

นิพนธ์ฉบับ

การประเมินประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะ α -thalassemia โดยวิธีการตรวจ MCV, HbH inclusion body test และ Gap-PCR: กรณีศึกษาที่โรงพยาบาลลำปาง

เทียมจันทร์ เกียรติการค้า* สุรสิทธิ์ สุวรรณสินธ์** ธนศักดิ์ ตาตุ**

บทคัดย่อ

อัลฟ่า-ธาลัสซีเมียเป็นความผิดปกติของการสร้างฮีโมโกลบินที่พบได้บ่อยในทุกภาคของประเทศไทย ผู้ที่เป็นพาหะมักไม่แสดงอาการทางคลินิก แต่มีการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาในระดับหนึ่ง รายงานนี้ เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของการตรวจดัชนีเม็ดเลือดแดงและการตรวจหา Hb H inclusion bodies (HbH-IB) ในการวินิจฉัยพาหะอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย และเพื่อประเมินความครอบคลุมของการตรวจหา α -thalassemia 1 heterozygote โดยวิธีตรวจหาความผิดปกติระดับโมเลกุล ทำการศึกษาในตัวอย่างเลือดจำนวน 29 ราย จากโรงเรียนกีฬา จังหวัดลำปาง ตรวจนับเม็ดเลือดทั้งหมดด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ ตรวจหา HbH-IB หลังจากอุ่นตัวอย่างเลือดใน 1% Brilliant Cresyl Blue เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ 37 องศาเซลเซียส ตรวจชนิด และปริมาณฮีโมโกลบิน โดยวิธี cation exchange LPLC ผลการวิเคราะห์ พบว่า ตัวอย่างเลือดทั้งหมดไม่มีภาวะโลหิตจาง โดยมีระดับฮีโมโกลบิน 11.0-14.6 g/dL ระดับฮีโมโกลบินเอสอง (HbA₂) อยู่ในช่วงปกติ (1.9–3.3%) อย่างไรก็ตาม พบว่าระดับ MCV มีการกระจายกว้างและมีค่าต่ำกว่า 80 fL ซึ่งเป็นจุดตัดของการวินิจฉัยภาวะ thalassemia trait (MCV 61-79 fL) มีตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อ HbH-IB จำนวน 4 ราย จากข้อมูลทั้งหมดคาดว่าตัวอย่างเลือดทุกรายเป็นพาหะ อัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย แต่หลังจากทำการตรวจระดับ โมเลกุลโดยเทคนิค Gap-PCR แล้วพบว่า ตัวอย่างจำนวน 5 รายที่มี MCV ต่ำกว่า 70 fL ให้ผลบวกต่อ Gap-PCR สำหรับ α -thalassemia 1 (SEA type) ส่วนอีก 24 ราย ให้ผลลบต่อการตรวจดังกล่าว ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า การตรวจคัดกรองพาหะอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย ในระดับห้องปฏิบัติการประจำวัน โดยใช้วิธีการตรวจ MCV, HbH-IB และระดับ HbA₂ ไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัย จำเป็นต้องอาศัยผลจากการตรวจระดับโมเลกุล และผลการศึกษาชี้ชัดว่ากลไกระดับโมเลกุลของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย ในคนไทยมีความหลากหลายและการตรวจระดับ Gap-PCR เพียงเพื่อตรวจหา α -thalassemia (SEA type) ไม่ครอบคลุมความผิดปกติของ α -globin gene ที่ทำให้เกิดอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2552; 42: 94-101.

