09/0187/38

นิพนธ์ต้นฉบับ

วิธีตรวจกรองโรคและพาหะธาลัสซีเมียโดย Dichlorophenol Indophenol Precipitation (DCIP)

Dichlorophenol Indophenol Precipitation (DCIP) for Thalassemia and Thalassemia Carriers

*กัลยาณี ตันศฤงฆาร**
*ปิยลัมพร หะวานนท์**
*อรัญญา กิตติกัลยาวงศ์***
*ฉวีวรรณ อิ่มพันธ์***

Abstract : **Kalayanee Tunsaringkarn, Piyalamporn Havanond, Aranya Kittikalayawong and Chaweewan Impand. 1995. Dichlorophenol Indophenol Precipitation (DCIP) for Thalassemia and Thalassemia carriers. Thai J Hlth Resch 9 (2) : 89-95**

To study the correlation of DCIP for screening thalassemia using optical density (O.D). by spectrophotometer was conducted. The procedure between lift and unlift the DCIP tube at 60, 90, 120 min interval found that in homozygous HbE (EE) and heterozygous HbE (HbE) had significance ($P < 0.05$) higher O.D in unlift than lift the DCIP tube at 60 min. Only the heterozygous HbE at 90 and 120 min had significance ($P < 0.05$) higher O.D. in unlift than lift the DCIP tube.

DCIP screening method with naked eye at 60 min was better than using O.D. at one point. Moreover the reliability of DCIP test in this study which the sensitivity, specificity and accuracy were 69.1%, 98.3% and 81.0% respectively.

Key words : *Screening, thalassemia, homozygous Hb, heterozygous Hb; DCIP; Reliability*

* *สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330*
Institute of Health Research, Chulalongkorn University, Bangkok 10330.

** *ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330*
Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330.

01/0120/38

บทคัดย่อ : กัลยาณี ตันศฤงฆาร, ปิยลัมพร หะวานนท์, อรัญญา กิตติกัลยาวงศ์ และ ฉวีวรรณ อิ่มพันธ์. 2538. **วิธีตรวจกรองโรคและพาหะธาลัสซีเมีย โดย Dichlorophenol Indophenol Precipitation (DICP)** : 89-95

จากการศึกษาความสอดคล้องในการทำ DCIP เพื่อตรวจกรองธาลัสซีเมียแบบวัด optical density (O.D) โดยเครื่องมือ spectrophotometer แบบยกหลอดทดลอง และไม่ยกหลอดทดลองในช่วงเวลา 60, 90, 120 นาที พบว่าอาสาสมัครที่เป็น Homozygous HbE (EE) และ Heterozygous HbE (HbE) จะให้ค่า O.D ที่ไม่ยกหลอดทดลอง สูงกว่าที่ยกหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ที่ช่วงเวลา 60 นาที สำหรับที่ช่วงเวลา 90 และ 120 นาที อาสาสมัครที่เป็น Heterozygous HbE เท่านั้นที่ O.D. แบบไม่ยกหลอดสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($O < 0.05$) สำหรับการตรวจ DCIP ด้วยตาเปล่าที่ 60 นาที จะอ่านผลเลือดได้ดีกว่าการวัด O.D. เพียงจุดเดียว นอกจากนี้ความเชื่อถือของวิธีการตรวจกรอง DCIP ที่อ่านด้วยตาเปล่าพบว่ามีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง 69.1%, 98.3% และ 81.0% ตามลำดับ

คำสำคัญ : *การตรวจกรอง, ธาลัสซีเมีย, ฮีโมโกลบินที่เหมือนกัน 2 สายรวมตัวกัน, ฮีโมโกลบินที่ต่างกัน 2 สายรวมตัวกัน; DCIP; ความเชื่อถือ*

