ฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมียที่ตรวจพบในประชากรทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น

Hemoglobin E and Thalassemia among Khon Kaen University Population

*กุลนภา ฟู่เจริญ (Goonnapa Fucharoen)**
*กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (Kanokwan Sanchaisuriya)***
*ณัฐยา แซ่อึ้ง (Nattaya Sae-ung)***
*สุพรรณ ฟู่เจริญ (Supan Fucharoen)****

บทคัดย่อ

จากการตรวจเลือดประชากรทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่นจำนวน 996 ราย เพื่อตรวจคัดกรองหาผู้ที่มีฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมียด้วยการตรวจคัดกรองอย่างง่ายโดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป 2 ชนิด คือ KKU-DCIP-Clear reagent kit และ KKU-OF test kit พบว่ามีประชากรร้อยละ 44.5 ให้ผลบวกต่อการตรวจคัดกรอง โดยร้อยละ 33.7 เป็นผู้ที่มี HbE อีกร้อยละ 10.8 เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่น เมื่อนำตัวอย่างเลือดเหล่านี้ไปตรวจยืนยันด้วยวิธีมาตรฐานที่ประกอบด้วย การตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินและการตรวจวัดปริมาณ HbA_2 ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hb Gold (Drew Scientific Ltd. UK) การตรวจจีน α-thalassemia 1 (SEA deletion), จีน ($\alpha^{Constant\ Spring}$-thalassemia 2 (3.7 and 4.2 kb deletions) และจีน $\alpha^{Constant\ Spring}$ ด้วยวิธีพีซีอาร์ พบว่าชุดน้ำยา KKU-DCIP-Clear reagent kit สามารถคัดกรองผู้ที่มี HbE ได้โดยมีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบเท่ากับร้อยละ 99.2, 99.3, 98.4 และ 99.7 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มผู้ที่เป็นธาลัสซีเมียชนิดอื่น ผลการตรวจยืนยันพบว่าประกอบด้วย heterozygous α-thalassemia 1, heterozygous α-thalassemia 2, heterozygous β-thalassemia, homozygous α-thalassemia 2, heterozygous $\alpha^{Constant\ Spring}$, double heterozygous α-thalassemia 2 / $\alpha^{Constant\ Spring}$ และ double heterozygous α-thalassemia 1 / $\alpha^{Constant\ Spring}$ ร้อยละ 3.6, 2.2, 1.9, 0.2, 0.2, 0.2 และ 0.2 ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าประชากรกลุ่มนี้มีความชุกของ HbE และพาหะธาลัสซีเมียสูงมาก

Abstract

Hemoglobin E and thalassemia were investigated in 996 individuals of Khon Kaen University using the KKU-DCIP-Clear and KKU-OF reagent kits. As many as 44.5% were found to be positive with these two screening tests. Of these, 33.7 % were hemoglobin E carriers and 10.8 % were carriers of other thalassemias. All positive samples were confirmed using standard methods including hemoglobin electrophoresis, quantitation of hemoglobin A_2 using an automate hemoglobin analyser; Hb Gold (Drew Scientific Ltd., UK) and DNA analysis for detection of α-thalassemia 1 (SEA type), α-thalassemia 2 (3.7 kb and 4.2 kb deletion) and $\alpha^{Constant\ Spring}$ genes using PCR related techniques. It was found that the KKU-DCIP-Clear reagent kit could identify hemoglobin E individuals with the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of 99.2, 99.3, 98.4 and 99.7 %, respectively. Various types of thalassemia including heterozygous α-thalassemia 1, heterozygous α-thalassemia 2, heterozygous β-thalassemia, homozygous α-thalassemia 2, heterozygous $\alpha^{Constant\ Spring}$, double heterozygous α-thalassemia 2 / $\alpha^{Constant\ Spring}$ and double heterozygous α-thalassemia 1 / $\alpha^{Constant\ Spring}$ were identified at 3.6 %, 2.2 %, 1.9 %, 0.2 %, 0.2 %, 0.2 % and 0.2 %, respectively in the remaining positive samples. The result clearly indicates high frequencies of hemoglobin E and thalassemia among Khon Kaen University population as usually observed among northeastern Thai population.

คำสำคัญ : ฮีโมโกลบินอี ธาลัสซีเมีย การตรวจคัดกรอง มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Keywords : Hemoglobin E; Thalassemia; Screening tests; Khon Kaen University