คำรหัส: อัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย การตรวจคัดกรอง MCV HBH inclusion body Gap-PCR

* แผนกปฏิบัติการกลาง โรงพยาบาลศูนย์ลำปาง อ. เมือง จ.ลำปาง

** แผนกวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract: Evaluation of efficiencies of MCV, HbH inclusion body test and Gap-PCR in the screening of α -thalassemia: A case study of Lampang Hospital

Tiemjan Kewkarnkha,* Surasit Suwannasin, Thanusak Tatu****

α -thalassemia is characterized by quantitative abnormality of α -globin chain commonly occur in Thailand. Heterozygote of α -thalassemia is clinically asymptomatic, but with modest alteration of hematologic parameters. This report aimed to evaluate the routine thalassemia screening methods (MCV, HbH inclusion bodies; HbH-IB) in diagnosis of α -thalassemia diagnosis and to determine whether the single molecular protocol was able to detect the molecular defect causing α -thalassemia in Thais. The study was conducted in 29 students of Lampang Sport School. Full blood count was analyzed by using automated blood cell analyzer. HbH-IB was determined after incubating blood sample in 1% Brilliant Cresyl Blue in 37 °C waterbath for 1 hour. Hb identification was performed by LPLC technique. The results showed that all samples analyzed were non-anemic with hemoglobin concentration ranging 11.0-14.6 g/dL, normal Hb typing with normal HbA₂ level (1.9-3.3 %) and lower-than-80 fL MCV value. Four samples were positive for HbH-IB. Based on these results, all samples were initially categorised to be α -thalassemia heterozygote. However, after Gap-PCR analysis for α -thalassemia 1, 5 samples with MCV lower than 70 fL were positive and the other 24 were negative. The finding in this study indicated that the thalassemia screening parameters including MCV, HbH-IB and HbA₂ level routinely employed in most routine laboratories might not be of sufficient capability to detect α -thalassemia heterozygote. The additional molecular analysis was required to complete the diagnostic process. This study also indicated that the molecular background of α -thalassemia in Thais is more heterogeneous and only the Gap-PCR for SEA deletion could not cover all the causative molecular defects causing α -thalassemia. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2009; 42: 94-101.

Keywords: α -thalassemia, thalassemia screen, MCV, HBH inclusion body, Gap-PCR

* Department of Central Laboratory, Lampang Hospital, Lampang

** Division of Clinical Microscopy, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai

บทนำ

แอลฟาธาลัสซีเมีย (α -thalassemia) เป็นกลุ่มอาการที่เกิดจากความผิดปกติของการสร้าง α -globin chain ซึ่งพบบ่อยในทั่วทุกภาคของประเทศไทย และแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามความรุนแรงจากมากไปน้อยตามลำดับคือ α -thalassemia 1 ซึ่งไม่มีการสร้าง α -globin chain เลย ส่วนใหญ่เกิดจากการขาดหายไปของ α -globin gene 2 loci บนโครโมโซมข้างเดียวกันและ α -thalassemia 2 ซึ่งยังคงมีการสร้าง α -globin chain ได้บ้าง ส่วนใหญ่เกิดจากการขาดหายไปของ α -globin gene เพียง 1 locus^{1,2} ปัญหาจะเกิดขึ้นเมื่อคู่สมรสเป็นพาหะของ α -thalassemia 1 ทั้งคู่ทำให้มีโอกาส 25% ที่จะได้บุตรเป็น homozygous α -thalassemia 1 หรือ Hb Bart's hydrops fetalis ซึ่งเป็นภาวะที่ทารกเสียชีวิตในครรภ์หรือภายหลังคลอดไม่นาน และมารดาอาจเกิดครรภ์เป็นพิษซึ่งถ้าเป็นรุนแรงอาจจะเสียชีวิตได้³

