



ความชุกของธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบินของผู้มารับบริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย

จุฑารัตน์ น้อยเจริญ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)^{1*}

¹ ฝ่ายเวชศาสตร์ชั้นสูง โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย

* ผู้ติดต่อ, อีเมล: jutarat_mt9@hotmail.com

Vajira Med J. 2019; 63(1) : 55-64

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2019.5>

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อประเมินค่าความชุกของโรคธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบินในโรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา

วิธีดำเนินการวิจัย: การวิจัยนี้เป็นการวิจัยแบบบรรยายโดยการเก็บตัวอย่างเลือดจากในโรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา โดยตรวจคัดกรองด้วยวิธี CBC, OF/DCIP test และ Alpha Thalassemia IC Strip Test kit และแยกวิเคราะห์ชนิดของ Hemoglobin ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis และ HPLC ในช่วงเดือนมกราคม-ธันวาคม 2559 อาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 590 คน ซึ่งแบ่งเป็น หญิง 222 คน ชาย 368 คน และค่าเฉลี่ยอายุเท่ากับ 47.63 ปี เมื่อตรวจ OF และ DCIP

ผลการวิจัย: ความชุกของพาหะโรคธาลัสซีเมีย พบพาหะฮีโมโกลบินอี ร้อยละ 29.2 และ EE โฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี 23 ร้อยละ 3.9 พาหะฮีโมโกลบิน EE/EF ร้อยละ 2.2 และพาหะอัลฟ่า – ธาลัสซีเมีย ร้อยละ 0.2 การตรวจกรองพาหะแอลฟ่าธาลัสซีเมียด้วย α -thalassemia IC strip test พบผลเป็นบวกร้อยละ 63.2 และการทำ Hb typing ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis และยืนยันด้วยวิธี HPLC ในรายที่สงสัย พบผลไม่ปกติหรือเป็นธาลัสซีเมีย ร้อยละ 38.8 โดยเป็นเบต้าธาลัสซีเมีย ร้อยละ 35.2 และเป็นแอลฟ่าธาลัสซีเมีย ร้อยละ 3.6

สรุป: ความชุกของภาวะธาลัสซีเมีย และความผิดปกติของฮีโมโกลบินโดยทำการตรวจกรองหาภาวะธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบินด้วยวิธี CBC, OF, DCIP, α -thalassemia IC strip test และแยกวิเคราะห์ชนิดของ Hemoglobin ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis และ HPLC เพื่อเป็นแนวทางให้อาสาสมัครผู้ที่ เป็นพาหะธาลัสซีเมียได้รับคำปรึกษาในการวางแผนครอบครัวและลดอุบัติการณ์การเกิดโรคธาลัสซีเมียในอนาคต

คำสำคัญ: ความชุก ธาลัสซีเมีย ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน การคัดกรองธาลัสซีเมีย



Prevalence of Thalassemia and Hemoglobinopathy in the Users of Thalassemia Screening Service at Queen Savang Vadhana Memorial Hospital, The Thai Red Cross Society.

Jutarat Noicharoen B.Sc. (Med. Tech.)

Department of Laboratory Medicine, Queen Savang Vadhana Memorial Hospital, Chonburi, Thailand

* Corresponding author, e-mail address: jutarat_mt9@hotmail.com

Vajira Med J. 2019; 63(1) : 55-64

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2019.5>

Abstract

Objective: of the descriptive research is to study prevalence of Thalassemia and Hemoglobinopathy in the users of Thalassemia screening service at Queen Savang Vadhana Memorial Hospital.

Methods: The Thai Red Cross Society. In Thalassemia and Hemoglobinopathy screening, CBC, OF, DCIP, and α -thalassemia IC strip test were used to examine and separate for analysis of types of Hemoglobin with Cellulose acetate electrophoresis and HPLC. The size of samples was calculated from prevalence of the latest research where prevalence of Thalassemia in the users of Thalassemia screening service was detected in the rate of 35.89% using formula of $n = z^2 \cdot p \cdot (1-p) / d^2$. At least 181 persons were acquired as the size of samples. The sample group in this research was all users of Thalassemia screening service in 2016.

Results: The finding of studying results Prevalence of thalassemia carriers Hemoglobin E, 29.2% and EE homocysts, hemoglobin E 23, 3.9%, hemoglobin carriers, EE / EF, 2.2% and alpha-thalassemia carriers 0.2. The finding from screening of α -thalassemia carrier with α -thalassemia IC strip test indicated positive results for 63.2%. Hb typing was conducted with Cellulose acetate electrophoresis Method and confirmed with HPLC Method. In suspicious cases, the finding indicated abnormal results or being Thalassemia diseased for 38.8% consisting of Beta-thalassemia diseased for 35.2% and Alpha-thalassemia for 3.6%.

Conclusion : Prevalence of thalassemia And hemoglobin disorders by screening. CBC, OF, DCIP, α -thalassemia IC strip test and hemoglobin assay using cellulose acetate electrophoresis and HPLC to guide volunteers. Thalassemia carriers were counseled to plan their family and reduce the incidence of thalassemia in the future.

