



การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย

กุลนภา พุทธิเจริญ*
สุพรรณ พุทธิเจริญ

บทคัดย่อ

การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทยมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาผู้ที่มียืนแฝง อัลฟาธาลัสซีเมีย 1, บีตาธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินอี ไปให้คำแนะนำปรึกษาทางพันธุกรรมที่เหมาะสมในการดำเนินงานเพื่อการควบคุมและป้องกันไม่ให้เกิดทารกเกิดใหม่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิด คือ โฮโมซัยกัสอัลฟาธาลัสซีเมีย 1, โฮโมซัยกัสบีตาธาลัสซีเมีย และ บีตาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี โดยมีแนวทางการตรวจเลือด 2 แนวทาง แนวทางที่ 1 ตรวจคัดกรองด้วยการทดสอบความเปราะบางของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว (one tube osmotic fragility test; OF test) และการตกตะกอนฮีโมโกลบินอีด้วยสียูซีไอพี (DCIP test) แนวทางที่ 2 ตรวจคัดกรองด้วยค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง (mean cell volume; MCV) และ/หรือค่าเฉลี่ยปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean cell hemoglobin) ร่วมกับ DCIP test ตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อการตรวจคัดกรองจะได้รับการส่งตรวจยืนยันด้วยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอต่อไป ตัวอย่างที่ให้ผลลบไม่จำเป็นต้องได้รับการตรวจต่อไปอีก ผู้ปฏิบัติงานสามารถเลือกแนวทางไหนก็ได้ขึ้นอยู่กับความพร้อมของห้องปฏิบัติการ และความชำนาญของผู้ปฏิบัติ อย่างไรก็ตาม ผลการตรวจคัดกรองควรจะต้องได้รับการประเมินด้านคุณภาพและความชำนาญการอย่างสม่ำเสมอเพื่อไม่ให้เกิดผลลบปลอม

คำสำคัญ: การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย, OF, DCIP, MCV, MCH

ธาลัสซีเมีย (thalassemia) เป็นภาวะผิดปกติของฮีโมโกลบินที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ (inherited hemoglobin disorders)⁽¹⁾ ซึ่งมีทั้งกลุ่มที่ไม่แสดงอาการชัดเจน และกลุ่มที่แสดงอาการชัดเจน ปานกลาง ไปจนถึงชัดเจนมากและที่รุนแรงที่สุด คือ เสียชีวิตแรกคลอด ทั้งนี้ ขึ้นกับลักษณะของยีนที่ผิดปกติและลักษณะของการถ่ายทอดทางพันธุกรรม⁽²⁾ การตรวจทางห้องปฏิบัติการได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในการค้นหาผู้ที่มียืนแฝงธาลัสซีเมียที่ไม่แสดงอาการและวินิจฉัยแยกชนิดใน

กลุ่มที่แสดงอาการ แต่เนื่องจากชนิดของธาลัสซีเมียมีความหลากหลายจึงไม่มีการทดสอบใดการทดสอบหนึ่งทางห้องปฏิบัติการที่สามารถให้การวินิจฉัยธาลัสซีเมียได้ครอบคลุมทุกชนิด นอกจากนั้นชนิดของธาลัสซีเมียในประชากรแต่ละกลุ่มแต่ละเผ่าพันธุ์ ก็ยังมีความแตกต่างกัน แลบนเมดิเตอร์เรเนียน อาฟริกา ตะวันออกกลาง อินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย ล้วนมีความแตกต่างกันทั้งสิ้น^(1,2)

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.)

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ



Thalassemia screening in Thailand

Goonnapa Fucharoen *

Supan Fucharoen

Abstract

The objective of thalassemia screening in Thailand is to identify α - thalassemia 1, β - thalassemia and Hb E carriers. Those with these thalassemia genes will be given appropriate genetic counseling in a prevention and control program. The aim is to prevent birth of new case with three severe thalassemia diseases including homozygous α - thalassemia 1, homozygous β - thalassemia and β - thalassemia / Hb E disease. In general, two screening strategies are performed. In the first approach, α and β - thalassemias are screened for using a one tube osmotic fragility test (OF-test) and Hb E was identified by DCIP precipitation test (DCIP test). Alternatively, screening can be done using a combined RBC indices (mean cell hemoglobin; MCH and/or mean cell volume; MCV) and a DCIP test. While positive sample at this preliminary screening will be investigated further by Hb and DNA analyses, no further test is required for those with negative result. Both screening strategies can be done effectively but application depends on laboratory facilities and technical skill of the personnel. However, quality of thalassemia screening in routine practice needs to be evaluated regularly in order to minimize false negative result.

Key words: Thalassemia screening, OF, DCIP, MCV, MCH

สำหรับในประเทศไทยธาลัสซีเมียชนิดที่พบมาก คือ อัลฟา-ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินอี (hemoglobin ; Hb E) ขณะเดียวกัน บีตา-ธาลัสซีเมีย ชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ Hb E ก็พบได้เช่นกันแต่น้อยกว่า^(3,4) ความหลากหลาย ดังที่กล่าวมานี้จะเป็นข้อกำหนดแนวทางและวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการของแต่ละภูมิภาคให้สอดคล้องกับ ปัญหาของแต่ละพื้นที่นั้นๆ นอกจากนี้สภาวะทาง เศรษฐกิจของประเทศ ความคุ้มค่าและความคุ้มค่าก็มี บทบาทอย่างมากในการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการทดสอบ ที่เหมาะสม โดยทั่วไปการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อ

การวินิจฉัยธาลัสซีเมียอาจแบ่งได้เป็น 3 ระดับ⁽⁵⁾ คือ

ระดับที่ 1 (first line, primary screen) เพื่อ ค้นหาผู้ที่มีธาลัสซีเมีย จึงเรียกว่า การตรวจคัดกรอง (screening test)