* รองศาสตราจารย์ **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ฮีโมโกลบินอี (HbE) และธาลัสซีเมีย (thalassemia ; thal) เป็นความผิดปกติของฮีโมโกลบินที่ถ่ายทอดได้ทางกรรมพันธุ์และเป็นสาเหตุสำคัญของโรคธาลัสซีเมียที่พบบ่อยและเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย สำหรับ HbE นั้น เกิดจากการกลายพันธุ์ของจีน β-globin โดยเปลี่ยนจาก GAG เป็น AAG ที่ตำแหน่งที่ 26 และมีผลให้เปลี่ยนกรดอะมิโนจากกรดกลูตามิกเป็นไลซีน (HbE ; $\alpha_2\beta_2^{26Glu-Lys}$) (Honig and Adams, 1986) ซึ่งต่อมาภายหลังพบว่าจีน HbE นี้สังเคราะห์โปรตีนได้ปริมาณน้อยกว่าปกติด้วย จึงถูกจัดให้เป็นธาลัสซีเมียชนิดหนึ่งด้วย (Orkin *et al.*, 1984 ; สุพรรณ, 2540) ส่วนธาลัสซีเมียนั้น เกิดจากการกลายพันธุ์ของจีนโกลบินที่มีผลทำให้จีนสังเคราะห์สาย α-globin หรือ β-globin ได้ปริมาณน้อยลงหรือสังเคราะห์ไม่ได้เลย เรียกชื่อตามชนิดของความผิดปกติที่เกิดขึ้นว่า α-thalassemia และ β-thalassemia ตามลำดับ (Weatherall and Clegg, 1981) ผู้ที่มีจีน HbE หรือ ธาลัสซีเมียอยู่ จะมีความผิดปกติของ Hb ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดภาวะเลือดจาง ซึ่งอาการจะมากหรือน้อยแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของความผิดปกติของจีนที่มีอยู่ โดยทั่วไปผู้ที่มีจีนแฝงหรือเป็นพาหะ คือ ได้รับการถ่ายทอดจีนผิดปกติมาจากพ่อหรือแม่คนใดคนหนึ่งมักจะไม่แสดงอาการเลือดจางอย่างชัดเจน ตรวจร่างกายไม่พบความผิดปกติใด ๆ มีสุขภาพดีเหมือนคนทั่วไป และจะไม่ทราบเลยว่าเป็นพาหะหรือไม่หากไม่ได้รับการตรวจเลือดที่จำเพาะต่อการวินิจฉัย HbE และธาลัสซีเมีย ส่วนผู้ที่ได้รับจีนผิดปกติมาจากทั้งพ่อและแม่จะแสดงอาการเลือดจาง ตับและม้ามโต บางรายมีอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตก่อนคลอดหรือทันทีหลังคลอด ขึ้นอยู่กับชนิดของจีนที่ได้รับการถ่ายทอด

สำหรับประเทศไทยโรคเลือดจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่พบได้บ่อยมี 3 ชนิด คือ โฮโมซัยกัส (homozygous) α-thalassemia 1 ซึ่งผู้ป่วยเสียชีวิตทุกรายหลังคลอด โฮโมซัยกัส β-thalassemia ผู้ป่วยมีอาการเลือดจาง ตับม้ามโต อายุเฉลี่ยประมาณ 10 ปี และ β-thalassemia/HbE ผู้ป่วยมีอาการเลือดจาง ตับม้ามโต อายุเฉลี่ยประมาณ 30 ปี (Fucharoen and Winichagoon, 1987) เนื่องจากทั้งสามชนิดเป็นโรคกรรมพันธุ์ การรักษาให้หายขาดยังทำได้ยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง การดูแลรักษาผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่ทำได้จึงเป็นการดูแลรักษาตามอาการที่เกิดขึ้น โดยการให้เลือดทดแทนและรักษาอาการแทรกซ้อนอื่น ๆ ร่วมด้วย แต่ต้องรักษาไปตลอดชีวิต จึงนับเป็นปัญหาทั้งต่อสุขภาพกาย สุขภาพใจและปัญหาเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศ (สุทัศน์ และปราณี, 2529) การดำเนินการเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจึงมุ่งเป้าหมายไปที่การค้นหาผู้ที่เป็นพาหะสืบทอดโรคซึ่งไม่แสดงอาการให้ได้ แล้วให้คำแนะนำปรึกษาทางพันธุกรรมที่เหมาะสมในการเลือกคู่ เลือกครรภ์และเลือกคลอด ที่ปลอดต่อการมีบุตรเป็นโรคชนิดรุนแรง (วิจารณ์, 2532) แต่วิธีการตรวจเลือดทั่วไปที่จัดว่าเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการวินิจฉัยพาหะ HbE และธาลัสซีเมียนั้น ยังเป็นวิธีการตรวจที่ค่อนข้างยุ่งยาก เสียค่าใช้จ่ายมากและต้องการผู้เชี่ยวชาญในการตรวจ จึงประยุกต์ใช้ตรวจกับประชากรหมู่มากไม่ได้ (สุพรรณและกุลนภา, 2540) การตรวจคัดกรองด้วยวิธีการที่ง่าย เสียค่าใช้จ่ายน้อยกว่า และสามารถใช้ตรวจในประชากรหมู่มากได้ จึงถูกพัฒนาขึ้นพร้อม ๆ กับการพัฒนาให้เป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูป 2 ชุด และใช้ร่วมกันโดยมีเป้าหมายเพื่อลดจำนวนตัวอย่างที่จะต้องตรวจเลือดด้วยวิธีมาตรฐานซึ่งเสียค่าใช้จ่ายมากกว่า ชุดน้ำยาดังกล่าวประกอบด้วย ชุดน้ำยา KKU-DCIP-Clear reagent kit สำหรับตรวจคัดกรอง HbE (สุพรรณ และคณะ, 2540) และ KKU-OF test kit สำหรับตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียชนิดอื่น (กุลนภา และคณะ, 2543) โดยการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำชุดน้ำยาตรวจคัดกรองดังกล่าวมาตรวจสอบความชุกของผู้ที่เป็น HbE และพาหะธาลัสซีเมียในประชากรมหาวิทยาลัยขอนแก่นและรณรงค์ให้ประชากรเป้าหมายได้รู้จักและตระหนักถึงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียที่เหมาะสมต่อไป

