant Spring heterozygous	3.6	0.09-18.3
	Hb Pakse' heterozygous	3.6	0.09-18.3

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากปัญหาของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่ยังไม่มีตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมจัดจำหน่าย ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้พัฒนาแนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพการทดสอบภายในห้องปฏิบัติการ โดยกำหนดเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างเลือดขึ้น โดยอาศัยค่า MCV และ ค่า Hb เป็นเกณฑ์เบื้องต้น ซึ่งประมวลจากข้อมูลทางโลหิตวิทยาพื้นฐานของกลุ่มพาหะเป้าหมายของการตรวจคัดกรองด้วย OF-test คือ พาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นบวกสำหรับการทดสอบ OF และข้อมูลทางโลหิตวิทยาพื้นฐานของกลุ่มปกติเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นลบ ซึ่งจากข้อมูลของการศึกษาที่ผ่านมา^(6,7) พบว่าพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ทุกรายมีค่า MCV < 75 fl และผู้ที่ไม่มีธาลัสซีเมีย (คนปกติ) ส่วนใหญ่มีค่า MCV > 85 fl อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการลดโอกาสการได้ตัวอย่างเลือดที่มีค่าเม็ดเลือดแดงผิดปกติจากสาเหตุอื่น และเพิ่มโอกาสการได้ตัวอย่างที่ปกติจริงๆ จึงได้กำหนดค่า Hb > 10 g/dl เป็นเกณฑ์ร่วมในการคัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นบวก (กลุ่มที่ 1) และกำหนด Hb > 12 g/dl เป็นเกณฑ์ร่วมในการคัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นลบ (กลุ่มที่ 2) จากเกณฑ์ที่กำหนดขึ้นดังกล่าวจะเห็นได้ว่า เมื่อนำไปทำการทดสอบ OF พบว่ามีโอกาสที่จะได้ผลการทดสอบที่เป็นไปตามความคาดหมายประมาณร้อยละ 80 ด้วยช่วงเชื่อมั่น (95% CI) เท่ากับร้อยละ 71.8-88 สำหรับโอกาสที่ OF เป็นบวกในกลุ่มที่ 1 และร้อยละ 63.6-92.8 สำหรับโอกาสที่ OF เป็นลบในกลุ่มที่ 2 (ตารางที่ 1) และมีโอกาสที่ผลไม่เป็นไปตามความคาดหมายประมาณร้อยละ 20 กล่าวคือ ถึงแม้จะเป็นตัวอย่างเลือดที่มีค่า MCV ต่ำ ก็อาจให้ผล OF เป็นลบได้เช่นกัน ในทางกลับกัน ถึงแม้จะเป็นตัวอย่างเลือดที่มีค่า MCV สูง ก็อาจให้ผล OF เป็นบวกได้เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลในการศึกษาที่ผ่านมา^(6,7,13) ส่วนผลการทดสอบ DCIP ในตัวอย่าง

เลือดทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าในกลุ่มที่ 1 นั้นมีโอกาสพบตัวอย่างเลือดที่ให้ผล DCIP เป็นบวกด้วยสูงถึงร้อยละ 78.8 ซึ่งส่วนใหญ่ของตัวอย่างในกลุ่มนี้เป็นพาหะ Hb E (EA ร้อยละ 54.5 และ EE ร้อยละ 17.2; ตารางที่ 2) ทั้งนี้ เนื่องมาจากกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาเป็นกลุ่มประชากรอีสานซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความชุกของ Hb E สูง⁽¹⁴⁾ จึงมีโอกาสตรวจพบ Hb E สูงตามไปด้วย ส่วนในกลุ่มที่ 2 นั้น ถึงแม้ว่าจะพบตัวอย่างที่ให้ผลตรวจกรองด้วย DCIP เป็นบวกด้วยร้อยละ 3.1 (1/32 ราย) แต่เมื่อพิจารณาผลการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในกลุ่ม 2 จะพบว่าเป็น A₂A ทุกราย แสดงว่าเป็นตัวอย่างที่เป็นผลบวกปลอมต่อการทดสอบ DCIP ซึ่งพบได้ในช่วยร้อยละ 1-5 ของผู้ที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ⁽¹⁵⁾ แสดงให้เห็นว่าด้วยเกณฑ์การคัดเลือกที่กำหนดสำหรับกลุ่มลบนั้นมีโอกาสที่จะได้พาหะ Hb E เข้ามาด้วยน้อยมาก ดังนั้น เกณฑ์ที่กำหนดสำหรับกลุ่มที่ 2 จึงอาจนำไปใช้สำหรับการคัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นลบสำหรับการตรวจคัดกรองได้ทั้ง OF-test และ DCIP-test อย่างไรก็ตาม จากการที่มีผลการตรวจ OF ส่วนหนึ่งให้ผลที่ไม่เป็นไปตามความคาดหมาย แสดงให้เห็นว่าในการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นอาจต้องคัดเลือกไว้มากกว่า 1 ราย