ระดับที่ 2 (second line, secondary screen) เป็นการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินใน เลือด (Hb analysis) ซึ่งในประเทศไทยนิยมเรียกว่า การตรวจ Hb typing สามารถให้การวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย ที่ไม่ซับซ้อนได้เกือบทุกชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทย แต่ ไม่สามารถวินิจฉัยผู้ที่มีธาลัสซีเมียแฝงอัลฟา-ธาลัสซีเมียได้

Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories,
Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

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

ระดับที่ 3 การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA analysis) จะใช้ในกรณีที่ผลการตรวจเลือดไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ และในกรณีที่ต้องการจะตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์มารดาที่เสี่ยงต่อการให้กำเนิดทารกที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจะทำได้ด้วยการทดสอบอย่างง่าย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพง และไม่ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญมากนัก สามารถทำได้ในโรงพยาบาลชุมชนหรือตามสถานีนอามัยต่างๆ **มีเป้าหมายหลักอยู่ที่การคัดกรองเอาคนปกติหรือมีความผิดปกติชนิดที่ไม่รุนแรงออกไปเพื่อจะได้ไม่ต้องตรวจเลือดต่อให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย** ดังนั้นผลการทดสอบต้องมีความไวสูง อาจมีผลบวกปลอมได้บ้างแต่ไม่ควรมีผลลบปลอม รายที่ให้การตรวจคัดกรองเป็นลบไม่จำเป็นต้องนำไปตรวจยืนยันต่อ การตรวจคัดกรองจึงช่วยลดภาระงานและค่าใช้จ่ายในการตรวจลงได้มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อต้องดำเนินงานในกลุ่มประชากรขนาดใหญ่เพื่อการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ประกอบด้วยการทดสอบดังต่อไปนี้

การทดสอบความเปราะบางของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว (One tube osmotic fragility test; OF test)

การทดสอบความเปราะบางของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียวทำได้โดยดูการแตกของเม็ดเลือดแดงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.36 ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.4⁽⁶⁾ ซึ่งโดยทั่วไปเม็ดเลือดแดงของคนปกติมากกว่าร้อยละ 95 ของเม็ดเลือดแดงทั้งหมดในเลือดจะแตกหมดทำให้ได้สารละลายใส อ่านผลได้เป็นผลลบ (negative) แต่เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียและผู้ที่เป็นพาหะบางชนิดซึ่งเม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็ก ปริมาณฮีโมโกลบินในเซลล์น้อย ร่วมกับมีความแตกต่างของขนาดเม็ดเลือดแดงมากจะแตกไม่หมดมีเม็ดเลือดแดงเหลืออยู่ ทำให้สารละลายขุ่น อ่านเป็นผลบวก (positive) Winichagoon P และคณะ⁽⁷⁾ จึงนำหลักการนี้มาใช้ในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียใน

ประชากรไทย อย่างไรก็ตามการทดสอบนี้ไม่จำเพาะนัก เนื่องจากภาวะอื่นที่เม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กปริมาณฮีโมโกลบินในเซลล์น้อย เช่น โรคโลหิตจางจากการขาดเหล็ก ก็ให้ผลบวกได้เช่นกัน จากการศึกษาของผู้เขียนและคณะ⁽⁸⁾ พบว่าโดยทั่วไปการทดสอบนี้ให้ผลบวกในผู้ที่เป็นพาหะ บีตา-ธาลัสซีเมีย และ อัลฟา - ธาลัสซีเมีย 1 ทุกราย ส่วนผู้ที่เป็นพาหะ Hb E และอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 นั้น มีทั้งที่ให้ผลบวกและผลลบ น้ำยาทดสอบ OF เตรียมได้ไม่ยากแต่ต้องการสารเคมีและน้ำกลั่นที่มีคุณภาพดีและต้องควบคุมค่าพีเอช (pH) ของน้ำยาให้ถูกต้อง ปัจจุบันมีชุดน้ำยาลำเร็จรูปผลิตจำหน่ายทั่วไป เช่น Thal screen ของศาสตราจารย์ น.พ.ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และน้ำยา KCU-OF ของกลุ่มวิจัยผู้เขียนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นต้น ซึ่งน้ำยา KCU-OF นี้ผู้เขียนและคณะได้พัฒนาและดัดแปลงส่วนประกอบของน้ำยาให้มีความจำเพาะต่อ บีตา-ธาลัสซีเมีย และอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 มากขึ้น เพื่อลดปัญหาผลบวกปลอมที่มีมากถึงประมาณร้อยละ 20 ของวิธีดั้งเดิม⁽⁸⁾ แต่ยังคงมีความไวต่อ บีตา -ธาลัสซีเมีย และ อัลฟา -ธาลัสซีเมีย 1 สูงร้อยละ 100 เช่นเดิม⁽⁹⁾ โดยใช้น้ำยาตรวจเพียง 2 มิลลิตรผสมกับเลือด 20 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาทีก็สามารถอ่านผลด้วยตาเปล่าและรายงานผลได้ โดยมีรายละเอียดในการรายงานผล แปลผล และข้อจำกัดของการทดสอบ ดังนี้

การรายงานผลการทดสอบ OF

Negative : สารละลายใสทั้งหมด

Positive : สารละลายขุ่นแยกชั้นจากส่วนที่ใส เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องมากกว่า 30 นาที

การแปลผลการทดสอบ OF

Negative : ไม่เป็นธาลัสซีเมีย (non-thalassemia) หรืออาจเป็นธาลัสซีเมีย แต่เป็นชนิดที่ไม่รุนแรง (non-clinically significant thalassemia) เช่น อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, Hb Constant Spring, Hb Pakse'

Positive : อาจเป็นอัลฟาและหรือบีตา-ธาลัสซีเมีย (suspected alpha and/or beta-thalassemia) โดยอัลฟา-ธาลัสซีเมียมีโอกาสเป็นได้ทั้งชนิดอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 และ อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 ส่วน บีตา-ธาลัสซีเมียก็มีโอกาสเป็นได้ทั้ง บีตาศูนย์ และบีตาบวก-ธาลัสซีเมีย