วิธีการวิจัย

1. ตัวอย่างเลือด

เป็นตัวอย่างเลือดจากประชากรในมหาวิทยาลัยขอนแก่นซึ่งประกอบด้วย อาจารย์ ข้าราชการ เจ้าหน้าที่ นักศึกษา และนักเรียนโรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่แสดงความจำนงขอตรวจเลือดเพื่อวินิจฉัย HbE และธาลัสซีเมีย ในงานนิทรรศการผลงานทางวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่นครบรอบ 36 ปี ณ ศูนย์ประชุมกาญจนาภิเษก มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างวันที่ 25 - 30 มกราคม 2543 จำนวน 996 ราย เป็นเพศชาย 324 ราย เพศหญิง 668 ราย อายุระหว่าง 5-60 ปี

2. การตรวจคัดกรอง

การตรวจคัดกรองเลือดทั้ง 996 รายใช้วิธีการของชุดน้ำยา KKU-DCIP-Clear reagent kit (สุพรรณ และคณะ, 2540) และ KKU-OF test kit (กุลนภา และคณะ, 2543) โดยตรวจทันทีหลังจากเจาะเลือดและแจ้งผลให้ทราบภายในเวลา 30 นาที ผู้ที่ได้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกทุกราย ได้รับคำแนะนำและเอกสารเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียและแนวทางในการควบคุมป้องกันโรคจากผู้เชี่ยวชาญ

3. การตรวจยืนยัน

นำตัวอย่างเลือดที่ผ่านการตรวจคัดกรองแล้วจำนวน 419 รายแรก ไปทำการตรวจยืนยันซ้ำที่ห้องปฏิบัติการวิจัย คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยนำไปเตรียมเป็นน้ำละลายฮีโมโกลบินแล้วตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis (กุลนภา, 2539) และตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hb Gold (Drew Scientific Ltd., UK) นอกจากนี้ตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวกต่อการตรวจด้วย KKU-OF test kit แต่ให้ผลลบต่อ KKU-DCIP-Clear reagent kit ซึ่งคาดว่าจะเป็นธาลัสซีเมียชนิดอื่นๆที่ไม่ใช่ HbE จะนำไปเตรียมดีเอ็นเอ (Fucharoen, 1992) เพื่อตรวจหาจีน α-thalassemia 1 (Fucharoen and Fucharoen, 1994), α-thalassemia 2 (สุพรรณ และ คณะ, 2543) ด้วยวิธี polymerase chain reaction และตรวจจีน Hb Constant Spring ด้วยวิธี allele specific polymerase chain reaction (Fucharoen *et al.*, 1990)

ผลการวิจัย

1. ผลการตรวจคัดกรอง

ผลการตรวจคัดกรองด้วยน้ำยา KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear จะมีได้ทั้งหมด 4 แบบ คือ

1.1 ผู้ที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นลบต่อน้ำยาทั้ง 2 ชนิด ใช้สัญญลักษณ์ (-/-) จะได้รับการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าไม่ได้เป็นพาหะของโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

1.2 ผู้ที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกกับ KKU-OF แต่ให้ผลลบกับ KKU-DCIP-Clear ใช้สัญญลักษณ์ (+/-) จะให้การวินิจฉัยเบื้องต้นว่าอาจเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดใดชนิดหนึ่งที่ไม่ใช่ HbE

1.3 ผู้ที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นลบกับ KKU-OF แต่ให้ผลบวกกับ KKU-DCIP-Clear ใช้สัญญลักษณ์ (- /+) จะให้การวินิจฉัยว่ามี HbE

1.4 ผู้ที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกต่อทั้งสองวิธี ใช้สัญญลักษณ์ (+/+) จะให้การวินิจฉัยว่ามี HbE ที่อาจมีหรือไม่มีธาลัสซีเมียอื่นร่วมด้วยก็ได้

ผลการตรวจคัดกรองพบว่า มีผู้อยู่ในกลุ่ม (-/-) จำนวนทั้งสิ้น 552 ราย (55.5 %) ที่เหลืออยู่ในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อการตรวจคัดกรองทั้งสิ้น ดังแสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าเกือบครึ่งหนึ่งของประชากรที่ตรวจ มี HbE หรือธาลัสซีเมียแฝงอยู่และส่วนใหญ่ไม่ทราบมาก่อนว่าเป็นพาหะนี้

