

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความสามารถของค่าทางโลหิตวิทยา ในการทำนายพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย ชนิดร้ายแรง (Alpha Thalassemia 1): การศึกษาเบื้องต้น

ธนศักดิ์ ชาติ¹, ละอองดาว สุวรรณขมภู², สมศักดิ์ จันทน์น้อย¹, ต่อพงษ์ สงวนเสริมศรี³

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการค้นหาค่าทางโลหิตวิทยา ที่จะสามารถนำมาใช้ในการทำนายโรค แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 โดยศึกษาในกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็นพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1, กลุ่มที่ไม่ใช่พาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และ กลุ่มที่ไม่เป็นธาลัสซีเมีย โดยการเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยา ต่างๆ ดังนี้ คือ Hb, Hct, RBC, MCV, MCH, MCHC, RDW, F cell และ Reticulocyte count จากการเปรียบเทียบระดับ Hb, Hct และ MCHC ระหว่างกลุ่มที่เป็นพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และกลุ่มที่ไม่ใช่พาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 พบว่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในขณะที่ระหว่างกลุ่มที่เป็นพาหะของ แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 กับกลุ่มที่ไม่เป็นธาลัสซีเมีย และกลุ่มที่ไม่ใช่พาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 กับ กลุ่มที่ไม่เป็นธาลัสซีเมียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนการเปรียบเทียบค่า RBC, RDW, F cell, Reticulocyte count ในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าไม่แตกต่างกัน การเปรียบเทียบระดับ MCV, MCH ทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และยังมีความสัมพันธ์กับชนิด และความรุนแรงของแอลฟาธาลัสซีเมีย ระดับ MCV, MCH มีความไว 100% ส่วน Inclusion bodies (IB) test มีความไว 88.8% ในขณะที่ความจำเพาะของระดับ MCV, MCH, IB test เท่ากับ 71%, 60.8%, 91.6% ตามลำดับ แสดงว่าระดับ MCV, MCH ใช้ในการตรวจคัดกรองเท่านั้น ไม่สามารถนำมาใช้ในการทดสอบเพื่อการวินิจฉัยได้

คำรหัส : ธาลัสซีเมีย, MCV, MCH

¹ ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก, คณะเทคนิคการแพทย์

² นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์

³ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : The Ability of Hematologic Parameters in Prediction of Heterozygote of Severe Type of α -Thalassemia (α -Thalassemia 1): Preliminary Study

Thanusak Tatu¹, La-ongdao Suwanchompoo², Somsak Janno³, Torpong Sanguanserm³

To evaluate the potential application of hematologic parameters as diagnostic tools of α -thalassemia 1. The following hematologic parameters : Hb, Hct, RBC, MCV, MCH, MCHC, RDW, F cell and reticulocyte count were compared among three groups of subjects including α -thalassemia 1 heterozygote, non- α -thalassemia 1 heterozygote and non-thalassemia. No statistically significant differences were found in the comparison of Hb, Hct and MCHC between α -thalassemia 1 heterozygote group and non- α -thalassemia 1 heterozygote group ($p > 0.05$) whereas statistically significant differences were encountered in comparisons of these three hematologic parameters between α -thalassemia 1 heterozygote group and non-thalassemia group and between the groups of non- α -thalassemia 1 and non-thalassemia ($p < 0.05$). The comparison of the following hematologic parameters; RBC, RDW, F cell and reticulocyte count was also held among these three groups of subject with the resulting non-significant differences. However, the comparisons of MCV and MCH level showed statistically significant difference among these three groups of subject and correlated well with genotype of α -thalassemia. The sensitivity of MCV, MCH was 100% and that of Inclusion bodies (IB) test was 88.8%. The specificity of MCV, MCH, IB test were 71%, 60.8%, 91.6%, respectively. It can be concluded that MCV, MCH levels can be use only as screening test but not for diagnostic tools.