ข้อจำกัดของการทดสอบ OF

เนื่องจากการตรวจคัดกรองด้วยการทดสอบ OF มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรอง อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 และบีตา-ธาลัสซีเมีย จึงเป็นไปได้ที่จะทำให้ค่าความจำเพาะจะมีค่าสูงถึงร้อยละ 100 ได้ [คำนวณได้จากสูตร จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกจริง (true positive; TP)หารด้วยจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลลบจริง (true negative; TN) รวมกับจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกปลอม (false positive; FP) คูณ 100 หรือ Specificity = $[TP/(TN+FP)] \times 100$ เนื่องจากอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 ซึ่งให้ผลบวกในบางตัวอย่างและจัดเป็นผลบวกปลอม มีอุบัติการณ์สูงมากในประชากรไทย และนอกจากนี้ภาวะอื่นที่ทำให้เม็ดเลือดแดงมีลักษณะเป็น hypochromic cell เช่น ภาวะโลหิตจางจากการขาดเหล็ก หรือเป็น target cell เช่นในโรคตับก็สามารถให้ผลบวกปลอมได้

ในการตรวจคัดกรองด้วยการทดสอบ OF แต่ละครั้งจะต้องทำการควบคุมคุณภาพด้วยการใช้ตัวอย่างเลือดผู้ใหญ่ที่ให้ผลบวกซึ่งคาดว่าจะมียีนธาลัสซีเมีย ($Hb > 11 \text{ g/dl}$, $MCV < 75 \text{ fl}$, $MCH < 25 \text{ pg}$) โดยจะสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4° เซลเซียส เพื่อการควบคุมคุณภาพผลบวกภายในห้องปฏิบัติการ (internal QC) ได้ประมาณ 1 สัปดาห์ ส่วนตัวอย่างเลือดเพื่อการควบคุมคุณภาพผลลบสามารถใช้ตัวอย่างเลือดผู้ใหญ่ปกติที่ไม่ซีด ($Hb > 13 \text{ g/dl}$, $MCV > 85 \text{ fl}$, $MCH > 28 \text{ pg}$) ซึ่งจะเก็บในตู้เย็น 4° เซลเซียส ได้นานประมาณ 2-3 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากอุบัติการณ์ของธาลัสซีเมียในประชากรไทยแล้ว โดยทั่วไปในการตรวจคัดกรองแต่ละครั้ง จึงน่าจะต้องมีทั้งผู้ให้ผลบวกและผลลบ โดย

ประมาณร้อยละ 50 ของประชากรควรจะให้ผลลบ ดังนั้นหากในการตรวจคัดกรองแต่ละครั้งพบว่าทุกตัวอย่างให้ผลบวกหมดหรือได้ผลลบทั้งหมด อาจแสดงว่ามีปัญหาในการตรวจกรองแล้ว จะเป็นวิธีการตรวจไม่ถูกต้องหรือน้ำยาที่ใช้ในการตรวจมีปัญหา ต้องตรวจสอบคุณภาพของน้ำยาก่อน ซึ่งปัญหาของน้ำยาที่จะทำให้เกิดผลบวกปลอมนั้นจะพบได้บ่อยกว่าผลลบปลอมเนื่องจากโอกาสของน้ำยาที่เก็บไว้น้ำจะระเหยแล้วทำให้ความเข้มข้นของเกลือ เพิ่มขึ้นซึ่งเกิดขึ้นได้ง่ายถ้าปิดฝาน้ำยาไม่สนิท เมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้นเม็ดเลือดแดงก็จะแตกน้อยลง เกิดเป็นผลบวกปลอมส่วนผลลบปลอมจะเกิดเมื่อน้ำยามีน้ำเพิ่มมากขึ้นหรือมีสารอื่นปนเปื้อนในภาชนะที่เก็บน้ำยา หลอดทดลองหรือปิเปตดูดตัวอย่างเลือดไม่สะอาดหรือไม่แห้งสนิทเป็นต้น ซึ่งโอกาสจะเกิดขึ้นเป็นไปได้ยากหากการเตรียมน้ำยามีการควบคุมคุณภาพมาอย่างดี รวมไปถึงคุณภาพของน้ำที่ใช้ในการเตรียมน้ำยาจะต้องมีความบริสุทธิ์ดีด้วย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการควบคุมคุณภาพการตรวจด้วยน้ำยาทดสอบ OF นี้จำเป็นต้องใช้เลือดครบ (whole blood) ซึ่งไม่เก่ามากดังกล่าวแล้ว ในการจัดเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ผู้ปฏิบัติงานจึงต้องจัดเตรียมเอง โดยอาจเลือกใช้ตัวอย่างเลือดที่ส่งตรวจในแต่ละวันที่ให้ผลบวกและลบที่ชัดเจนเก็บไว้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจคัดกรองในวันต่อไปอย่างต่อเนื่องได้ ซึ่งจะเป็นการควบคุมคุณภาพอายุการใช้งานของน้ำยาวิธีการหนึ่ง

การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีโดยการตกตะกอนด้วยดีซีไอพี (Dichlorophenolindophenol (DCIP) precipitation test for Hb E)

ดีซีไอพีเป็นสารเคมีที่สามารถออกซิไดซ์ฮีโมโกลบินได้ทุกชนิดเมื่อนำไปอุ่นกับเลือดที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส โดยที่ Hb E และฮีโมโกลบินไม่เสถียร (unstable hemoglobin) อื่นๆ เช่น Hb H จะถูกออกซิไดส์ให้ตกตะกอนได้เร็วกว่าจึงนำหลักการนี้มาใช้ในการตรวจคัดกรอง Hb E และ Hb H^(10,11) โดยปริมาณตะกอนที่พบในผู้ที่