α -thalassemia เกิดจากการขาดหายไปของ α -globin gene โดยถ้าขาดหายไป 2 ยีน เรียกว่า α -thalassemia 1 ซึ่งมีอาการที่รุนแรงกว่า α -thalassemia 2 ซึ่ง α -globin gene หายไปเพียง 1 ยีน ประมาณ 3.5% ของประชากรไทยมียีน α -thalassemia 1 และประมาณ 16% มียีน α -thalassemia 2⁴⁻⁶ การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการของ α -thalassemia heterozygote สามารถพิจารณาจากผลการตรวจ One-tube osmotic fragility test (OFT) ที่เป็นตัวบ่งชี้ในผู้ที่ เป็น α -thalassemia 1 heterozygote และอาจจะบวกหรือลบหรือกำกวมในผู้ที่ เป็น α -thalassemia 2 heterozygote, ค่า MCV ที่ต่ำกว่า 70 fL ในผู้ที่ เป็น α -thalassemia 1 heterozygote และเข้าใกล้ 80 fL ในผู้ที่ เป็น α -thalassemia 2 heterozygote, การตรวจพบ Hb H inclusion bodies (HbH-IB)⁷⁻¹¹ ร่วมกับการพบว่า มี Hb typing เป็น A_2A และ HbA_2 มีระดับปกติ (<3.5%) ดังนั้นถ้าพบว่าผู้ใดให้ผลการตรวจในลักษณะดังกล่าวจะเข้าข่ายการเป็น α -thalassemia heterozygote หรือ α -thalassemia trait การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบผลการตรวจทางโลหิตวิทยาและผลการตรวจระดับโมเลกุล (Gap-PCR) ที่ใช้ในการวินิจฉัย α -thalassemia 1 heterozygote ชนิด SEA type ทั้งนี้เพื่อประเมิน

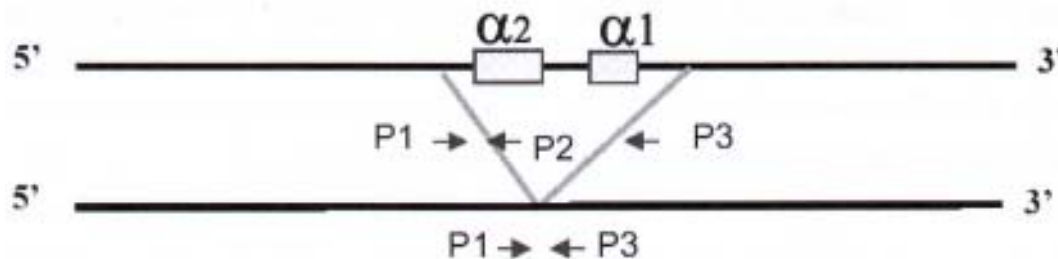
ประสิทธิภาพของวิธีการประจำวันทางโลหิตวิทยาในการตรวจวินิจฉัยสภาวะดังกล่าว