ธาลัสซีเมีย (Thalassemia) เป็นโรคซีดทางพันธุกรรม เกิดจากความผิดปกติในการสังเคราะห์สายโกลบินชนิดใดชนิดหนึ่งลดลงหรือสังเคราะห์ไม่ได้เลย ธาลัสซีเมียมีหลายชนิด เช่น α, β, γ และ δ -ธาลัสซีเมีย ซึ่งผู้เป็นโรคนี้จะต้องได้รับยีนธาลัสซีเมียอย่างน้อย 2 ยีน หรือยีนธาลัสซีเมียร่วมกับฮีโมโกลบินผิดปกติบางชนิด สำหรับพาหะธาลัสซีเมียจะมียีนผิดปกติเพียงยีนเดียว เนื่องจากธาลัสซีเมียมีมากมายหลายชนิด แต่ละชนิดทำให้ผู้ป่วยมีอาการซีด และพยาธิสภาพต่างกัน การรักษาจึงขึ้นกับชนิด และความรุนแรงของโรค โรคธาลัสซีเมียจะมีอุบัติการสูงมากในประเทศไทย โดยเฉลี่ยประมาณ 30-40% ของประชากรไทยที่มียีนผิดปกติชนิดใดชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดปัญหาทั้งทางสังคมที่จะต้องรับภาระในการดูแล และปัญหาทางเศรษฐกิจต้องใช้งบประมาณในการตรวจวินิจฉัยและรักษาสูงมากในแต่ละปี ดังนั้น การป้องกันและควบคุมโรคนี้ มีความสำคัญจะต้องอาศัยความร่วมมือจากทุกฝ่าย การตรวจกรองก็มีความสำคัญในการวินิจฉัยของแพทย์ ประหยัดค่าใช้จ่ายทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งในปัจจุบันก็มีการตรวจกรองหลายวิธี DCIP ก็เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ง่าย สะดวก ประหยัด และเสียเวลาน้อย ซึ่งการตรวจกรองวิธีนี้จะต้องอาศัยความเชื่อถือได้ เพื่อให้เกิดความผิดพลาดน้อยที่สุด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษารายละเอียดเปรียบเทียบ การทำ DCIP ที่ใช้วัด O.D ด้วยเครื่อง spectrophotometer กับการอ่านผลด้วยตาเปล่า โดยดูลักษณะตะกอนที่เกิดขึ้น

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาความสอดคล้องในการทำ DCIP ระหว่างการยกหลอดทดลองทุกช่วงเวลาที่ 60, 90, 120 นาที กับไม่ยกหลอดทดลองวัดเพียงครั้งเดียวของแต่ละช่วงเวลา

2. ศึกษาความสอดคล้องระหว่างการอ่านผล DCIP ด้วยตาเปล่า กับการวัด O.D ด้วยเครื่องมือ spectrophotometer

3. ศึกษาความเชื่อถือได้ของการอ่านผลด้วยตาเปล่า ในการคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย

วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการ

DCIP มีหลักการว่า สี DCIP มีคุณสมบัติทำให้โมเลกุลของ unstable haemoglobin สลายตัวและตกตะกอน (Frischer and Bowman, 1975 : Kulapongs *et al.*, 1976) โดย incubate สีกับเม็ดเลือดแดงที่ 37°C นาน 1 ชั่วโมง ดูลักษณะตะกอนที่เกิดขึ้น

0 หมายถึง สารละลายใส สีฟ้าอมเขียว ไม่มีตะกอน

1^+ หมายถึง สารละลายขุ่น สีฟ้าอมเขียว ไม่มีตะกอน

2^+ หมายถึง สารละลายขุ่น สีฟ้าอมเขียว พบตะกอนขนาดเล็ก กระจายอยู่ทั่วไป

3^+ หมายถึง สารละลายขุ่น สีฟ้าอมเขียว พบตะกอนขนาดกลางบางส่วนตกอยู่ก้นหลอด

4^+ หมายถึง สารละลายเริ่มใส สีฟ้าอมเขียว พบตะกอนขนาดใหญ่ตกอยู่ก้นหลอด

1. อาสาสมัคร ซึ่งไม่เคยได้รับการถ่ายเลือด (blood transfusion) ทั้งหมด 621 ราย จากศูนย์ส่งเสริมสุขภาพเขต 6 ขอนแก่น ประกอบด้วยหญิงมีครรภ์ 308 ราย หญิงไม่ตั้งครรภ์ 153 ราย และชาย 159 ราย เจาะเลือดคนละ 7 มล. ใส่ในหลอดบรรจุ EDTA เพื่อส่งตรวจ DCIP และวิธีมาตรฐาน ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ และคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. เก็บตัวอย่างเลือดที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ แต่เก็บได้ไม่เกิน 3 วัน