เป็น Hb E โฮโมซัยโกท จะมากกว่าผู้ที่ เป็นพาหะ Hb E และ Hb H อย่างไรก็ตามการทดสอบนี้นิยมใช้ในการตรวจคัดกรอง Hb E เป็นหลัก^(7,12) แต่มีข้อเสีย คือ ต้องใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานประมาณ 1 ชั่วโมง และอ่านผลการตรวจยากเนื่องจากน้ำยามีสีน้ำเงินเข้มและมักเกิดผลบวกปลอมจากฮีโมโกลบินปกติได้ถ้าตั้งทิ้งไว้นานเกิน 1 ชั่วโมง^(13,14) สุพรรณ พูเจริญและคณะจึงได้ทำการปรับปรุงสูตรการเตรียมน้ำยา DCIP และพัฒนาวิธีการตรวจขึ้นใหม่เป็นชุดน้ำยาลำเร็จรูปขึ้น คือ ชุดน้ำยา KKU-DCIP-Clear (สุพรรณ พูเจริญ และคณะ สิทธิบัตรเลขที่ 18004 กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์) ผลิตภัณฑ์เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้น้ำยาตรวจเพียง 2 มิลลิลิตร ผสมกับเลือด 20 ไมโครลิตรอยู่ที่อุณหภูมิ 37^o เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยาและฟอกสีน้ำเงินออกไปด้วยสารละลาย clearing 20 ไมโครลิตร ทำให้อ่านผลได้ง่ายและไม่เกิดผลบวกปลอมจากฮีโมโกลบินอื่นอีก โดยมีรายละเอียดในการรายงานผล แผลผล และข้อจำกัดของการทดสอบ ดังนี้

การรายงานผลการทดสอบ DCIP

Negative : สารละลายใส

Positive : สารละลายขุ่น

การแปลผลการทดสอบ DCIP

Negative : ไม่มี Hb E

Positive : อาจเป็นผู้ที่มี Hb E ซึ่งพบได้ทั้งที่เป็นพาหะและโฮโมซัยโกท หรืออัลฟาและหรือบีตา-ธาลัสซีเมีย ที่มี Hb E ร่วม

ข้อจำกัดของการทดสอบ DCIP

Hb H ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียรถ้ามีปริมาณมากจะถูกออกซิไดซ์ตกตะกอนเกิดผลบวกปลอมได้จากการศึกษาของผู้เขียนพบว่าเมื่อนำมาตรวจคัดกรองในกลุ่มประชากรทั่วไปจำนวนกว่า 1,000 ราย วิธีนี้มีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบสูงถึง ร้อยละ 99.8, 98.3, 97.2 และ 99.9 ตามลำดับ ส่วนพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่นให้ผลลบ^(8,9) นอกจากนี้ยังพบว่าหากห้องปฏิบัติการไม่มีอ่างน้ำควบคุม

อุณหภูมิ ก็สามารถทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้องได้แต่ต้องปรับเวลาในการทำปฏิกิริยาให้เหมาะสมตามอุณหภูมิห้องขณะทำการทดสอบด้วย⁽¹⁵⁾ และควรต้องทำเลือดควบคุมคุณภาพซึ่งให้ผลบวก และผลลบควบคู่ไปพร้อมกับการทดสอบในแต่ละครั้งเสมอ โดยเลือดควบคุมคุณภาพผลบวกควรใช้เลือดพาหะ Hb E ซึ่งสามารถจะเก็บไว้ได้นานถึง 4 สัปดาห์ ในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 4^o เซลเซียส ส่วนเลือดควบคุมคุณภาพผลลบ ใช้เลือดคนปกติที่ไม่มี Hb E ซึ่งจะเก็บในตู้เย็นได้ประมาณ 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นอาจให้ผลบวกปลอมได้ การเตรียมเลือดเพื่อการควบคุมคุณภาพของน้ำยาภายในห้องปฏิบัติการ ผู้ปฏิบัติงานสามารถเตรียมได้ด้วยวิธีการเดียวกันกับการทดสอบ OF

การทดสอบ OF และ DCIP จำเป็นต้องใช้ร่วมกันในการตรวจคัดกรองเพื่อให้ครอบคลุมถึงพาหะทั้ง 3 ชนิด คือ อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตา-ธาลัสซีเมีย และ Hb E ตามแผนงานการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย ชนิดรุนแรง 3 โรค คือ โฮโมซัยกัส อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, โฮโมซัยกัส บีตา-ธาลัสซีเมีย และ บีตา-ธาลัสซีเมีย / Hb E^(16,17) โดยการทดสอบ OF จะมีความไวและความจำเพาะต่อ อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 และ บีตา-ธาลัสซีเมีย ส่วนการทดสอบ DCIP จะมีความไวและความจำเพาะต่อ Hb E ซึ่งผลการตรวจคัดกรองและการแปลผลการตรวจคัดกรอง OF ร่วมกับ DCIP ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 1 หญิงตั้งครรภ์ที่ให้ผลลบจากการตรวจคัดกรองด้วยการทดสอบ OF และ DCIP หากคำนวณจากอุบัติการณ์แล้วมีประมาณร้อยละ 50 ของประชากร จึงไม่เสี่ยงต่อการมีลูกเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงทั้ง 3 โรคดังกล่าวแล้ว จึงไม่จำเป็นต้องตรวจเลือดต่อ ดังนั้นการตรวจคัดกรองด้วยวิธีการง่ายๆ นี้ จึงสามารถลดภาระงานและค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียได้มาก และหากตรวจคัดกรองในคู่สมรสด้วย อาจพิจารณาผลการตรวจร่วมกันทั้งของสามีและภรรยาเพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงที่จะให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคชนิดรุนแรงได้แล้วจึงเลือกเฉพาะคู่เสี่ยงดังกล่าวไปทำการตรวจวินิจฉัยยืนยันต่อไป ดังแสดงใน ตารางที่ 2 ก็จะยิ่งลดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการลงได้มาก

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย OF ร่วมกับ DCIP และการแปลผล