2. ผลการตรวจยืนยัน

2.1 ผลการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน

ตัวอย่างเลือด 419 รายแรกที่ได้นำไปตรวจหา

ชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis ได้ผลดังแสดงใน ตารางที่ 2 ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็น (-/-) มีฮีโมโกลบินเป็นชนิด A_2A ทุกราย กลุ่ม (+/-) ส่วนใหญ่ก็เป็นชนิด A_2A โดยมี 8 ราย ที่ตรวจวัดปริมาณ HbA_2 ด้วยเครื่อง Hb Gold (Drew Scientific Ltd., UK) แล้วพบว่ามีปริมาณสูงกว่าปกติและให้การวินิจฉัยว่าเป็นพาหะ β-thalassemia กลุ่ม (-/+) ส่วนใหญ่มีฮีโมโกลบินเป็นชนิด EA ซึ่งหมายถึงเป็นพาหะของฮีโมโกลบินอี ส่วนกลุ่ม (+/+) ทุกรายมี HbE โดยในกลุ่มนี้พบลักษณะของ HbE ได้ 2 แบบ คือ พาหะ HbE จำนวน 94 ราย และโฮโมซัยกัส HbE (EE) 11 ราย และมี 1 รายที่มีผลการตรวจเป็น EF ซึ่งหมายถึงเป็นโรค β-thalassemia/HbE จากผลการตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินนี้ ทำให้สามารถคำนวณ ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบ ของการตรวจคัดกรอง HbE ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KU-DCIP-Clear ได้เป็นร้อยละ 99.2, 99.3, 98.4 และ 99.7 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

2.2 ผลการตรวจ ดีเอ็นเอ

กลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็น (+/-) ซึ่งมีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A จะต้องนำไปตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ต่อไปจึงจะสามารถให้การวินิจฉัย α-thalassemia ได้ โดยในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจจีน α-thalassemia 4 ชนิด คือ α-thalassemia 1 ชนิด SEA-deletion, α-thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion α-thalassemia 2 ชนิด 4.2 kb deletion และ $\alpha^{Constant\ Spring}$ จากจำนวนตัวอย่างในกลุ่มนี้ 54 ราย มีตัวอย่างเลือดเหลือพอที่จะเตรียมดีเอ็นเอ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ต่อได้เพียง 45 ราย ตรวจพบพาหะของ α-thalassemia 1 ชนิด SEA deletion (รูปที่ 1) มากที่สุด คือ จำนวนทั้งสิ้น 15 ราย ที่เหลือเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดอื่นดังแสดงใน ตารางที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

จากผลการตรวจคัดกรองผู้ที่เป็น HbE และธาลัสซีเมีย ด้วยวิธี KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear ให้ผลยืนยันชัดเจนที่แสดงว่าทั้ง HbE และธาลัสซีเมียเป็นปัญหาสำคัญของประชากรไทย โดยพบว่าร้อยละ 44.5 ของประชากรที่ตรวจหรือเกือบครึ่งหนึ่งมี HbE หรือธาลัสซีเมียแฝง เกือบทั้งหมดเป็นผู้ที่ไม่เคยทราบมาก่อนว่ามีความผิดปกตินี้แฝงอยู่ ในจำนวนนี้ ร้อยละ 33.7 เป็นชนิด HbE ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่เคยมีรายงานมาแล้วว่าประชากรไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีอุบัติการของ HbE สูงกว่าประชากรในภูมิภาคอื่นๆ (Fucharoen and Winichagoon, 1987 และ Fucharoen *et al.*, 1997) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจังหวัดที่อยู่ติดพรมแดนบริเวณรอยต่อของ 3 ประเทศ คือ ไทย ลาวและกัมพูชา ซึ่งเคยมีรายงาน HbE สูงถึงร้อยละ 50 ของประชากร จนถูกเรียกชื่อว่าเป็นสามเหลี่ยม HbE (HbE triangle) (Na-Nakorn and Wasi, 1978) อาจเป็นไปได้ว่าประชากรส่วนหนึ่งที่ทำการศึกษาในนี้มีภูมิลำเนาอยู่ในบริเวณดังกล่าวด้วย ซึ่งในกลุ่มที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกกับ KKU-DCIP-Clear นี้เมื่อนำไปทำการตรวจยืนยันโดยการตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินจากจำนวน 126 ราย พบว่ามีเพียง 2 รายที่เป็นผลบวกปลอมที่ไม่ใช่ HbE และเมื่อพิจารณารวมกับกลุ่มที่นำมาตรวจชนิดฮีโมโกลบินทั้งหมด 419 รายในตารางที่ 2 ทำให้สามารถคำนวณค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ได้เท่ากับร้อยละ 99.2 , 99.3 , 98.4 และ 99.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการตรวจคัดกรอง HbE ด้วยน้ำยา KKU-DCIP-Clear เป็นการตรวจคัดกรองที่ดี มีความไวและความจำเพาะสูงมาก โดยมีเพียง 1 รายที่มีชนิดของฮีโมโกลบินเป็น EABart's ที่ให้ผลลบปลอม ซึ่งเมื่อตรวจสอบแล้วพบว่าปัจจัยที่ทำเกิดผลลบปลอม คือ ภาวะซีด (Hb = 8.1 g/dl) และมีปริมาณ HbE ต่ำมาก คือมีเพียงร้อยละ 12.4 ของปริมาณฮีโมโกลบินทั้งหมด ซึ่งน้อยกว่าปริมาณ HbE ในผู้ที่เป็นพาหะ HbE ทั่วไปซึ่งจะตรวจพบได้ร้อยละ 24.3-31.5 (ณัฐยา และคณะ, 2535) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากตัวอย่างรายนี้ให้ผลบวกกับ KKU-OF ด้วย จึงไม่ถูกคัดออกจากการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียแต่อย่างใด เนื่องจากทุกรายที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ

ใดการทดสอบหนึ่งหรือทั้งสองการทดสอบจะได้รับการตรวจยืนยันต่อไปเสมอ ส่วน 2 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกปลอมนั้นอาจเกิดจากสาเหตุอื่นได้ เช่น มีความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงจากสาเหตุอื่นหรือได้รับยาหรือสารเคมีบางอย่าง ที่ไปมีผลเร่งปฏิกิริยาของน้ำยา KKU-DCIP-Clear ทำให้เกิดเป็นผลบวกปลอมได้

สำหรับธาลัสซีเมียชนิดอื่นที่ตรวจพบในกลุ่มที่มีผลการตรวจคัดกรองเป็น (+/-) ซึ่งมีฮีโมโกลบินเป็นชนิด A_2A นั้น สามารถแยกวินิจฉัยเป็น พาหะ α-thalassemia ได้จากปริมาณ HbA_2 ที่จะสูงกว่าร้อยละ 3.5 (กุลนภา และคณะ, 2538) ส่วนพาหะ α-thalassemia นั้นต้องอาศัยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเท่านั้น จึงจะให้การวินิจฉัยได้ รวมทั้ง Hb Constant Spring ซึ่งมีปริมาณน้อยและไม่เสถียร (กุลนภา, 2536) จากการศึกษานี้ พบธาลัสซีเมียชนิดต่าง ๆ ตามตารางที่ 4 ซึ่งจะเห็นว่าการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KKU-OF นั้นอาจมีผลบวกปลอม (non thalassemia) ได้เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงด้วยน้ำยา KKU-OF นี้จะมีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบ ร้อยละ 100, 68.2, 76.0 และ 100 ตามลำดับ ซึ่งถือว่าดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี OF-test แบบเดิมซึ่งมีค่าการวินิจฉัยต่าง ๆ เท่ากับร้อยละ 100, 9.3, 52.6 และ 100 ตามลำดับ (เนาวรัตน์ และสัมฤทธิ์, 2542) ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ตรวจจีน α-thalassemia ในกลุ่ม (-/-) จึงไม่สามารถคำนวณค่าการวินิจฉัยต่าง ๆของการตรวจคัดกรองด้วย KKU-OF ได้ ซึ่งผลบวกปลอมกับการตรวจ OF-test นี้อาจเกิดจากสาเหตุอื่นและที่พบบ่อยในคนไทย ได้แก่ การมีภาวะขาดธาตุเหล็ก ซึ่งมีความชุกสูงในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยเช่นกัน (กุลนภา และคณะ, 2542)

ผลการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่ามีความชุกของผู้ที่เป็น HbE และพาหะธาลัสซีเมียในกลุ่มประชากรมหาวิทยาลัยขอนแก่นซึ่งส่วนใหญ่มีภูมิลำเนาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือค่อนข้างสูงและพบได้ทั่วไป และที่สำคัญ คือ ส่วนใหญ่ไม่เคยทราบมาก่อนว่าเป็นพาหะแฝงอยู่ ดังนั้นการรณรงค์ให้ประชาชนได้รู้จักและเข้าใจถึงเรื่องของโรคธาลัสซีเมียจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับคนไทย นอกเหนือจากการรณรงค์ดังกล่าวแล้ว สิ่งที่อาจช่วยเสริมและพิจารณาจัดทำ ได้แก่ การบรรจุเรื่องของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินอีไว้ในบทเรียนเรื่องโรคหรือการถ่ายทอดทางพันธุกรรมในวิชาชีววิทยาทั้งในระดับมัธยมศึกษาและระดับมหาวิทยาลัย แทนการยกตัวอย่างเรื่องของ Sickle cell anemia (HbS) ซึ่งเป็นโรคที่ไม่พบในประชากรไทย เป็นต้น การเริ่มให้ความรู้และความเข้าใจโดยแทรกเข้าไปในบทเรียนควบคู่ไปกับการรณรงค์ให้ไปขอรับการตรวจเลือดว่าเป็นพาหะหรือไม่ จะเป็นแนวทางในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียที่ดี แต่เนื่องจากการตรวจเลือดด้วยวิธีมาตรฐานมีค่าใช้จ่ายในการตรวจสูงประมาณรายละ 300 บาท และหากต้องตรวจดีเอ็นเอให้ครอบคลุมธาลัสซีเมียทุกชนิดด้วยต่อไปอีก จะมีค่าใช้จ่ายต่อรายสูงเป็นหลักหนึ่งพันบาทขึ้นไปและเนื่องจากต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญที่มีความรู้ความสามารถเฉพาะและอุปกรณ์พิเศษในการตรวจ จึงไม่สามารถให้บริการได้ในทุกพื้นที่ของประเทศและไม่สามารถทำการตรวจในประชากรจำนวนมากได้ การตรวจคัดกรองด้วยวิธีการที่ง่าย ให้ผลเร็ว ออกตรวจนอกสถานที่ได้ และเสียค่าใช้จ่ายน้อย เช่น แนวทางที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งมีราคาต้นทุนน้ำยาเพียงรายละประมาณ 5 บาทเท่านั้น จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสม ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่า ในทางปฏิบัติอย่างน้อยประมาณร้อยละ 55 ของประชากร ไม่จำเป็นต้องรับการตรวจเลือดด้วยวิธีมาตรฐานที่เสียค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากไม่ได้เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีหรือธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงแต่อย่างใด ส่วนกลุ่มที่ให้ผลบวกอีกร้อยละ 45 นั้น อาจให้คำแนะนำปรึกษาที่เหมาะสมไปก่อน เมื่อจะแต่งงานก็แนะนำให้นำคู่สมรสไปตรวจเลือด หากคู่สมรสให้ผลบวก จึงค่อยส่งเลือดของทั้งคู่ไปตรวจยืนยันต่อให้ทราบชนิดของความผิดปกติที่แน่นอนเพื่อหาแนวทางการควบคุมและป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงต่อไป ด้วยแนวทางการตรวจคัดกรองแบบนี้ จะเห็นว่าจำนวนประชากรที่จำเป็นต้องเสียค่าใช้จ่ายเพื่อ