3. นำ EDTA blood มาปั่นที่ 100 - 1500 rpm 10 นาที

4. ดูดเฉพาะเม็ดเลือดแดงที่ก้นหลอด 20 μl ใส่ในหลอดที่มีน้ำยา DCIP 5 ml

5. ผสมโดยการ invert tube ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

6. นำไป incubate ที่ 37°C 1 ชั่วโมง

7. อ่านผลโดยดูลักษณะตะกอนที่ 60 นาที และวัด O.D. ที่ 800 nm เมื่อเวลา 60, 90 และ 120 นาที

ผล

1. เมื่อเปรียบเทียบในการทำ DCIP ระหว่างยกหลอดทดลองทุกช่วงเวลา 60, 90, และ 120 นาที กับไม่ยกหลอดทดลองวัด O.D. เพียงครั้งเดียว พบว่า

1.1 ที่ 60 นาที พบว่าอาสาสมัครที่เป็น HbE และ EE จะมีค่าความแตกต่างของ O.D. ระหว่างยกหลอดทดลองกับไม่ยกหลอดทดลองเกิน 0.05% Absorbance อยู่ถึง 23-26% (ตารางที่ 1) และค่าเฉลี่ยของ O.D. ของหลอดทดลองที่ไม่ยก จะสูงกว่าหลอดทดลองที่ถูกยกไปอ่านค่าแล้ว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนกลุ่มอาสาสมัครที่ปกติ และพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่น ๆ มีค่า O.D ระหว่างยกหลอดทดลองกับไม่ยกหลอดทดลองแตกต่างกันน้อยมาก

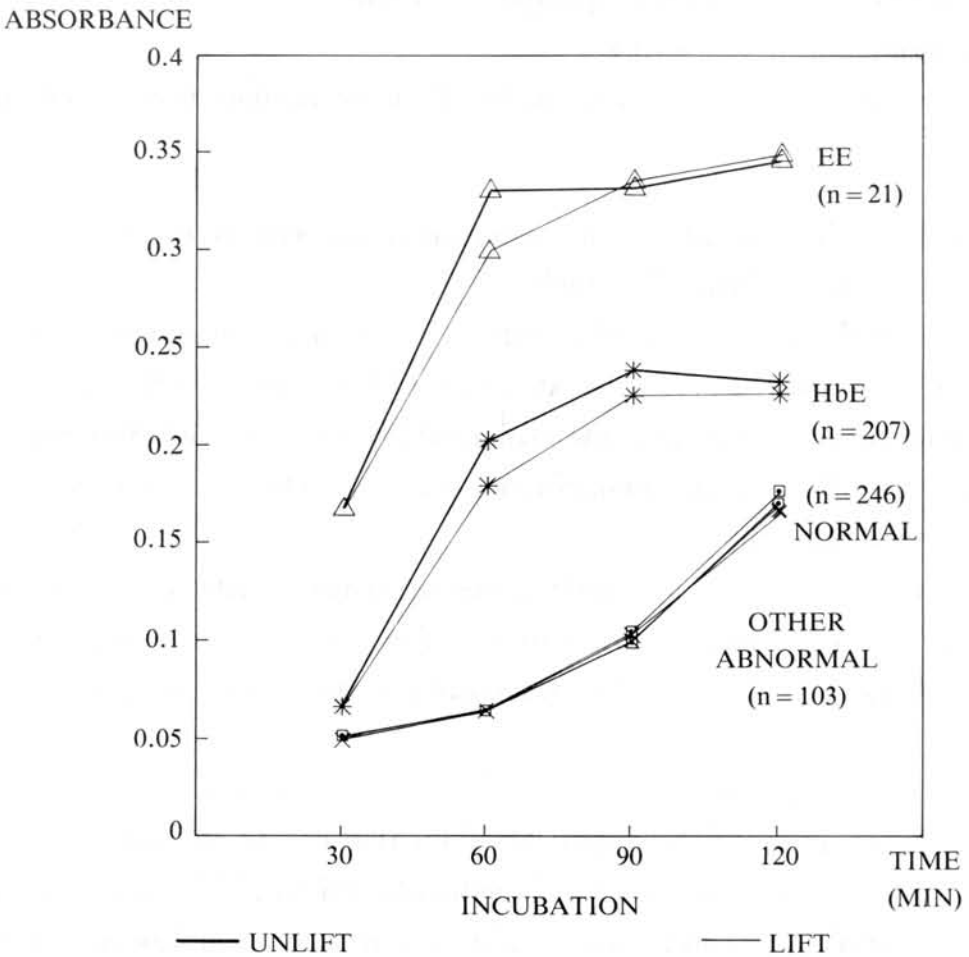
1.2 ที่ 90 นาที และ 120 นาที พบว่า เฉพาะอาสาสมัครที่เป็น HbE ค่า O.D ที่ไม่ยกหลอดทดลองจะสูงกว่าที่ยกหลอดทดลองเกิน 0.05% Absorbance อยู่ถึง 13% และ 7.7% ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยของ O.D. ของหลอดทดลองที่ไม่ยก จะสูงกว่าหลอดทดลองที่ถูกยกไปอ่านค่าแล้ว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.3 ถึงแม้ว่าผลของความแตกต่างของ O.D ที่ 60, 90 และ 120 นาที ระหว่างยกหลอดทดลองกับไม่ยกหลอดทดลอง จะมีนัยสำคัญทั้งในกลุ่มอาสาสมัครที่เป็น HbE และ EE แต่เมื่อดู pattern (รูปแบบ) ในช่วงเวลาตั้งแต่ 30-120 นาทีแล้ว พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบ ซึ่งคนที่ไม่มียีน E และคนที่เป็น HbE หรือ EE จะมีรูปแบบไม่เหมือนกันดังแสดงในรูปที่ 1 ดังนั้น วิธีการพิจารณารูปแบบ จึงเหมาะสำหรับที่จะแยก homozygouse HbE หรือ heterozygouse HbE เท่านั้น