Key words : Thalassemia, MCV, MCH

¹ Department of Clinical Microscopy,

² 4th Year Medical Technology Student, Faculty of Associated Medical Sciences,

³ Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

α -thalassemia เป็นกลุ่มความผิดปกติของการสร้างสาย α -globin ในโมเลกุลของฮีโมโกลบิน โดยที่ถ้าการสังเคราะห์ลดลง เรียกว่า α -thalassemia 2 และถ้าไม่มีการสังเคราะห์เลยเรียกว่า α -thalassemia 1 ความรุนแรงของ α -thalassemia 1 จะมากกว่า α -thalassemia 2 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

ยิ่งถ้าเป็น homozygote จะทำให้เด็กเกิดกลุ่มอาการ Hb Bart's hydrops fetalis ผู้ป่วยมักเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์ มารดาอาจเกิดอาการครรภ์เป็นพิษ และเสียชีวิตได้ ดังนั้นการวินิจฉัยเพื่อตรวจหาภาวะ α -thalassemia 1 heterozygote จึงจำเป็นอย่างยิ่ง การทดสอบที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือการตรวจหา Hb

H inclusion bodies^{1,4} ซึ่งต้องอาศัยบุคลากรที่มีความชำนาญ และมีความอดทน เพราะต้องใช้เวลาในการตรวจค่อนข้างนานต่อผู้ป่วย 1 ราย และผลที่ได้มักไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น สารเคมี น้ำยา เป็นต้น

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อค้นหาค่าทางโลหิตวิทยาที่สามารถนำมาใช้ในการทำนายโรค α -thalassemia 1 heterozygote แทนการตรวจหา Hb H inclusion bodies (IB) พร้อมกับตรวจสอบหาความแตกต่างของค่าเหล่านี้ซึ่งถือว่าเป็น phenotypic expression อย่างหนึ่งของความผิดปกติระดับยีน โดยทำการเปรียบเทียบค่าที่ได้เหล่านี้ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่เป็น α -thalassemia 1 heterozygote กับกลุ่มอื่นๆ

วัตถุประสงค์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

หญิงมีครรภ์ที่มีอายุครรภ์ประมาณ 20 สัปดาห์ ที่ส่งเลือดเพื่อค้นหาภาวะโลหิตจางธาลัสซีเมีย ณ หน่วยมนุษยพันธุศาสตร์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 76 ราย

วิธีการ

นำเลือดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ปริมาตร 3.0 mL ตรวจความเปราะของเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี Erythrocyte osmotic fragility test (EOFT)¹ และถ้าพบว่ารายใดให้ผล EOFT เป็นบวก จะนำมาทำการหาความผิดปกติของ α -globin gene ชนิด Southeast Asia (SEA) Type ด้วยวิธีการขยายส่วนของยีน (Polymerase Chain Reaction, PCR)² จากนั้นนำเลือดจากผู้ป่วยทุกรายที่ผ่านการตรวจความเปราะของเม็ดเลือดแดงทั้งที่ให้ผลบวกและให้ผลลบ มาตรวจนับค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ Hb, Hct, RBC, MCV, MCH, MCHC และ RDW

โดยใช้เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ (Hemacell, Hycel Group Lisabio, France)³ ส่วนการค้นหา Hb H inclusion bodies ใช้วิธีการย้อมสีเม็ดเลือดแดงด้วย 1% brilliant cresyl blue⁴

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติแบบนอนพารามेटริก (non-parametric statistics)

1. เปรียบเทียบความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน โดยใช้ The Mann-Whitney U Test

2. เปรียบเทียบความสัมพันธ์ของกลุ่มตัวอย่าง มากกว่า 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน โดยใช้ Chi-Square Test

3. การคำนวณหาประสิทธิภาพของ MCV, MCH และ inclusion bodies ใช้สูตร

$$\text{sensitivity} = \frac{\text{true positive}}{\text{true positive} + \text{false negative}}$$

$$\text{specificity} = \frac{\text{true negative}}{\text{true negative} + \text{false positive}}$$