วัสดุและวิธีการ

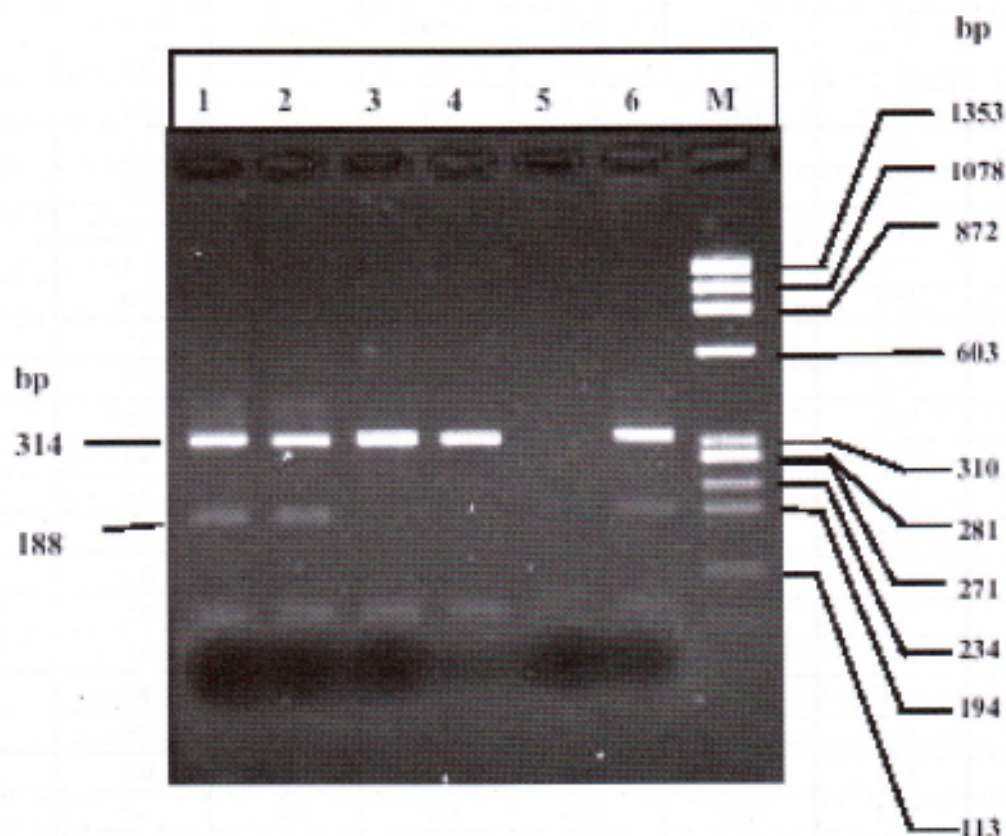
ทำการศึกษาในตัวอย่างเลือด (EDTA blood) จำนวน 29 ราย ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เจาะเก็บจากนักเรียนโรงเรียนกีฬา จังหวัดลำปาง ตัวอย่างทั้งหมดไม่มีการระบุชื่อเจ้าของรวมทั้งไม่ระบุข้อมูลอย่างอื่นที่สามารถนำไปสู่การระบุตัวตนของเจ้าของตัวอย่างตรวจได้ ตรวจนับเม็ดเลือดทั้งหมดด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ (Coulter counter™ : Model GEN S) เพื่อให้ได้ค่า Hb (g/dL), MCV (fL), MCH (pg) และ RDW (%) ตรวจหา HbH inclusion bodies หลังจากอุ่นตัวอย่างเลือดใน 1% Brilliant Cresyl Blue (BCB) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ 37 °C^{9,11} ตรวจชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน โดยวิธี cation exchange LPLC (Hemoglobin Gold; Drew™) และตรวจ α -thalassemia 1 (SEA type) โดยวิธี Gap-PCR¹² ซึ่งใช้ primers 3 เส้น และสามารถตรวจได้ทั้งกรณีปกติและกรณีมีการขาดหายไปของ α -globin gene cluster (SEA type) ที่กำจัด $\alpha 1/\alpha 2$ -globin genes ออกไป (รูปที่ 1) วิธีการโดยย่อมีดังนี้ ปฏิกริยาเกิดในส่วนผสมที่มีปริมาตร 29 μ L ประกอบด้วย primers 3 เส้น (forward primer คือ P1 (5'-GCG ATC TGG GCT CTG TGT TCT-3'), reverse primers คือ P2 (5'-GTT CCC TGA GCC CCG ACA CG-3') และ P3 (5'-GCC TTG AAC TCC TGG ACT TAA-3') ที่ความเข้มข้นของ forward primer เท่ากับ 0.7 μ M และของ reverse primers P2 และ P3 ชนิดละ 0.3 μ M, 86 μ M dNTPs, 8.6 μ M Tris, 43 mM KCl, 1.3 mM $MgCl_2$ และ 6.2 % DMSO โดยใช้ 0.04 units ของ Taq DNA polymerase (Fermentas) และใช้เครื่อง MJ-PTC200 Thermal cycler ในการทำปฏิกิริยา PCR ทั้งหมด 42 รอบ ประกอบด้วย denaturation step ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 5 นาที ในรอบแรก และ 1 นาที ใน 41 รอบที่เหลือ, annealing step ที่ 58 °C เป็นเวลา 1 นาที และ extension step ที่ 72 °C เป็นเวลา 1 นาทีและ 7 นาทีในรอบสุดท้าย จากนั้นตรวจสอบ PCR products โดยวิธี agarose gel electrophoresis และบันทึกภาพเก็บไว้ด้วยเครื่อง Gel Documentation

Systems (BIO-RAD) อ่านและแปลผล โดยในคนปกติ
จะพบ product ขนาด 314 bp และถ้าพบ SEA deletion