2. จากการตรวจกรอง DCIP ด้วยตาเปล่าที่ 60 นาที กับการวัด O.D ด้วยเครื่อง spectrophotometer แสดงในตารางที่ 2 พบว่า การตรวจกรองด้วยตาเปล่าสามารถแบ่งแยกความผิดปกติของเม็ดเลือดได้สะดวกง่ายกว่าการอ่าน O.D เพียงจุดเดียว

3. การใช้การตรวจกรอง DCIP ด้วยตาเปล่าในการแยกพาหะและคนปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับ วิธีมาตรฐานแสดงในตารางที่ 3 จะพบว่า 98% ในกลุ่มคนปกติจะเป็น negative (O) มีอีก 5 ราย อ่านได้ 1^+ ซึ่งทั้ง 5 รายนี้ เมื่อวัด O.D ที่ 60 นาที จะได้สอดคล้องกันคือ .212, .215, .229, .232 และ .310 ในกลุ่ม β - trait นั้น อ่านได้ negaitve (O) ทั้งหมด สำหรับกลุ่ม HbE และ EE จะอ่านได้ positive (+) เกือบทั้งหมด มีเพียง 2 ราย ในกลุ่ม HbE ที่อ่านได้ negative (O) ซึ่งทั้งสองรายนี้เมื่อวัด O.D ที่ 60 นาที จะได้สอดคล้องกันคือ .056 และ .063 ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงเม็ดเลือดน้อยมาก ทำให้การทำ DCIP เกิดลักษณะสารละลายขุ่นน้อยมาก มองด้วยตาแทบจะไม่เห็นการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเมื่อดูค่า O.D ก็จะเห็นว่ามีค่า O.D ต่ำเช่นกัน ส่วนกลุ่ม Abnormal และ α - $thal_2$ trait ส่วนใหญ่จะอ่าน DCIP ได้ negative (O) ทั้งหมด ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะ DCIP เป็นวิธีที่ไม่จำเพาะกับพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่น ๆ นอกจาก HbE และ EE ดังนั้นเพื่อสรุปความสามารถของวิธี DCIP ในการตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมีย ได้แสดงในตารางที่ 4

รูปที่ 1 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลง O.D ในคนปกติและพาหะธาลัสซีเมีย



OTHER ABNORMAL : α Thal-2 trait, Bart Hb, Hb constant spring

ตารางที่ 1 แสดงผลความแตกต่างของ O.D ระหว่างยกหลอดทดลองกับไม่ยกหลอดทดลองที่ช่วงเวลา 60, 90 และ 120 นาที