ตรวจด้วยวิธีมาตรฐานจะลดลงเหลือเพียงประมาณ 1 ใน 4 ของประชากรเท่านั้น เป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายโดยรวมของประเทศลงไปได้มากและทำให้สามารถดำเนินการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียได้อย่างมีประสิทธิภาพและทั่วถึง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้การสนับสนุนการจัดนิทรรศการทางวิชาการและการตรวจเลือดโรคเลือดจางธาลัสซีเมียในงานแสดงนิทรรศการผลงานทางวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่นครบรอบ 36 ปี ระหว่างวันที่ 25-30 มกราคม 2543 โดยใช้ชุดน้ำยาตรวจคัดกรองสำเร็จรูปซึ่งได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยและพัฒนาจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และขอขอบคุณ บริษัท พีซีแอลโฮลดิ้ง จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำยาและเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กุลนภา ฟู่เจริญ. 2536. ฮีโมโกลบิน คอน สแตนท์สปริง. **วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด** 5: 65-68.

กุลนภา ฟู่เจริญ. 2539. การตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินโดยวิธีแยกด้วยกระแสไฟฟ้า. ใน ณัฐยา แซ่อึ้ง, กุลนภา ฟู่เจริญ (บรรณาธิการ). **การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง**. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, หน้า 45 - 57.

กุลนภา ฟู่เจริญ และคณะ. 2538. ข้อมูลทางโลหิตวิทยาของพาหะบีตาธาลัสซีเมียจำแนกตามชนิดของมิวเตชันที่ตรวจพบในจังหวัดขอนแก่น. **วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด**. 7: 158-165 .

กุลนภา ฟู่เจริญ และคณะ. 2542. ธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจคัดกรองด้วย OF-Test และ KKU-DCIP-Clear. **วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต**. 9: 111-118.

กุลนภา ฟู่เจริญ และคณะ. 2543. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KKU-OF Test kit. (อยู่ระหว่างการเตรียมต้นฉบับ)

เนาวรัตน์ จันทร์สุวรรณ และสัมฤทธิ์ แดงวิบูลย์. 2542. ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มประชากรที่ให้ผลลบต่อการตรวจคัดกรองด้วย KKU-OF Test และ KKU-DCIP-Clear. ภาคนิพนธ์ปีการศึกษา 2542 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ณัฐยา แซ่อึ้ง และคณะ. 2535. ค่าปกติของฮีโมโกลบิน เอ 2 โดยวิธีดีอี-52-ไมโครคอลัมน์โครมาโตกราฟี. **วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด**. 4(1): 32-36.

วิจารณ์ พานิช. 2532. แนวทางการแก้ปัญหาโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย. **แพทยสภาสาร**. 18: 67-74

สุทัศน์ ฟู่เจริญ และปราณี วินิจจะกูล. 2529. กลุ่มโรค thalassemia และ hemoglobin ที่สังเคราะห์ผิดปกติ. ใน : ถนอมศรี ศรีชัยกูล, วิชัย อติชาตการ, แสงสุรีย์ จูฑา. (บรรณาธิการ). **ตำราโลหิตวิทยา เล่ม 1: การวินิจฉัยและการรักษาโรคเลือดที่พบบ่อยในประเทศไทย** . กรุงเทพฯ: กรุงเทพเวชสาร.

สุพรรณ ฟู่เจริญ . 2540. ฮีโมโกลบินอี. **Thai Medical Technologist Letter**. 8: 21-29.

สุพรรณ ฟู่เจริญ, กุลนภา ฟู่เจริญ และยุทธนา เพ็งแจ่ม. 2543. การตรวจจีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 2 ชนิดดีเอ็นเอดีลีชั่นด้วยวิธีพีซีอาร์. **วารสารเทคนิคการแพทย์**. (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

สุพรรณ ฟู่เจริญ และกุลนภา ฟู่เจริญ. 2540. ธาลัสซีเมียและพาหะ: การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ. **Current Practice in Hematology**. 76-93.