เมื่อพิจารณาโอกาสการตรวจพบพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ในตัวอย่างเลือดกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มที่คัดเลือกขึ้นโดยมีเป้าหมายว่าน่าจะมีโอกาสการตรวจพบพาหะทั้งสองชนิดได้สูงขึ้น พบว่ามีอัตราการตรวจพบพาหะ α -thalassemia 1 ได้ประมาณร้อยละ 5 (95% CI = 1.1-14.4) (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นอัตราการตรวจพบที่ไม่แตกต่างไปจากกลุ่มตัวอย่างจากประชากรทั่วไป (ที่ไม่ได้กำหนดเกณฑ์การคัดเลือก) ในจังหวัดขอนแก่น สุรินทร์และบุรีรัมย์ที่เคยมีการศึกษามาก่อน^(6,7,16) ซึ่งสะท้อนให้เห็นโดยอ้อมว่ากลุ่มประชากรที่ศึกษาน่าจะเป็นกลุ่มที่มีความชุกของ α -thalassemia 1 ค่อนข้างต่ำกว่าพื้นที่อื่นๆ เช่นเดียวกับพาหะ β -thalassemia ซึ่งตรวจไม่พบเลยในการศึกษาครั้งนี้ ในขณะที่อัตราการตรวจพบพาหะ Hb E ใน

กลุ่มที่ 1 (ตารางที่ 2) จะสะท้อนให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาเป็นกลุ่มที่มีความชุก Hb E สูง และด้วยการกำหนดเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่าง จะมีโอกาสการตรวจพบ homozygous Hb E ได้สูงถึงร้อยละ 17 (95 % CI = 10.3-26.1) ในขณะที่มีโอกาสดูพบในประชากรทั่วไปเพียงร้อยละ 5-10^(7,8) ส่วนอัตราการตรวจพบพาหะ α -thalassemia 2 นั้นสูงกว่าที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้เช่นกัน ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการคัดเลือกตัวอย่างเข้าศึกษา

จากเกณฑ์ที่ได้กำหนดขึ้นเพื่อใช้ในการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันมาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นบวกและลบภายในห้องปฏิบัติการ สำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงโอกาสที่คัดเลือกแล้วจะสามารถนำไปใช้ได้จริงมากน้อยเพียงใด และโอกาสที่จะตรวจพบพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ในกลุ่มที่คัดเลือกเพื่อเป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นบวก ซึ่งจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า โอกาสการตรวจพบพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ในกลุ่มตัวอย่างที่คัดเลือกนั้นขึ้นอยู่กับความชุกของธาลัสซีเมียในกลุ่มประชากรที่ศึกษาด้วย ดังนั้นในการคัดเลือกตัวอย่างเลือดเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพจึงเป็นไปได้ยากที่จะได้ตัวอย่างที่เป็นพาหะที่เป็นเป้าหมายทั้งสองชนิด แต่จะเห็นว่า จากเกณฑ์ที่ใช้ในการศึกษามีโอกาสที่จะได้ตัวอย่างที่ให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวกจริงและลบจริงได้สูง ซึ่งน่าจะสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันมาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เป็นบวกและลบภายในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF-test รวมทั้ง DCIP-test ได้

เอกสารอ้างอิง

- Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. 4th edition. Blackwell Science Oxford; 2001.
- Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in Southeast Asia: problem and strategy for prevention and control. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1992; 23: 647-55.
- วิชัย เทียนถาวร. คำประกาศนโยบายส่งเสริมป้องกัน และควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของประเทศไทย. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 11, ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพมหานคร, วันที่ 1-2 กันยายน 2548.
- Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting beta-thalassaemia trait. J Med Genet. 1981; 18: 266-70.
- Kulapongs P, Sanguansermisri T, Mertz G, Tawarat S. Dichlorophenolindophenol (DCIP) precipitation test: a new screening test of Hb E and Hb H. J Ped Soc Thai 1976; 15: 1-7.
- Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364-72.
- Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Clin Pathol 2005; 123: 113-8.
- กุลนภา ฟูเจริญ. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. ขอนแก่น: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2549: 53-65.
- Fucharoen G, Fucharoen S. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting α -thalassemia 1 (SEA-type) and Hb Constant Spring genes. Eur J Haematol 1994; 53: 186-7.

10. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Pengjam Y. Molecular analysis of a Thai β -thalassemia heterozygote with normal hemoglobin A2 level: implication for population screening. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 44-9.
11. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Hb Pakse' [α 2, codon 142 (TAA $\rightarrow$ TAT or Term $\rightarrow$ Tyr)] in Thai patients with EABart's disease and Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 227-35.
12. Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Panyasai S, Devenish R, Luy L. Interaction of hemoglobin E and several forms of alpha-thalassemia in Cambodian families. *Haematologica* 2003; 88: 1092-8.
13. Panyasai S, Sringam P, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A simplified screening for α -thalassemia 1 (SEA type) using a combination of a modified osmotic fragility test and a direct PCR on whole blood cell lysates. *Acta Haematol* 2002; 108: 74-8.
14. Na-Nakorn S, Wasi P. The distribution of Hb E: hemoglobin E triangle in Southeast Asia. *J Med Assoc Thai* 1978; 65-71.
15. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ประทีป คุรุบรรณ, โสภารัตน์มีผะกาย, ศุภลักษณ์ จันคำ, กุลนภา พู่เจริญ, สุพรรณ พู่เจริญ, และคณะ. การประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลชุมชน. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 42-54.
16. กุลนภา พู่เจริญ, ณัฐยา แซ่อึ้ง, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, สุพรรณ พู่เจริญ. ฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมียในกลุ่มประชากรทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น. *วารสารวิจัย มข.* 2543; 5: 61-69.