ความแตกต่าง O.D. / ชนิดธาลัสซีเมีย	ปกติ %	β-trait %	HbE %	Abnormal %	α_2-trait %	EE %
ที่ 60 นาที						
< -0.03	5.4	20.0	11.2	8.6	4.4	23.8
- 0.03 ถึง - .011	6.6	-	7.8	5.7	10.3	14.3
- 0.01 ถึง .01	69.8	60.0	17.1	60.0	69.1	4.8
.011 ถึง .03	14.0	20.0	23.9	20.0	14.7	9.5
.031 ถึง .05	2.5	-	14.1	2.9	-	23.8
> .051	1.7	-	25.9	2.9	1.5	23.8
ที่ 90 นาที						
< -0.03	8.5	-	10.1	2.9	8.8	9.5
- 0.03 ถึง - .011	21.5	60.0	17.4	14.3	26.5	28.6
- 0.01 ถึง .01	57.7	40.0	32.9	65.7	54.4	38.1
.011 ถึง .03	11.0	-	15.0	14.3	8.8	19.0
.031 ถึง .05	0.8	-	11.6	-	1.5	4.8
> .051	0.4	-	13.0	2.9	-	-
ที่ 120 นาที						
< -0.03	9.4	-	5.3	8.6	4.4	4.8
- 0.03 ถึง - .011	29.8	20.0	17.3	28.6	17.6	38.1
- 0.01 ถึง .01	38.8	40.0	39.9	42.9	58.8	47.6
.011 ถึง .03	18.4	40.0	21.6	17.1	14.7	4.8
.031 ถึง .05	2.9	-	8.2	-	2.9	-
> .051	0.8	-	7.7	2.9	1.5	4.8

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบ DCIP ที่ดูด้วยตาเปล่า และวัด O.D ด้วย Spectrophotometer ที่ 60 นาที

ดูด้วยตาเปล่า / วัด O.D.	$\bar{X} \pm SD$	Range
0	.061 ± .010	.037 - .111
1^+	.181 ± .052	.081 - .310
2^+	.227 ± .029	.178 - .310
3^+	.259 ± .073	.062 - .440

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบการตรวจกรอง DCIP ด้วยตาเปล่าที่ 60 นาที กับวิธีมาตรฐาน

การตรวจ DCIP ด้วยตาเปล่า / วิธีมาตรฐาน	ปกติ %	β - trait %	HbE %	Abnormal %	α_2- trait %	EE %
negative (0)	98.0	100.0	0.9	89.5	95.9	-
1^+	2.0	-	48.0	-	2.7	-
2^+	-	-	32.4	-	-	-
3^+	-	-	18.7	10.5	1.4	100.0
รวม	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

ตารางที่ 4 ความเชื่อถือของวิธีการ DCIP ในการตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมีย

ความเชื่อถือ	เปอร์เซ็นต์
ความไว (Sensitivity)	69.1
ความจำเพาะ (Specificity)	98.3
ความถูกต้อง (Accuracy)	81.0
ผลบวกที่คาดการณ์ (Positive predictive value)	96.1
ผลลบที่คาดการณ์ (Negative predictive value)	68.9

วิจารณ์

1. การตรวจกรองด้วยวิธี DCIP โดยการวัด O.D ระหว่างยกหลอดทดลองกับไม่ยกหลอดทดลองในช่วงเวลา 60, 90 และ 120 นาที พบว่าในกลุ่ม HbE จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุกช่วงเวลา แต่กลุ่ม EE จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วง 60 นาทีเท่านั้น สำหรับพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่น ๆ และคนปกติ จะไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับ HbE และ EE จะให้รูปแบบเฉพาะตัว สามารถแยก HbE และ EE ได้ ดังนั้นในการทำ DCIP ไม่มีความจำเป็นที่จะแยกหลอดทดลองในการวัด O.D เพื่อสะดวกประหยัด รวดเร็วไม่เสียเวลาในการทำ

2. จากการตรวจกรองด้วยตาเปล่าเป็นวิธีการที่สะดวก ง่าย ประหยัดเวลาในการทำมากกว่าการอ่านด้วย O.D ซึ่งการใช้ O.D น่าจะนำไปใช้เวลาตั้งแต่ 30-120 นาที เพราะจะได้เห็นรูปแบบที่แน่ชัด เพื่อการตัดสินใจในการแยก homozygous HbE หรือ Heterozygous HbE ออกจากกลุ่มอื่น มากกว่าการอ่าน O.D เพียงจุดเดียว เพราะค่า O.D ในแต่ละกลุ่ม มีค่า overlap กัน (ตารางที่ 2)