สุพรรณ ฟูเจริญ และคณะ. 2540. ชุดน้ำยาตรวจกรองฮีโมโกลบินอีอย่างง่ายละรวดเร็ว: KKU-DCIP-Clear Reagent Kit. **Thai Patent Application No. 043038**

Fucharoen, G and Fucharoen, S. 1994. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting α-thalassemia (SEA Type) and Hb Constant Spring gene. **Eur J Haematol.** 53: 186-187.

Fucharoen, G. *et al.* 1997. Beta globin gene haplotypes in some minor ethnic groups in Thailand. **Southeast Asian J Trop Med Pub Health.** 28 (Suppl):115-119.

Fucharoen, S. 1992. Amplification of β-globin gene sequences by the PCR. In: **Manual of laboratory diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathies including prenatal diagnosis.** Jakarta: University of Indonesia.

Fucharoen, S and Winichagoon, P. 1987. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. **Hemoglobin.** 11:65-68.

Fucharoen, S; Fucharoen, G and Fukumaki, Y. 1990. Simple non radioactive method for detecting haemoglobin Constant Spring gene. **Lancet.** 335: 1527.

Honig, G and Adams, JG. 1986. **Human hemoglobin genetics.** New York: Springer-Verlag Wein.

Na-Nakorn, S and Wasi, P. 1978. The distribution of HbE: hemoglobin E triangle in Southeast Asia. **J Med Assoc Thai.** 61: 65-71.

Orkin, S. *et al.* 1984. Abnormal RNA processing due to the exon mutation of β^E-globin gene. **Nature.** 300:768-769.

Weatherall, DJ and Clegg, JB. 1981. **The thalassemia syndromes.** 3rd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication.

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองด้วยชุดน้ำยา KKU-OF และ KKU-DCIP-Clear ในกลุ่มประชากรมหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 996 ราย

ผลการตรวจคัดกรอง		จำนวนประชากร (%)
KKU-OF	KKU-DCIP-Clear	
-	-	552 (55.5)
+	-	108 (10.8)
-	+	68 (6.8)
+	+	268 (26.9)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินในกลุ่มประชากรมหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 419 ราย จำแนกตามผลการตรวจคัดกรอง 4 แบบ

ผลการตรวจคัดกรอง KKU-OF/KKU-DCIP-Clear	ชนิดของฮีโมโกลบิน	จำนวนประชากร
-/-	A_2A	239
+/-	A_2A	53
	EABart's	1
-/+	A_2A	2
	EA	18
+/+	EA	94
	EE	11
	EF	1
	รวม	419

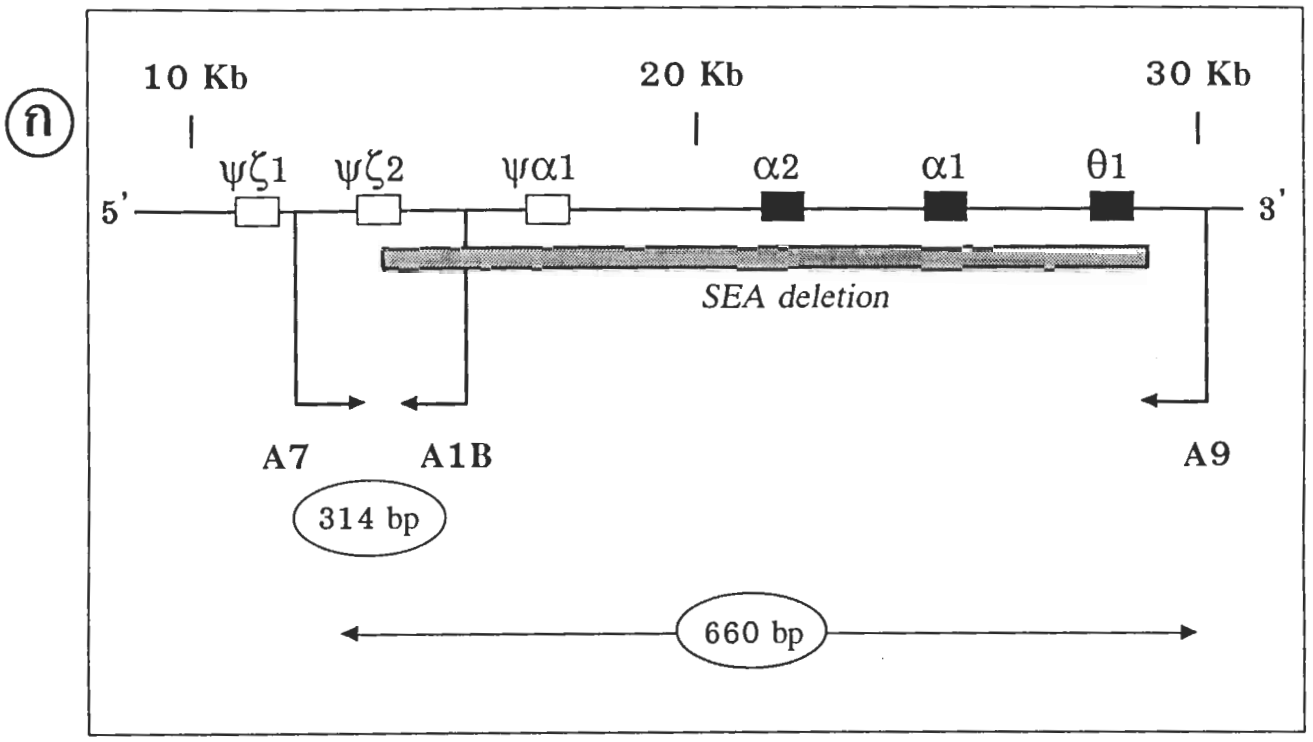
ตารางที่ 3 ความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ของการตรวจคัดกรอง HbE ด้วยน้ำยาสำเร็จรูป KKU-DCIP-Clear ในกลุ่มประชากรทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 419 ราย