จะพบ product ขนาด 188 bp ผลการตรวจจึงแสดง
ในรูปที่ 2



รูปที่ 1 แสดงการแห้วหายไของ α -globin gene cluster ที่เป็นสาเหตุของ α -thalassemia 1 และแสดงตำแหน่งการจับของ primers P1, P2, P3 ที่ใช้สำหรับการตรวจหา α -thalassemia 1 (SEA type) ในกรณีไม่เกิดการแห้วจะเกิดผลผลิตของ primers P1 + P2 ขนาด 314 bp ส่วนถ้าเกิดการแห้วแบบ SEA type จะเกิดผลผลิตจาก primers P1 + P3 ขนาด 188 bp



รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างการตรวจหา α -thalassemia 1 (SEA type) โดยวิธี Gap-PCR ตัวอย่างในเลนที่ 1, 2, 6 เป็น heterozygote สำหรับ α -thalassemia 1 (SEA type) ซึ่งพบ PCR products ขนาด 314, 188 bp และ ตัวอย่างในเลนที่ 3, 4 เป็น negative สำหรับ α -thalassemia 1 (SEA type) ซึ่งพบ PCR products เพียงขนาด 314 bp เท่านั้น M เป็น Phi-X *Hae*III fragment ซึ่งเป็น size standard marker

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ พบว่าตัวอย่างเลือดทั้งหมด 29 รายไม่มีภาวะโลหิตจาง โดยมีระดับฮีโมโกลบิน $11.0 - 14.6$ g/dL (12.8 ± 0.9 g/dL) ระดับฮีโมโกลบินเอสสอง (HbA₂) อยู่ในช่วงปกติ ($1.9 - 3.3$ %; 2.6 ± 0.3 %) MCV มีค่าต่ำกว่า 80 fL ซึ่งเป็นจุดตัดของการวินิจฉัยการเป็นพาหะธาลัสซีเมีย พบ HbH-IB ในตัวอย่าง 4 ราย

โดยเป็นการพบแบบ rare ดังนั้นอาศัยข้อมูลทั้งหมดแล้ว ตัวอย่างเลือดทุกรายถูกสงสัยว่าเป็นพาหะ α -thalassemia แต่หลังจากทำการตรวจระดับโมเลกุลโดยเทคนิค Gap-PCR แล้วพบว่า 5 ตัวอย่างให้ผลบวกต่อ PCR สำหรับ α -thalassemia 1 (SEA type) ส่วนตัวอย่างเลือดที่เหลือ 24 รายให้ผลลบต่อการตรวจ Gap-PCR ดังกล่าว ดังผลที่แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจทางโลหิตวิทยา, HbH-IB, ระดับ HbA₂ และผล Gap-PCR เพื่อตรวจหา α -thalassemia 1 (SEA type) ในตัวอย่างทั้ง 29 ตัวอย่าง

No	Hb (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)	RDW (%)	HbH-IB*	HbA ₂ (%)	PCR-SEA
1	12.7	61.0	20.2	15.9	neg	2.9	pos
2	12.1	62.0	20.6	16.6	neg	3.1	pos
3	12.2	62.0	20.6	15.9	neg	2.7	pos
4	12.3	62.0	20.1	14.4	rare	2.2	neg
5	11.3	65.0	21.1	14.0	neg	2.4	pos
6	12.6	65.0	21.2	12.9	rare	2.8	pos
7	12.5	65.0	22.1	13.7	neg	1.9	neg
8	13.4	67.0	22.5	13.7	neg	2.2	neg
9	12.8	67.0	22.1	15.8	rare	2.2	neg
10	12.2	67.0	22.1	16.3	neg	2.4	neg
11	13.1	72.0	24.7	13.4	rare	3.0	neg
12	11.2	73.0	24.7	14.9	neg	3.1	neg
13	12.9	73.0	24.8	13.7	neg	2.3	neg
14	13.4	74.0	25.4	13.5	neg	3.0	neg
15	12.4	74.0	25.7	13.9	neg	3.3	neg
16	12.2	74.0	25.5	13.3	neg	2.5	neg
17	13.0	75.0	25.4	13.7	neg	2.7	neg
18	13.6	75.0	25.4	13.9	neg	3.0	neg
19	11.1	75.0	25.6	14.7	neg	2.3	neg
20	13.6	77.0	26.6	13.9	neg	2.7	neg
21	13.8	77.0	26.9	13.2	neg	3.1	neg
22	14.4	77.0	26.0	13.5	neg	2.9	neg
23	12.4	78.0	26.9	13.4	neg	3.1	neg
24	14.4	78.0	26.9	13.2	neg	2.5	neg
25	13.5	78.0	27.0	12.9	neg	2.7	neg
26	13.2	78.0	26.3	12.8	neg	2.9	neg
27	12.9	78.0	27.3	12.2	rare	2.9	neg
28	14.6	79.0	27.1	12.6	neg	2.2	neg
29	13.1	79.0	27.9	13.1	neg	2.8	neg