โดยใช้ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย PCR เป็นมาตรฐาน

ผลการทดลอง

จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 76 ราย แบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่เป็น พาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 (α -thalassemia 1 heterozygote) จำนวน 7 ราย, กลุ่มที่ไม่ใช่พาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 (non- α -thalassemia 1 heterozygote) จำนวน 12 ราย และกลุ่มที่ไม่เป็นธาลัสซีเมีย (non-thalassemia) จำนวน 57 ราย ความถี่ของกลุ่มที่เป็นพาหะของ α -thalassemia 1 heterozygote เท่ากับ 9% ค่าทางโลหิตวิทยาของกลุ่มตัวอย่างกลุ่มต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าทางโลหิตวิทยาของกลุ่มตัวอย่างที่เป็น α -thalassemia 1 heterozygote (α -thal 1), non- α -thalassemia 1 heterozygote (non- α -thal 1) และ non-thalassemia (non-thal)

Hematologic parameters	α -thal 1	non- α -thal 1	non-thal
Hb	8.9 $\pm$ 0.8	9.0 $\pm$ 1.0	10.6 $\pm$ 2.0
Hct	28.6 $\pm$ 2.9	28.7 $\pm$ 3.2	33.0 $\pm$ 5.8
RBC	4.39 $\pm$ 0.68	4.01 $\pm$ 0.47	3.92 $\pm$ 0.67
MCV	65.7 $\pm$ 3.8	71.9 $\pm$ 6.6	84.6 $\pm$ 5.9
MCH	20.4 $\pm$ 1.8	22.6 $\pm$ 2.6	27.3 $\pm$ 2.1
MCHC	31.0 $\pm$ 1.5	31.3 $\pm$ 1.0	32.3 $\pm$ 1.4
RDW	15.3 $\pm$ 1.6	14.8 $\pm$ 1.6	14.3 $\pm$ 1.3
n	7	12	57

1. การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าทางโลหิตวิทยา

จากการเปรียบเทียบพบว่าระดับ Hb ของกลุ่ม α -thalassemia 1 heterozygote และ non- α -thalassemia 1 heterozygote ไม่แตกต่างกัน ($p=0.865$) ในขณะที่ระหว่างกลุ่ม α -thalassemia 1 heterozygote กับกลุ่ม non-thalassemia และ non- α -thalassemia 1 heterozygote กับ non-thalassemia แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006, 0.003$ ตามลำดับ) ส่วนการเปรียบเทียบระดับ Hct และ MCHC ให้ผลในทำนองเดียวกัน

การเปรียบเทียบ RBC count ระหว่าง α -thalassemia 1 heterozygote กับ non- α -thalassemia 1 heterozygote, α -thalassemia 1 heterozygote กับ non-thalassemia และ non-

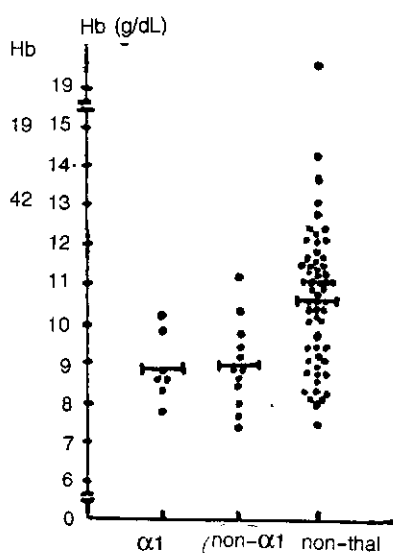
α -thalassemia 1 heterozygote กับ non-thalassemia พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกัน ($p = 0.261, 0.085, 0.438$ ตามลำดับ) และผลดังกล่าวพบเช่นเดียวกับการเปรียบเทียบ RDW, F cell และ Reticulocyte count ในกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่มดังกล่าว