OF	DCIP	Interpretation
-	-	Non-thalassemia or non-clinically important thalassemia *
+	-	Suspected α – thal** and/or β – thal***
-	+	Suspected Hb E trait
+	+	Suspected Hb E with or without α – thal** and/or β – thal***

+ : positive

- : negative

* α – thalassemia 2, Hb Constant Spring, Hb Pakse'

** α – thalassemia 1 and/or α – thalassemia 2

*** β^0 – thalassemia and/or β^+ – thalassemia

ตารางที่ 2 ผลการตรวจกรอง OF ร่วมกับ DCIP ในคู่สมรสและโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่มีโอกาสเป็นในทารก

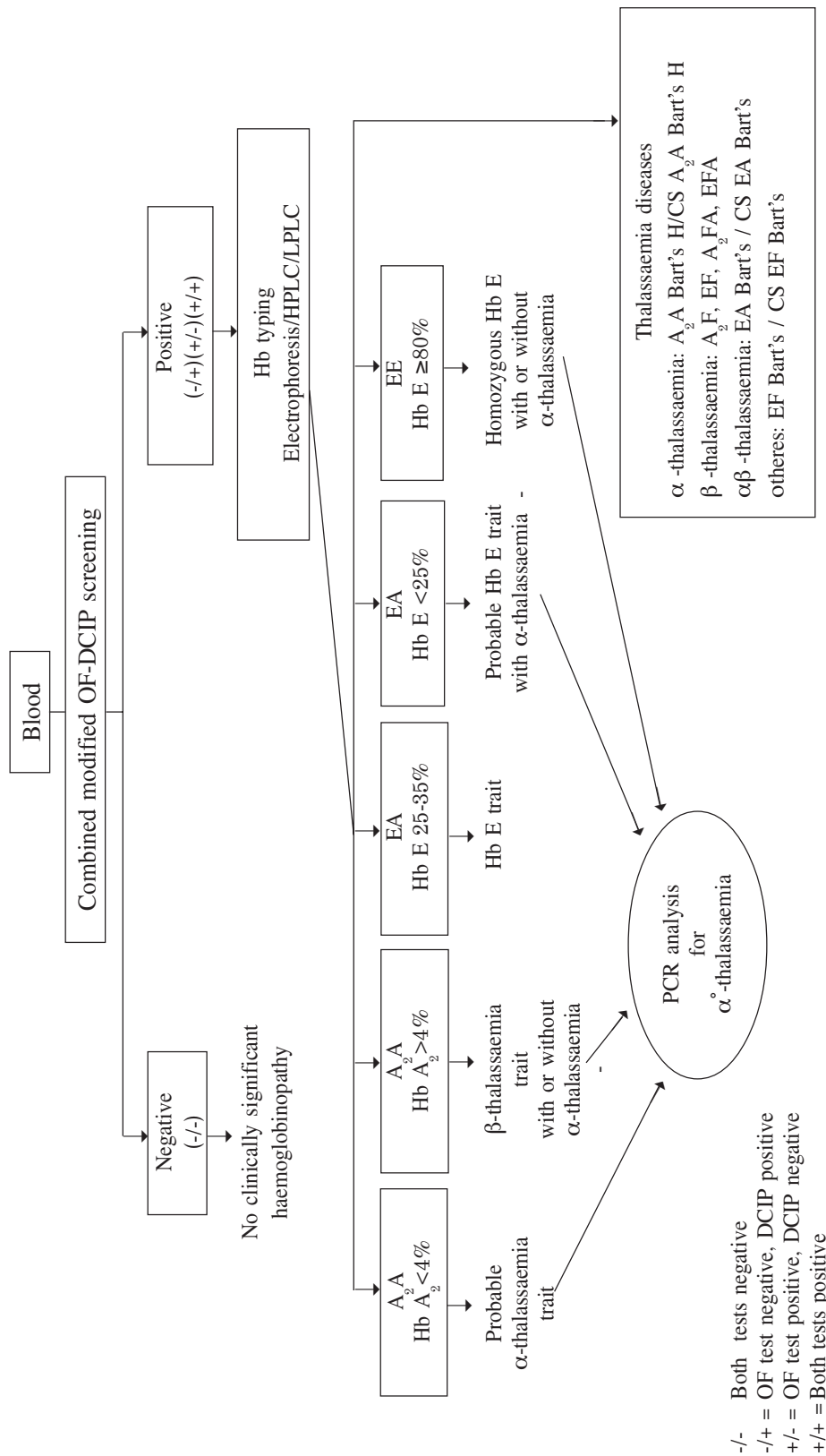
OF / DCIP		Possible severe thalassemia diseases in fetus
Father	Mother	
+ / -	+ / -	α – thal 1 / α – thal 1 β – thal / β – thal
+ / - - / +	- / + + / -	β – thal / Hb E
+ / - + / +	+ / + + / -	β – thal / Hb E α – thal 1 / α – thal 1 β – thal / β – thal
+ / +	+ / +	β – thal / Hb E α – thal 1 / α – thal 1 β – thal / β – thal