3. จากตารางที่ 4 จะเห็นว่าวิธี DCIP มีความจำเพาะสูง กล่าวคือในกลุ่มที่ไม่ใช่พาหะธาลัสซีเมีย DCIP จะอ่านได้เป็น negative ได้ถูกถึง 98.3% และถ้าวิธี DCIP ให้ผล positive (+) กลับพบว่าจะเป็นพาหะจริงถึง 96.1% แต่อย่างไรก็ตาม DCIP นั้น มีความไวในการวัดเพียง 69.1% ดังนั้นถ้า DCIP ให้ผล negative

แล้ว ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าจะไม่เป็นพาหะธาลัสซีเมีย ควรจะต้องใช้ผลการตรวจวิธีการอื่นมาประกอบเพื่อให้การตัดสินแน่ชัดยิ่งขึ้น ส่วนใหญ่จะใช้ DCIP ควบคู่ไปกับการตรวจกรองวิธี One tube osmotic fragility (OF) ซึ่งผู้ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียจะให้ผลบวก เช่นเดียวกับผู้ที่มี HbE ผู้ที่เป็น homozygous HbE (EE) เมื่อทำปฏิกิริยากับสี DCIP จะพบตะกอนของฮีโมโกลบินมากกว่า heterozygous HbE (HbE) สำหรับผู้ที่มีโลหิตจาง เนื่องจากขาดเหล็ก ก็จะพบ DCIP ให้ผลลบเช่นกัน ดังนั้นอาจมีความจำเป็นต้องดูภาวะการขาดเหล็กในคนกลุ่มนี้ ถ้าพบว่ามีการขาดเหล็กต้องให้ยาเสริมเหล็กจนปกติ แล้วจึงตรวจเลือดซ้ำอีกครั้ง เพื่อให้ได้ผลวินิจฉัยที่ถูกต้อง

สำหรับธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติมีอุบัติการในประเทศไทย (สุทัศน์และปราณี, 2535) สรุปได้ดังนี้

ชนิดของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ	อุบัติการณ์	
α – thalassemia	กรุงเทพฯ	20%
	เชียงใหม่	30%
β – thalassemia		3-9%
HbE	กรุงเทพฯ	13-18%
	สุรินทร์	53%
Hb Constant Spring		4%

จะเห็นได้ว่าในภาคอีสานจะพบ HbE สูง ดังนั้นวิธีการ DCIP test น่าจะนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจกรองโรคนี้ หรืออาจจะนำไปประกอบกับการตรวจแบบอื่น (Kittikalayawong *et al.*, 1994) เพื่อให้ความถูกต้องในการวินิจฉัย เพราะ DCIP test ค่อนข้างจะมีความจำเพาะในการตรวจ HbE แต่สำหรับผู้ที่เป็นพาหะ α และ β – thalassemia การวินิจฉัยยังค่อนข้างเป็นปัญหามากในห้องปฏิบัติหลายแห่ง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพเขต 6 ขอนแก่น ทุกท่านที่ช่วยเหลือในการเก็บและจัดส่งตัวอย่างเลือดในการศึกษาครั้งนี้ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายเวชศาสตร์ประชากร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกท่าน ที่ช่วยให้ทำงานครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สุทัศน์ ฟู่เจริญ, ปราณี ฟู่เจริญ. 2535. Thalassemia การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย การประชุมเชิงปฏิบัติการทางโลหิตวิทยา ครั้งที่ 1, 23-27 มีนาคม 2535 ณ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยภาควิชาคลินิคไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ร่วมกับมูลนิธิโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย : 6-18

Frischer H and Boman JE. 1975. Haemoglobin E an oxidatively unstable mutation. J Lab Clin Med 35 : 531-539

Kulapongs P, Sanguansermsri T, Mertz G, and Tawarat S. 1976. Dichlorophenol Indophenol (DCIP) Precipitation test : A New Screening Test of HbE and H. Paediatr Soc Thailand 15 : 1 – 7

Kittikalayawong A, Impand C, Dharmkrong – At A, Mitrakul C, Tunsaringkarn K, Havanond P, Srisukkoo P, Sindhuphak R, and Dusitsin N. 1994. Screening Model for Thalassemia Carriers. Chula Med J 38 (4) : 209-217