ส่วนการเปรียบเทียบค่า MCV และ MCH ระหว่าง α -thalassemia 1 heterozygote กับ non- α -thalassemia 1 heterozygote, α -thalassemia 1 heterozygote กับ non- α -thalassemia และ non- α -thalassemia 1 heterozygote กับ non-thalassemia พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (MCV: $p = 0.028, 4.2 \times 10^{-7}, 1.1 \times 10^{-6}$ ตามลำดับและ MCH: $p = 0.044, 3 \times 10^{-7}, 2.7 \times 10^{-6}$ ตามลำดับ) (ตารางที่ 2 และรูปที่ 1-3)

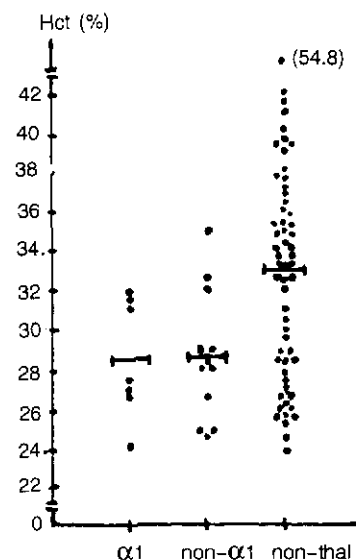
ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าทางโลหิตวิทยาของ α -thalassemia 1 heterozygote ($\alpha 1$), non- α -thalassemia 1 heterozygote (non- $\alpha 1$) และ non-thalassemia (non-thal)

Hematologic parameters	$\alpha 1$ /non- $\alpha 1$		$\alpha 1$ /non-thal		non- $\alpha 1$ /non-thal	
	p	ผล	p	ผล	p	ผล
Hb	0.865	NS*	0.006	S	0.003	S
Hct	0.832	NS	0.031	S	0.010	S
RBC	0.261	NS	0.085	NS	0.438	NS
MCV	0.028	S**	4.2×10^{-7}	S	1.1×10^{-6}	S
MCH	0.044	S	3.0×10^{-7}	S	2.7×10^{-6}	S
MCHC	0.702	NS	0.012	S	0.006	S
RDW	0.612	NS	0.077	NS	0.238	NS