*HbH-IB = HbH inclusion bodies

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นกลยุทธ์หนึ่งของการควบคุมและป้องกันความผิดปกติดังกล่าว^{3,11} โดยเฉพาะในกลุ่มโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง เช่น homozygous β^0 -thalassemia, compound heterozygous β^0 -and β^+ -thalassemia, compound heterozygous HbE-and β^0 -thalassemia, homozygous α -thalassemia 1 (Hb Bart's hydrops fetalis) เทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่นิยมใช้ในการตรวจคัดกรองภาวะเหล่านี้คือ red cell indices (MCV, MCH, RDW), One-tube Osmotic Fragility Test (OFT), HbH-IB test และ DCIP test ซึ่งถ้าผลการคัดกรองให้ผลบวกทั้งหมด ต้องทำการตรวจชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb identification) เพื่อยืนยัน¹³

การตรวจคัดกรองผู้ที่เป็พาหะของ α -thalassemia 1 ซึ่งเป็นธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง พิจารณาจากผลการตรวจ red blood cell indices โดยเฉพาะ MCV ร่วมกับผลการตรวจ OFT และผลการตรวจ HbH-IB test โดยผู้ที่มีค่า MCV < 80 fL และ/หรือ ให้ผลบวกกับ OFT และพบ HbH-IB ปริมาณ 1 : 5,000 – 1 : 10,000 แสดงว่าอยู่ในข่ายการเป็นพาหะธาลัสซีเมีย α -thalassemia 1 ซึ่งหลังจากการตรวจยืนยันด้วยการทำ Hb identification เพื่อวิเคราะห์ระดับ HbA₂ แล้วพบว่า HbA₂ < 3.5% แสดงว่าผู้รับการตรวจเป็นพาหะ α -thalassemia 1 แน่แน่นอน ส่วนผู้ที่ผล MCV ปกติ OFT ให้ผลลบ ตรวจไม่พบ HbH-IB และ HbA₂ < 3.5% แสดงว่าอาจจะเป็นคนปกติหรือพาหะ α -thalassemia 2 ซึ่งเป็นชนิดไม่รุนแรง^{2,10,11,13,14}

α -thalassemia 1 เกิดจากการขาดหายไป (deletion) ของ α -globin cluster บนแขนข้างสั้นของ chromosome 16 ซึ่งกำจัด $\alpha 1$ - และ $\alpha 2$ -globin genes ออกไปทั้ง 2 gene^{2,4,15,16} จากการสำรวจพบว่า ขนาดของการขาดหายไปดังกล่าวแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเชื้อชาติต่างกัน และจากการสำรวจที่ผ่านมาในประเทศไทยพบการขาดหายไป เรียกชื่อว่า Southeast Asian (SEA type) ที่มีกำจัดเนื้อ α -globin gene cluster ออกไป ประมาณ 20 kb ทั้ง $\alpha 1$ - และ $\alpha 2$ -globin genes มากที่สุด^{4, 17-19}

ผลตรวจธาลัสซีเมียในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลศูนย์ลำปางโดยใช้วิธีการที่กล่าวมาแล้วพบว่ามี 29 ตัวอย่างที่ผลการวิเคราะห์สงสัยว่าเป็นพาหะ α -thalassemia โดยพิจารณาจากค่า MCV ซึ่งต่ำกว่า 80 fL และผล Hb identification ซึ่งพบว่าระดับ HbA₂ ต่ำกว่า 3.5% ทุกราย อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยยังไม่สามารถชี้ชัดได้แน่นอนเนื่องจากการตรวจ HbH-IB ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การเป็นพาหะ α -thalassemia ให้ผลไม่แน่นอน เช่นรายที่ 1, 2, 3, 5 และ 6 มีผลเบื้องต้นเข้าข่ายการเป็น α -thalassemia 1 และผลการตรวจ Gap-PCR ระบุชัดเจนว่าเป็น α -thalassemia 1 (SEA type) เช่นกัน แต่มีเพียง 1 รายที่ตรวจพบ HbH-IB ซึ่งแสดงว่าการวินิจฉัย α -thalassemia 1 โดยเฉพาะ SEA type ต้องอาศัยผลการตรวจระดับโมเลกุล เช่น Gap-PCR เท่านั้น การตรวจ HbH-IB ที่ให้ผลไม่แน่นอนนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายอย่าง เช่น คุณภาพของน้ำยาที่ตรวจ เวลาในการอุ่นเลือดกับน้ำยาตรวจ อุณหภูมิของ waterbath และความถูกต้องของการตรวจนับ HbH-IB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งต้องอาศัยความชำนาญและความอดทนในการตรวจเพราะปริมาณ HbH-IB มีน้อยมากในผู้ที่เป็พาหะ α -thalassemia ผลจากการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นชัดเจนว่าการตรวจคัดกรองพาหะ α -thalassemia ในกลุ่มตัวอย่างจำนวนมากไม่สามารถตรวจได้อย่างถูกต้อง 100% โดยอาศัยเทคนิคการตรวจที่ใช้ในงานตรวจประจำวัน แต่ต้องอาศัยการตรวจระดับโมเลกุลเข้าช่วยเสมอ

อย่างไรก็ตามเนื่องจากกลไกระดับโมเลกุลของ α -thalassemia มีหลายชนิด เช่น SEA-type, THAI type, MED type, etc สำหรับ α -thalassemia 1 และ 3.7-kb-deletion, 4.2-kb deletion สำหรับ α -thalassemia 2 ดังนั้นการตรวจระดับโมเลกุลต้องมีข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประวัติของครอบครัวและความผิดปกติระดับโมเลกุลของ α -thalassemia ด้วยเพื่อความครอบคลุมของผลการตรวจหนึ่ง แม้ข้อมูลทางประวัติของ α -thalassemia 1 ของประเทศไทยระบุว่าชนิด SEA type มีมากที่สุด¹⁷⁻¹⁹ แต่จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ชัดว่าอย่างน้อยในกลุ่มตัวอย่างที่ทำการตรวจทั้ง 29 รายน่าจะมึกลไกระดับโมเลกุลอย่างอื่นที่ทำให้เกิด α -thalassemia โดยคาดว่าในกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลลบกับ SEA type น่าจะเป็น α -thal-

semia ชนิดอื่นดังที่ได้กล่าวมา ซึ่งต้องทำการศึกษาในรายละเอียดต่อไป

โดยสรุป การศึกษาครั้งนี้เสนอข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับประสิทธิภาพการตรวจคัดกรอง α -thalassemia ในระดับห้องปฏิบัติการประจำวัน (routine laboratory) ซึ่งพบว่าการพิจารณา MCV, HbH-IB และ ระดับ HbA₂ ยังไม่มีประสิทธิภาพดีพอในการวินิจฉัยพาหะ α -thalassemia โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจ HbH-IB ต้องได้รับการควบคุมคุณภาพอย่างเคร่งครัดในทุกประเด็น นอกจากนี้การศึกษานี้ยังชี้ให้เห็นว่ากลไกระดับโมเลกุลของ α -thalassemia ในคนไทยมีหลากหลายและการตรวจ Gap-PCR สำหรับ SEA deletion ของ α -thalassemia 1 ยังไม่ครอบคลุมพอในการวินิจฉัย ดังนั้นควรต้องมีการศึกษาอุบัติการณ์ของ α -thalassemia ชนิดอื่นในกลุ่มประชากรไทย โดยเฉพาะในเขตภาคเหนืออีกครั้งเพื่อให้เห็นภาพชัดเจนขึ้นเกี่ยวกับอุบัติการณ์ของ α -thalassemia ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะ α -thalassemia 1 ซึ่งเป็นชนิดที่รุนแรง