+ : positive

- : negative

ผู้เขียนและคณะได้ทำการประเมินประสิทธิภาพ การตรวจคัดกรอง อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตา-ธาลัสซีเมีย และ Hb E ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF ร่วมกับ KKU-DCIP-Clear ที่ทำการทดสอบทั้งโดยผู้เชี่ยวชาญ และผู้ปฏิบัติงานในพื้นที่ พบว่ามีค่า ความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบมากกว่า ร้อยละ 98, 65, 75 และ 98 ตามลำดับ จึงได้เสนอเป็น แนวทางการตรวจคัดกรองอย่างง่ายที่เหมาะสมสำหรับประเทศ ที่กำลังพัฒนาในชุมชนชนบท ที่มีความชุกของ ธาลัสซีเมียและ Hb E สูง ดังแสดงใน **รูปที่ 1** และได้ตีพิมพ์ เผยแพร่ไว้ในวารสารขององค์การอนามัยโลก⁽¹⁸⁾ ต่อมา Bain BJ ผู้เขียนตำรา Haemoglobinopathy Diagnosis⁽¹⁹⁾ นำชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-DCIP-Clear ไปตรวจสอบประสิทธิภาพการตรวจคัดกรอง Hb E ใน ประเทศอังกฤษซึ่งมีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่นๆ ที่ หลากหลายและแตกต่างจากในประเทศไทย ก็พบว่าให้ ผลดีมากเช่นกันโดยได้ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบ เท่ากับร้อยละ 100, 92, 85.7 และ 100 ตามลำดับ⁽²⁰⁾ และได้ แนะนำในบทความนั้นว่าชุดน้ำยาสำเร็จรูปนี้เหมาะสมที่จะใช้ตรวจคัดกรอง Hb E ในประเทศที่มีข้อจำกัดด้าน งบประมาณได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมีรายงานการ ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับประสิทธิภาพของแนวทางการตรวจ คัดกรองด้วยการทดสอบ OF และ DCIP เช่น การ ศึกษาของ Wiwanitkit V และคณะ⁽²¹⁾ Sangkitporn S และคณะ⁽²²⁾ ยศสมบัติ จังตระกูลและคณะ⁽²³⁾ ซึ่งก็

พบว่าให้ผลดีมากโดยมีความไวสูงถึงร้อยละ 100 อีกทั้งยังพบว่าแนวทางดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศลาวได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน⁽²⁴⁾ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ กนกวรรณ แสนไชยสุริยาและคณะ⁽²⁵⁾ ที่ได้ทำการประเมิน สถานการณ์ปัญหาการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF ร่วมกับ DCIP ในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง พบว่า ปัญหาส่วนใหญ่มีสาเหตุจากความผิดพลาดของบุคลากร ในการทำการทดสอบและการอ่านผลเนื่องจากยังไม่เข้าใจ ในหลักการและข้อจำกัดของการทดสอบดีพอ ผู้เขียน จึงได้ให้ ศาสตราจารย์วันทองและคณะ⁽²⁶⁾ จัดทำมาตรฐาน การปฏิบัติงาน (Standard operating procedures; SOP) การทดสอบ OF และ DCIP ขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด (สามารถ download SOP นี้ได้จาก วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด พ.ศ. 2550 ปีที่ 19 ฉบับที่ 2 ใน website ของคณะเทคนิคการ แพทย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น <http://ams.kku.ac.th>) ซึ่ง นอกจากจะมีรายละเอียดของ SOP ตามที่ได้กล่าวไป แล้วยังมีรายงานการศึกษาแนวทางการคัดเลือกตัวอย่าง ที่เหลือจากงานประจำวันเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม คุณภาพ สำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF/ DCIP ของประชาธิปไตย พลตา และคณะ⁽²⁷⁾ ในวารสาร เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด พ.ศ.2550 ปีที่ 19 ฉบับที่ 3 ด้วย



รูปที่ 1 แนวทางการตรวจวินิจฉัยโลหิตสีซีมีเยและ Hb E ที่เริ่มจากการตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP⁽¹⁸⁾

ปัญหาการตรวจคัดกรองด้วย OF และ DCIP ที่ผู้เขียนมักได้รับการบอกกล่าวอยู่เสมอจากผู้ปฏิบัติงานในโรงพยาบาลต่างๆ ที่ผู้เขียนได้มีโอกาสออกไปนิเทศงาน หรือมีโอกาสออกไปบรรยายในการประชุมฟื้นฟูความรู้ให้กับผู้ปฏิบัติงาน คือ **ความยากในการอ่านผลด้วยตาเปล่า** ผู้เขียนจึงได้ให้นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 ทำภาคนิพนธ์ศึกษาการอ่านผลด้วยวิธีการวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 800 นาโนเมตร⁽²⁸⁾ พบว่าการอ่านผลมีความถูกต้องมากขึ้นโดยมีผลบวกปลอมลดลงและไม่มีผลลบปลอม แต่ก็จะเพิ่มความยุ่งยากในการใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งในปัจจุบันไม่ค่อยมีใช้ในห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยแล้ว อย่างไรก็ตามผู้เขียนเชื่อว่า หากสามารถพัฒนาเครื่องมือวัดความขุ่นแบบพกพาได้โดยใช้หลักการง่ายๆ ก็น่าจะทำให้การอ่านผลง่ายและมีความถูกต้องมากยิ่งขึ้นทำให้การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF และ DCIP มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

การตรวจคัดกรองด้วยค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (RBC indices)

นอกจากการตรวจคัดกรองด้วย OF และ DCIP แล้ว การพิจารณาค่าพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับเม็ดเลือดแดง ได้แก่ Hb, hematocrit (Hct), mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH), mean cell

hemoglobin concentration (MCHC) และ red cell distribution width (RDW) ที่ตรวจวัดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ⁽²⁹⁾ สามารถนำมาใช้ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียได้เช่นกัน โดยมีการใช้ค่า MCV และ MCH เพื่อการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียอย่างแพร่หลายมานานแล้วในประเทศตะวันตก เช่น อังกฤษ⁽³⁰⁾ และ อิตาลี⁽³¹⁾ เมื่อนำมาใช้คัดกรองในประเทศไทยได้ใช้เกณฑ์ค่า MCV < 80 fl และหรือ MCH < 27 pg ถือว่าให้ผลคัดกรองเป็นบวก⁽³²⁾ จากการศึกษาของ Sanchaisuriya K และคณะ⁽³³⁾ พบว่าจะให้ค่าความไวและความจำเพาะต่ำกว่าการตรวจคัดกรองด้วย OF และ DCIP ดังแสดงในตารางที่ 3 เนื่องจากในประเทศไทยมีพาหะ Hb E จำนวนหนึ่งที่มีค่า MCV > 80 fl และ MCH > 27 pg ส่วนผู้ที่เป็นพาหะอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 และ บีตา-ธาลัสซีเมีย จะมีค่า MCV ต่ำ (< 76 fl), MCH ต่ำ (< 26 pg) และ RDW กว้าง (>13%) ในขณะที่ค่าอื่นๆ เช่น Hb และ Hct อยู่ในเกณฑ์ปกติ^(18,33) การตรวจวัดค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัตินี้มีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการตรวจคัดกรองด้วย OF และ DCIP เนื่องจากต้องใช้เครื่องมือและน้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศอีกทั้งยังต้องการการควบคุมคุณภาพเครื่องวิเคราะห์ที่ดีจึงจะทำให้ได้ค่าการตรวจวัดที่ถูกต้อง