* Non-significance; ** significance

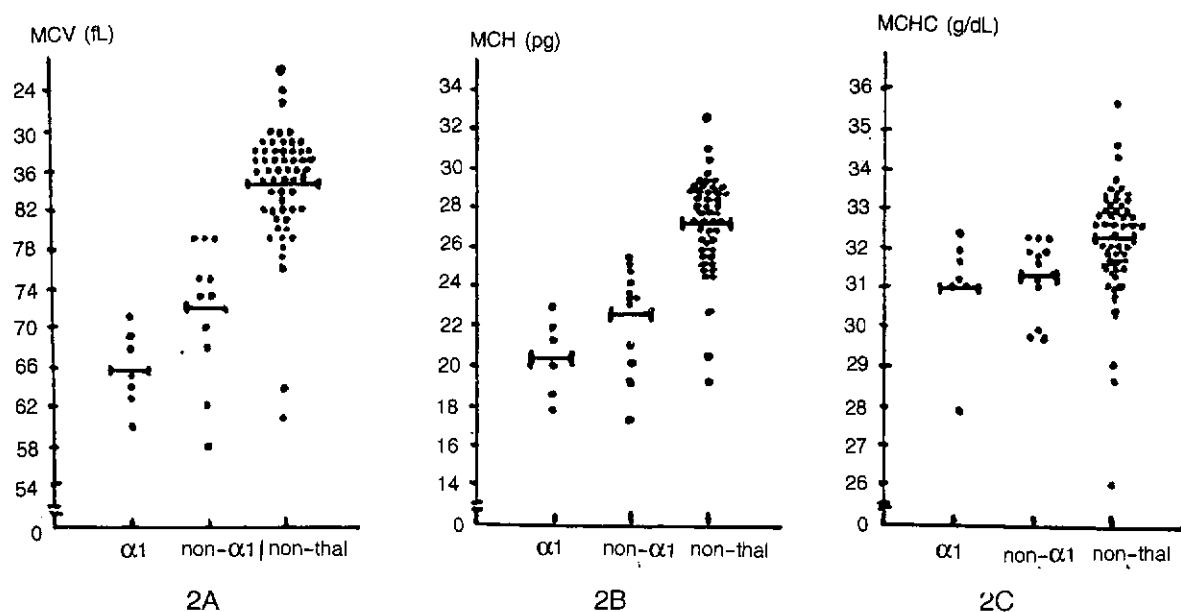


1A

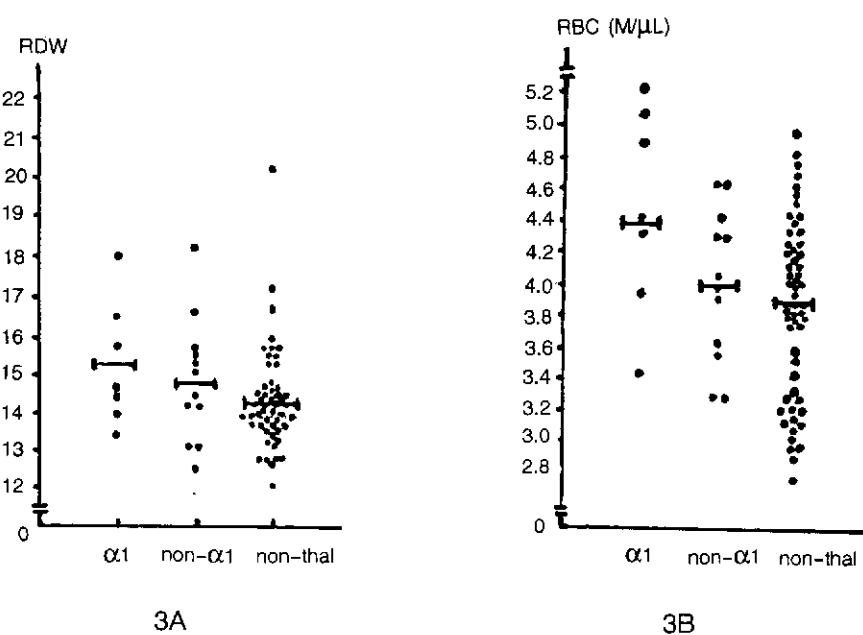


1B

รูปที่ 1 การเปรียบเทียบระดับ Hb, Hct ในกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่ม: α -thalassemia 1 heterozygote ($\alpha 1$), non- α -thalassemia 1 heterozygote (non- $\alpha 1$) และ non-thalassemia (non-thal) รูปที่ 1A การเปรียบเทียบระดับ Hb มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 8.9, 9.0, 10.6 g/dL รูปที่ 1B การเปรียบเทียบระดับ Hct มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 28.6, 28.7, 33.0%



รูปที่ 2 การเปรียบเทียบระดับ MCV, MCH, MCHC ในกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่ม: α -thalassemia 1 heterozygote($\alpha 1$), non- α thalassemia 1 heterozygote (non- $\alpha 1$) และ non-thalassemia (non-thal) **รูปที่ 2A** การเปรียบเทียบระดับ MCV มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 65.7, 71.9, 84.6 fL **รูปที่ 2B** การเปรียบเทียบระดับ MCH มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 20.4, 22.6, 27.3 pg. **รูปที่ 2C** การเปรียบเทียบระดับ MCHC มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 31.0, 31.3, 32.3 g/dL