Keywords: Prevalence, Thalassemia, Hemoglobinopathy, Thalassemia Screening

บทนำ

โรคธาลัสซีเมีย เป็นโรคโลหิตจางเรื้อรังทางพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสร้างสายโกลบิน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ผู้ที่มียีนธาลัสซีเมีย มีทั้งผู้ที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ผู้ที่เป็นโรคจะมีอาการโลหิตจางเรื้อรังซึ่งมีความรุนแรงแตกต่างกัน ตั้งแต่มีอาการโลหิตจางเล็กน้อย โลหิตจางมาก ไปจนถึงอาการรุนแรงจนเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดาหรือหลังคลอดไม่นาน ความรุนแรงของโรคขึ้นกับชนิดของยีนผิดปกติที่ได้รับถ่ายทอดมาจากพ่อแม่ ส่วนผู้ที่ไม่เป็นโรคหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเป็นพาหะของโรค จะมีสุขภาพร่างกายแข็งแรงเช่นเดียวกับคนปกติทั่วไปแต่มียีนธาลัสซีเมียแฝงอยู่ในร่างกาย¹ ปัจจุบันโรคนี้เป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญของประเทศไทย โดยมีผู้ป่วยธาลัสซีเมียทั่วประเทศ ประมาณ 600,000 คน คิดเป็นร้อยละ 1 และมีผู้ที่เป็นพาหะประมาณ 25 ล้านคน (ร้อยละ 40)² โดยร้อยละ 20-30 ของประชากรเป็นพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย ร้อยละ 3 - 9 เป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย และยังพบยีนของฮีโมโกลบินผิดปกติในสายของเบต้าโกลบินในอัตราที่สูงเช่นกัน คือ ร้อยละ 30-50 เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (Hb E) โดยพบสูงที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ³ คนที่เป็นแอลฟาธาลัสซีเมีย เบต้าธาลัสซีเมีย คนที่มีฮีโมโกลบินอีหรือมีอาการบ่งชี้ว่าอาจเป็นพาหะของโรค สามารถถ่ายทอดโรคนี้สู่บุตรหลานได้ และมีความเสี่ยงสูงที่จะมีลูกที่เป็นโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย ซึ่งในแต่ละปีมีมารดาที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นธาลัสซีเมีย ประมาณ 50,000 ครรภ์ และมีเด็กเกิดใหม่เป็นธาลัสซีเมีย เพิ่มขึ้นประมาณ 12,125 คน ครั้งหนึ่งของจำนวนนี้จะเป็นชนิดรุนแรงต้องได้รับการรักษาตลอดชีวิต⁴ ซึ่งต้องเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาประมาณ 5,000-6,000 ล้านบาท สำหรับการรักษา แม้ว่าโรคนี้สามารถรักษาให้หายขาดได้โดยการปลูกถ่ายไขกระดูก แต่ไม่สามารถทำได้ทุกคน เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูงมากและต้องมีผู้บริจาคไขกระดูกที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย การรักษาโดยทั่วไปจึงเป็นการรักษาแบบประคับประคองตามอาการ ทำให้ผู้ป่วยและครอบครัวได้รับทุกขเวทนาทั้งร่างกายและจิตใจเป็นอย่างมาก การศึกษานี้เพื่อหาความชุกของธาลัสซีเมียและภาวะที่มีความผิดปกติของฮีโมโกลบิน ความสัมพันธ์ระหว่าง

ผลการตรวจ RBC count, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, OF, DCIP, และ Hb typing กับผลการตรวจ α -thalassemia IC strip test โรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอ เจ้าสุทนต์มณี ภาควิชาโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลศิริราช และเป็นการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจธาลัสซีเมีย IC strip test และผลการตรวจ Hb typing กับผลการตรวจ α -thalassemia IC strip test และผลการตรวจ Hb typing

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยแบบบรรยายโดยการเก็บตัวอย่างเลือดที่ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ด้วยวิธี CBC, OF/DCIP test และ α -thalassemia IC strip test และแยกวิเคราะห์ชนิดของ Hemoglobin ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis และ HPLC การวิจัยนี้ได้รับการรับรองด้านจริยธรรมจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา ฉบับที่ 16/2558 กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้รับบริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย ทุกราย ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2559

$$\text{คำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้สูตร } n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 P Q N}{Z_{\alpha/2}^2 P Q + N d^2}$$