ตารางที่ 3 ความไว, ความจำเพาะ, ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ด้วยวิธีการต่างๆ ⁽³³⁾

	MCV < 80 fl	MCH < 27 pg	MCV < 80 fl or MCH < 27 pg	MCV < 80 fl or MCH < 27 pg or positive DCIP	positive OF or positive DCIP
Sensitivity (%)	72.0	78.9	81.7	100	100
Specificity (%)	84.3	79.0	77.0	76.2	87.1
PPV (%)	76.4	72.6	71.5	74.8	84.5
NPV (%)	81.0	84.1	85.6	100	100

PPV : positive predictive value

NPV : negative predictive value

โดยสรุปการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย เป็นการตรวจเพื่อค้นหาผู้ที่อาจจะมีธาลัสซีเมียเพื่อให้คำแนะนำปรึกษาทางพันธุกรรมที่เหมาะสม สามารถเลือกทำได้ในสองแนวทาง ดังนี้

1. ตรวจด้วยการทดสอบ OF ร่วมกับ DCIP

2. ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ เพื่อวัดค่า MCV และ MCH โดยใช้เกณฑ์ MCV < 80 fl และ/หรือ MCH < 27 pg ให้สงสัยว่ามีธาลัสซีเมียร่วมกับการทดสอบ DCIP

ผู้ปฏิบัติสามารถเลือกใช้แนวทางไหนก็ได้ขึ้นอยู่กับความพร้อมและความชำนาญของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง ซึ่งควรได้รับการประเมินคุณภาพอย่างสม่ำเสมอ โดยผลการตรวจคัดกรองไม่ควรมีผลลบปลอมและผลบวกปลอมก็ไม่ควรจะมีมากเกินไป ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ริเริ่มจัดทำโครงการทดสอบความชำนาญในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KGU-OF/KGU-DCIP ขึ้นและใช้ในทดสอบในโรงพยาบาลหลายแห่ง โดยกำหนดเกณฑ์การประเมิน ดังนี้

ความชำนาญการในระดับดีเยี่ยม ตัวอย่างที่คัดกรองเป็นลบตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย และ Hb E (ไม่พบ false negative) และตัวอย่างที่คัดกรองเป็นบวกที่ตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย, บีตาบวก-ธาลัสซีเมีย และ Hb E มีน้อยกว่าร้อยละ 10 (false positive < 10 %)

ความชำนาญการในระดับดีมาก ตัวอย่างที่คัดกรองเป็นลบตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย และ Hb E (ไม่พบ false negative) และตัวอย่างที่คัดกรองเป็นบวกที่ตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย, บีตาบวก-ธาลัสซีเมีย และ Hb E อยู่ระหว่างร้อยละ 11-20 (false positive 11 - 20%)

ความชำนาญการในระดับดี ตัวอย่างที่คัดกรองเป็นลบตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย และ Hb E (ไม่พบ false negative) และตัวอย่างที่คัดกรองเป็นบวกที่ตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย, บีตาบวก-ธาลัสซีเมีย และ Hb E อยู่ระหว่างร้อยละ 21-30 (false positive 21- 30%)

ความชำนาญการในระดับพอใช้ ตัวอย่างที่คัดกรองเป็นลบตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย และ Hb E (ไม่พบ false negative) และตัวอย่างที่คัดกรองเป็นบวกที่ตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย, บีตาบวก-ธาลัสซีเมียและ Hb E อยู่ระหว่างร้อยละ 31-40 (false positive 31- 40%)

ความชำนาญการในระดับต้องปรับปรุง ตัวอย่างที่คัดกรองเป็นลบตรวจพบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย หรือ Hb E (พบ false negative) และตัวอย่างที่คัดกรองเป็นบวกที่ตรวจไม่พบยีน อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1, อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2, บีตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย, บีตาบวก-ธาลัสซีเมีย และ Hb E มีมากกว่าร้อยละ 40 (false positive > 40%)

ห้องปฏิบัติการใดต้องการเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญการในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยชุดน้ำยาลำเร็จรูป KKU-OF/KKU-DCIP สามารถติดต่อผู้เขียนเพื่อขอรายละเอียดได้ทาง e-mail: goonnapa@kku.ac.th