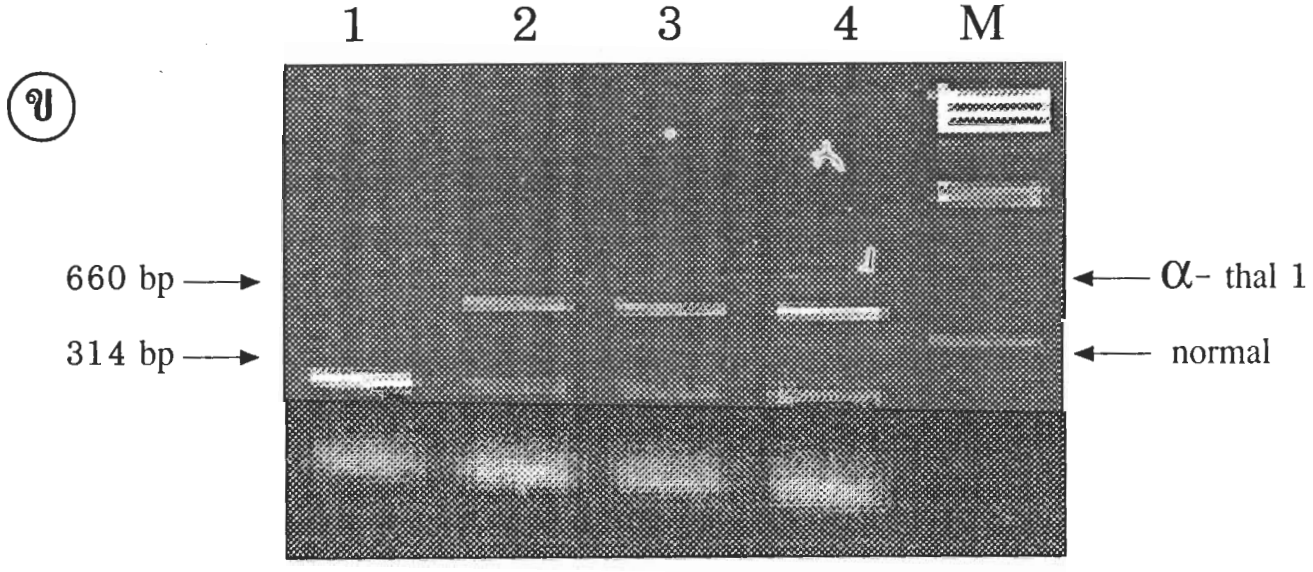
	ผลการตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน		
ผลการตรวจคัดกรอง HbE	มี HbE	ไม่มี HbE	รวม
ผลบวก	124	2	126
ผลลบ	1	292	293
รวม	125	294	419

ความไว 124/125 x 100 = 99.2 %
ความจำเพาะ 292/294 x 100 = 99.3 %
ค่าการทำนายผลบวก 124/126 x 100 = 98.4 %
ค่าการทำนายผลลบ 292/293 x 100 = 99.7 %

ตารางที่ 4 ลักษณะจีนของผู้ที่เป็นธาลัสซีเมียในกลุ่มประชากรที่ให้ผลการตรวจคัดกรองด้วย KKU-OF/KKU-DCIP-Clear เป็น (+/-) จำนวน 45 รายจาก 419 ราย

Genotypes	จำนวนประชากร (%)
Heterozygous α-thalassemia 1 (SEA deletion)	15 (3.6)
Heterozygous α-thalassemia 2 (3.7 Kb deletion)	9 (2.2)
Homozygous α-thalassemia 2 (3.7 Kb deletion)	1 (0.2)
Heterozygous $\alpha^{Constant\ Spring}$	1 (0.2)
Double heterozygous α-thalassemia 2 (3.7 Kb deletion) /$\alpha^{Constant\ Spring}$	1 (0.2)
Double heterozygous α-thalassemia 1 (SEA deletion)/$\alpha^{Constant\ Spring}$ and β^E/β^A	1 (0.2)
Heterozygous β-thalassemia	8 (1.9)
Non thalassemia	9 (2.2)





ภาพที่ 1 การตรวจหาจีน α-thalassemia 1 ชนิด SEA deletion ด้วยวิธี PCR (ก) เป็นแผนที่แสดงตำแหน่งและทิศทางของไพรเมอร์ที่ใช้ทำ PCR (ข) ตัวอย่างของผลการตรวจในคนปกติ (ช่องที่ 1) และ ในผู้ที่เป็นพาหะ α-tahlassemia 1 (ช่องที่ 2-4) M คือ λ-Hind III size markers