เอกสารอ้างอิง

- Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia: molecular biology and clinical medicine. Hemoglobin. 1997; 21(4): 299-319.
- Weatherall DJ, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes (Fourth edition). Oxford: Blackwell Scientific; 2001.
- จินตนา ศิรินาวัน, วันชัย วะชะนาวัน, วรวรรณ ตันไพจิตร, ชนินทร์ ลิ้มวงศ์. ธาลัสซีเมียสำหรับเวชปฏิบัติ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์หมอชาวบ้าน; 2544.
- Winichagoon P, Thonglairoam V, Fucharoen S, Tanphaichito VS, Wasi P. α -thalassemia in Thailand. Hemoglobin. 1988; 12(5-6): 485-98.
- Fucharoen S, Winichagoon P, Thonglairoam V. β -thalassemia associated with α -thalassemia in Thailand. Hemoglobin. 1988; 12(5-6): 581-92.
- Fucharoen S, Winichagoon P, Sritanaratkul N, Chowthaworn J, Pootrakul P. α - and β -thalassemia in Thailand. Ann N Y Acad Sci. 1998; 850: 412-4.
- Jones JA, Broszeit HK, LeCrone CN, Detter JC. An improved method for detection of red cell hemoglobin H inclusions. Am J Med Technol. 1981; 47(2): 94-6.
- Maungsapaya W, Winichagoon P, Fucharoen S, Pootrakul SN, Wasi P. Improved technic for detecting intraerythrocytic inclusion bodies in alpha thalassemia trait. J Med Assoc Thai. 1985; 68(1): 43-5.
- Chan AY, So CK, Chan LC. Comparison of the HbH inclusion test and a PCR test in routine screening for alpha thalassaemia in Hong Kong. J Clin Pathol. 1996; 49(5): 411-3.
- Winichagoon P, Thitivichianlert A, Lebnak T, Piankijagum A, Fucharoen S. Screening for the carriers of thalassemias and abnormal hemoglobins at the community level. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2002; 33 Suppl 2: 145-50.
- สำนักส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการปฏิบัติงานโครงการป้องกันและควบคุมโรคเลือดจางธาลัสซีเมีย : พิมพ์ครั้งที่ 3 (ฉบับแก้ไข). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2544.
- Sanguansermisri T, Phumyu N, Chomchven S, Steger HF. Screening for α -thalassemia-1 heterozygotes in expecting couples by combination of a simple erythrocyte osmotic fragility test and a PCR-based method. Community Genetics. 1999;2:26-39.
- ต่อพงษ์ สงวนเสริมศรี. วิธีตรวจรักษาและการป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงในเด็ก. เชียงใหม่: วัฒนชัย; 2537.
- Wiwatitkit V, Suwansaksri J, Paritpokee 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(9-10): 525-8.
15. FLint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. The population genetics of the haemoglobinopathies. In: Rodgers GP, editor. Bailliere's Clinical Haematology, International practice and research: Sick cell disease and thalassaemia. London: Bailliere Tindall; 1998. pp. 1-51.
 16. Higgs DR, Weatherall DJ. Bailliere's Clinical Haematology (International Practice and Research). Bailliere Tindall London; 1993.
 17. Hundrieser J, Laig M, Yongvanit P, Sriboonlue P, Sanguansermisri T, Kuhnau W, *et al.* Study of α -thalassemia in northeastern Thailand at the DNA level. Hum Hered. 1990; 40(2): 85-8.
 18. Kitsirisakul B, Steger HF, Sanguansermisri T. Frequency of α -thalassemia-1 of the Southeast Asian-type among pregnant women in northern Thailand determined by PCR technique. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1996; 27(2): 362-3.
 19. Lemmens-Zygulska M, Eigel A, Helbig B, Sanguansermisri T, Horst J, FLatz G. Prevalence of α -thalassemias in northern Thailand. Hum Genet. 1996; 98(3): 345-7.