เอกสารอ้างอิง

- Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Organ 2001; 79: 704- 12.
- Weatherall DJ. The thalassemias. In Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter RM, Varmus H. eds. The molecular basis of blood diseases. 3rd ed. W.B. Saunders Company, London 2001: 183-226.
- Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. Ann NY Acad Sci 1980; 344: 352 - 63.
- Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. Hemoglobin 1987; 11: 65-88.
- Weatherall DJ, Clegg JB. The laboratory diagnosis of the thalassemias. In: The thalassaemia syndromes. 4th ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 2001: 686-723.
- Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting β -thalassemia trait. J Med Genet 1981; 18: 266 - 70.
- Winichagoon P, Thitvichianlert A, Lebnak T, et al. Screening for the carriers of thalassemias and abnormal hemoglobins at the community level. Southeast Asian J Trop Med Pub Helth 2002; 33(suppl): 145-50.
- กุลนภา พุ้เจริญ, กันยารัตน์ แคนตะ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ และคณะ. ธาลัสซีเมีย และภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง OF test และ KCU-DCIP-Clear. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2542; 9: 111 - 8.
- กุลนภา พุ้เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ญัฐยา แซ่ฮึ้ง, สุพรรณ พุ้เจริญ. ฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมียที่ตรวจพบในประชากรทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น. วารสารวิจัย มข. 2543; 5: 61- 7.
- Fischer H, Bowman JE. Hemoglobin E: an oxidatively unstable mutation. J Lab Clin Med 1975; 85: 531 - 9.
- Kulapongs P, Sanguansermisri T, Mertz G, Tawarat S. Dichlorophenolindolphenol (DCIP) precipitation test: a new screening test of Hb E and Hb H. J Pediatric Soc Thai 1976; 15: 1-7.
- ยุพิน ใจแปง, กุลนภา พุ้เจริญ, เกียรติกร กิจเจริญ, ญัฐยา แซ่ฮึ้ง, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. การทดสอบทางห้องปฏิบัติการแบบง่ายเพื่อตรวจกรองธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2536; 5: 131-8.
- กติกา ภวภูตานนท์, วิษย์ศักดิ์ สุขสะอาด, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, รุ่งชัย บุญเฟื่องฟู, ยุทธพล มั่นคง, กุลนภา พุ้เจริญ และคณะ. การตรวจกรองฮีโมโกลบิน อีโดยวิธีการตกตะกอนด้วยดีซีไอพีในกลุ่มประชากรที่ไม่ซีด. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2536; 5: 139-44.

14. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ญัฐยา แซ่ฮ้อ, กรรณิการ์ กัวหา, กุลนภา พูเจริญ. การทดสอบกรองเพื่อวินิจฉัยฮีโมโกลบินอีโดยการตกตะกอนด้วยไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลที่อุณหภูมิห้อง. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2538; 7: 5 - 20.
15. กุลนภา พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ธิดา อุณใจ และคณะ. การตรวจกรองฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KCU-DCIP-Clear ที่อุณหภูมิต่างๆ. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2547; 32: 576 - 84.
16. วิจารย์ พานิช. การควบคุมและการป้องกันโรคธาลัสซีเมีย. ใน: สุรพล อิศรไกรศิลป์ (บก) โลหิตวิทยา: การประชุมวิชาการประจำปีสมาคมโลหิตวิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 5, 28 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2534.
17. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in Southeast Asia: problem and strategy for prevention and control. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 1992; 23: 647-55.
18. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364 - 72.
19. Bain BJ. Hemoglobinopathy Diagnosis 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.
20. Chapple L, Harris A, Phelan L, Bain BJ. Reassessment of simple chemical method using DCIP for screening for haemoglobin E. J Clin Pathol 2006; 59: 74-6.
21. Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Paritpooke N. Combined one-tube osmotic fragility (OF) test and dichlorophenol indolphenol (DCIP) test screening for hemoglobin disorders, an experience in 213 Thai pregnant women. Clin Lab 2002; 48: 525-8.
22. Sangkitporn S, Sangkitporn S, Sangnoi A, Supangwiput O, Tanphaichitr VS. Validation of osmotic fragility test and dichlorophenol indophenol precipitation test for screening of thalassemia and Hb E. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 2005; 36: 1538 - 42.
23. ยศสมบัติ จังตระกูล, วุฒิชัย สุขสนิท, ชีรวัฒน์ คำแก้ว, ดวงฤดี จังตระกูล, กุลนภา พูเจริญ. ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรอง อัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 บีตา-ธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินอี ที่หน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัย โรงพยาบาลศรีนครินทร์. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2551; 20: 97-104.
24. อ่อนคำ ขาวศรี, กุลนภา พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ญัฐยา แซ่ฮ้อ, สุพรรณ พูเจริญ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินอีในหญิงตั้งครรภ์ที่โรงพยาบาลศูนย์สุขภาพแม่และเด็ก นครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 34-41.
25. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ประทีป คุรุบรรณ, โสภารัตน์ ฝะกาย, ศุภลักษณ์ จันคำ, ญัฐยา แซ่ฮ้อ, กุลนภา พูเจริญ และคณะ. การประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนา ประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในชุมชน. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 42-54.
26. สาคร วันทอง, กุลนภา พูเจริญ, เชี่ยวชาญ สระคูพันธ์, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ญัฐยา แซ่ฮ้อ, สุพรรณ พูเจริญ. การจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสงขลวงจังหวัดร้อยเอ็ด. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 148-66.
27. ประชาธิป พลลาภ, รวีวรรณ พวงพฤษ, ฉลอง ทวีชีพ, สัมฤทธิ์ นิยมมงคล, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พูเจริญ, และคณะ. แนวทางการคัดเลือก ตัวอย่างที่เหลืจากงานประจำวันเพื่อใช้เป็นตัวอย่าง ควบคุมคุณภาพ สำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF/DCIP. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 218-26.
28. นัฐพล ประกอบแก้ว, ศิริพงษ์ อัครพิน, กุลนภา พูเจริญ, สุพรรณ พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ญัฐยา แซ่ฮ้อ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยวิธี

- OF/DCIP และการวัดความขุ่น. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 227-37.
29. อานนท์ บุญยรัตเวช. เทคโนโลยีใหม่ในการตรวจวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือด. ใน โลหิตวิทยาเม็ดเลือดแดง. กรุงเทพฯ, ฟีนีฟลิปบลิชซิง 2535: 291 - 320.
30. The thalassemia working party of the BCSH general hematology task force. Guidelines for investigation of the alpha and beta thalassemia traits. J Clin Pathol 1994; 47: 289 - 95.
31. Cao A, Rosatelli MC, Monni G, Galanello R. Screening for thalassemia: a model of success. Obstet Gynecol Clin N Am 2002; 29: 305 - 28.
32. Weatherall DJ, Clegg JB. The laboratory diagnosis of the thalassemias. In: The thalassaemia syndromes. 4th ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 2001: 690.
33. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Retanasiri 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.