รูปที่ 3 การเปรียบเทียบระดับ RDW, RBC count ในกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่ม: α -thalassemia 1 heterozygote ($\alpha 1$), non- α -thalassemia 1 heterozygote (non- $\alpha 1$) และ non-thalassemia (non-thal) **รูปที่ 3A** การเปรียบเทียบระดับ RDW มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 15.3, 14.8, 14.3 **รูปที่ 3B** การเปรียบเทียบระดับ RBC count มีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 4.39, 4.01, 3.92 M/ μ L

2. การหาความสัมพันธ์ของค่าทางโลหิตวิทยากับชนิดและความรุนแรงของแอลฟาธาลัสซีเมีย

การหาความสัมพันธ์ระหว่าง MCV และ MCH กับชนิดและความรุนแรงของ α -thalassemia ที่ศึกษาทั้ง 3 กลุ่มพบว่า ทั้ง MCV และ MCH มีความสัมพันธ์กับชนิดและความรุนแรงของ α -thalassemia อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 10^{-5}$, 2.8×10^{-4} ตามลำดับ)

3. การคำนวณหาประสิทธิภาพของ MCV, MCH และ IB Test

การทดสอบ sensitivity และ specificity ของ MCV, MCH และ IB test พบว่า MCV และ MCH มี sensitivity 100% ส่วน IB test มี sensitivity 88.8% ในขณะที่ specificity ของ MCV, MCH และ IB test เท่ากับ 71%, 60.8% และ 91.6% ตามลำดับ

วิจารณ์

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ การทดลองในครั้งนี้จึงรวบรวมตัวอย่างเลือดที่ได้จากหญิงมีครรภ์ที่มีอายุครรภ์ประมาณ 20 สัปดาห์ และสงสัยว่าจะเป็นพาหะของโรคธาลัสซีเมีย จำนวน 76 ราย ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีภาวะโลหิตจางระดับปานกลางตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก⁵ แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากสภาวะดังกล่าวพบได้ในทั้งกลุ่มของตัวอย่าง ดังนั้นจึงไม่ควรจะมีผลกระทบต่ค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างเหล่านี้

การแบ่งกลุ่มผู้ป่วยอาศัยผลของ osmotic fragility (OF) test เป็นพื้นฐาน โดยกลุ่มที่ให้ผล OF positive คือ มี hemolysis ไม่เกิน 60% ที่เวลา 120 วินาที ถือว่าอยู่ในกลุ่มธาลัสซีเมีย (ทั้งพาหะและโรค) และกลุ่มที่ให้ผล OF negative คือเกิด hemolysis มากกว่า 60% ขึ้นไปที่เวลา 120 วินาที เป็นกลุ่มปกติ¹ จากนั้นนำกลุ่มที่ให้ผล OF positive

ไปหาความผิดปกติของโครงสร้างสายโกลบิน (mutation) ด้วยวิธี PCR ซึ่งสามารถแยกผู้ที่เป็น α -thalassemia 1 heterozygote ชนิด SEA type ออกมาได้

จากการเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม โดยเปรียบเทียบทีละคู่ของกลุ่มตัวอย่าง พบว่า RBC, RDW, F cell และ Reticulocyte count มีค่าไม่แตกต่างกัน แสดงว่าค่าทางโลหิตวิทยาทั้ง 3 ค่า ไม่ขึ้นกับชนิดของโรค ส่วนค่า Hb, Hct, MCHC พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง α -thalassemia 1 heterozygote กับ non-thalassemia และ non- α -thalassemia 1 heterozygote กับ non-thalassemia แสดงว่าค่าทางโลหิตวิทยาทั้ง 3 ค่านี้ สามารถใช้แบ่งแยกภาวะ thalassemia heterozygote ออกจากภาวะปกติได้ แต่ไม่สามารถใช้แบ่งกลุ่ม thalassemia heterozygote ได้อย่างไรก็ตาม MCV และ MCH มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 3 กลุ่ม ซึ่งแสดงว่า ค่าทางโลหิตวิทยาทั้ง 2 ค่านี้สามารถแบ่งกลุ่มย่อยของ thalassemia heterozygote ได้ โดยการทดลองในครั้งนี้ ถ้าอาศัย MCV และ MCH จะสามารถแบ่งกลุ่ม thalassemia heterozygote ออกได้เป็น α -thalassemia 1 heterozygote และ non- α -thalassemia 1 heterozygote เช่นเดียวกับผลที่ได้จากการทำ α -globin gene analysis และนอกจากนี้ยังพบว่า MCV และ MCH มีความสัมพันธ์กับชนิดของ genotype ด้วย แต่ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างที่นำมาทดสอบในครั้งนี้มีจำนวนน้อยจึงไม่สามารถหาความสัมพันธ์โดยใช้สถิติแบบธรรมดา (parametric statistics) จึงจำเป็นต้องใช้สถิติแบบนอนพาราเมตริก (non parametric statistics)⁶ ดังนั้นความสัมพันธ์ที่ได้จึงไม่สามารถบอกไว้ว่าเป็นบวกหรือลบ แต่จากการสังเกตพบว่าค่า MCV และ MCH จะน้อยลง ถ้าเป็น α -thalassemia genotype ชนิดที่รุนแรงเพิ่มขึ้น โดย

ที่ความสัมพันธ์ของ MCV พบว่าดีกว่า MCH

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของ MCV และ MCH โดยใช้ผลการวิเคราะห์ α -globin gene เป็นมาตรฐานในการทำนาย α -thalassemia 1 heterozygote เปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของ IB test พบว่าผลที่ได้มีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยอื่น ๆ^{7,8} กล่าวคือ พบว่า MCV และ MCH มี sensitivity ดีกว่า IB test แต่มีความจำเพาะต่ำกว่า IB test ซึ่งแสดงว่า MCV และ MCH สามารถใช้ในการตรวจคัดกรอง (screen) ได้เท่านั้น การทดสอบเพื่อการวินิจฉัย α -thalassemia 1 heterozygote ที่จำเพาะจำเป็นจะต้องทำการตรวจร่วมกับวิธีอื่น เช่น inclusion bodies (IB) test และ α -globin gene analysis โดยใช้วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

เอกสารอ้างอิง

1. ต่อพงษ์ สงวนเสริมศรี. วิธีการตรวจรักษา และป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงในเด็ก. เชียงใหม่: วัฒนชัย. 2539.
2. Kitsirisakul B, Stager HF, Sanguansermsri 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 Publ Hlth 1996; 27: 362-3.
3. HemaCell Plus: Operator's Reference Manual, Hycel Groupe Lisabio, Morangis, France, 1994.
4. Bauer JD. Hemoglobin. In: Gradwohl's Clinical Laboratory Method and Diagnosis. Frankel S, Reiterman S, Sonnenwirth AC (eds), 7th ed, St Louis: The CV Mosby Co, 1970: 396.
5. Evatt BL, Gibbs WN, Lewis SM, McArthur JR. Fundamental Diagnostic Hematology (Anemia), 2nd ed. US Dept of Health and Human Service and WHO 1992: 1.
6. นิภา ศรีไพโรจน์. สถิติธาลัสซีเมีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้ง-เฮาส์. 2533: 120.
7. Lin CK, Yang ML, Jiang ML, Chien CC, Lin HH, Peng HW. Comparison of two screening methods, modified Hb H preparation and the osmotic fragility test, for alpha thalassemia traits on the basis of gene mapping. J Clin Lab Anal 1991; 5: 392-5.
8. Skogerboe KJ, West SF, Smith C, et al. Screening for alpha thalassemia. Correlation of hemoglobin H inclusion bodies with DNA-determined genotype. Arch Pathol Lab Med 1992; 116: 1012-8.