ได้จำนวนตัวอย่างหญิงตั้งครรภ์ทั้งหมด 500 คน เจาะเลือดอาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัย นำตัวอย่างเลือดมาตรวจกรองภาวะโลหิตจาง โดยการทำ CBC ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ ไกลสเมียร์เลือด และย้อมสี Wright-Geimsa โดยสังเกตและรายงานความสมบูรณ์ รวมถึงลักษณะรูปร่างเม็ดเลือดแดงจากสเมียร์เลือดที่ได้ ตรวจกรองธาลัสซีเมียและ Hemoglobinopathies โดยวิธี OF และ DCIP ตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี Cellulose acetate membrane และในรายที่ไม่สามารถแปลผลได้ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis จะส่งตรวจยืนยันชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี HPLC ในกรณีที่ต้องการทราบผลแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 จะส่งตรวจ Polymerase Chain Reaction (PCR) ใช้เครื่องมือ CBC Automate, Centrifuge : Hettich / รุ่น EBA-21 / ประเทศเยอรมนี, Electrophoresis chamber, Power supply, Refrigerator, Vortex mixer : รุ่น Genie 2 model G 560E/ ประเทศสหรัฐอเมริกา, Water bath : Memmert / รุ่น WNB 22 / ประเทศเยอรมนี⁵

คำจำกัดความ

ธาลัสซีเมีย หมายถึง โรคโลหิตจางเรื้อรังทางพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสร้างสายโกลบินซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง แบ่งเป็นสองชนิด คือ α และ β thalassemia

ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน หมายถึง ภาวะที่มีความผิดปกติทางคุณภาพของ globin chain ได้แก่ Hb E เป็นความผิดปกติทางคุณภาพของสาย β globin chain และ Hb Constant Spring (HB CS) เป็นความผิดปกติทางคุณภาพของสาย α globin chain

อุปกรณ์ ได้แก่ Autopipette, Beaker, Cellulose acetate membrane, Dropper, EDTA tube, Parafilm, Rack, Slide, Syringe, Tip, Test tube

สารเคมี และน้ำยาทดสอบ ได้แก่ Absolute methanol, Alpha Thalassemia IC Strip Test kit ชุดตรวจหาพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย : GPO Alpha Thal/ องค์การเภสัชกรรม/ ประเทศไทย, Carbon tetrachloride (CCl₄), KCU-DCIP reagent kit, KCU-OF reagent kit, Normal Saline, Ponceau S, Wright-Giemsa stain, น้ำกลั่น

วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ OF และ DCIP

One tube osmotic fragility (OF test) ใช้น้ำยา KCU- OF Reagent 2 ml / test เก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือ 4 °C โดยวิธีการทดลองมี 2 ขั้นตอนหลัก คือ 1) เติมน้ำยา Whole blood ที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ลงใน tube น้ำยา KCU- OF จำนวน 20 μ L และ 2) ผสมโดยกลับหลอดทดลองไปมาและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 15-30 นาที แล้วอ่านผลโดยทั่วไปเม็ดเลือดแดงของคนปกติจะแตกหมดให้สารละลายใส อ่านผลได้เป็นลบ (negative) แต่เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียและผู้เป็นพาหะบางชนิดจะไม่แตกหมด มีเซลล์เหลืออยู่ทำให้สารละลายขุ่นอ่านผลเป็นบวก (positive) การที่เม็ดเลือดแดงแตกง่าย (increase osmotic fragility) หรือแตกยาก (decreased osmotic fragility) ขึ้นอยู่กับพื้นที่ผนังเซลล์ต่อความเข้มข้นของสารภายในเซลล์ ซึ่งส่วนใหญ่คือ hemoglobin จึงนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียได้อย่างคร่าวๆ

Dichlorophenol indophenol (DCIP)

precipitation test ใช้น้ำยา KCU-DCIP-Clear Reagent ปริมาตร 50 mL จำนวน 4 ขวด เก็บที่ 4 °, KCU-DCIP Diluent ปริมาตร 1.4 mL จำนวน 2 ขวด เก็บที่ 4 °C และ Clearing Solution ชนิดผง จำนวน 4 ขวด เก็บที่ 4 °C ละลายผงน้ำยาด้วย KCU-DCIP diluent 600 μ L โดยวิธีการทดลอง ดังนี้

1. เติมน้ำยา KCU-DCIP-Clear Reagent ในหลอดที่เตรียมไว้ 2 mL
2. เติมน้ำ Whole blood ที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง 20 μ L ดูดน้ำยาล้างเลือดที่ติดค้างอยู่ใน tip ออกให้หมด
3. ปิดฝาหลอดและผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดทดลอง 3-4 ครั้ง
4. นำไปอุ่นใน water bath ที่ 37 °C นาน 15 นาที เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องทันที
5. เติมน้ำ Clearing Solution ลงไป 20 μ L ผสมให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที
6. อ่านผลการทดลอง

โดยทั่วไปฮีโมโกลบินอี เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 26 ในสาย เบต้าโกลบินเปลี่ยนจาก กรดกลูตามิก (Glu) ไปเป็น ไลซีน (Lys) (HbE : glu $\rightarrow$ lys) ซึ่งไปมีผลทำให้พันธะที่ยึดระหว่างสายแอลฟา-โกลบินกับเบต้า-โกลบินเหนียวแน่นน้อยลงฮีโมโกลบินที่ควรอยู่ในรูปของเตตระเมอร์ (Tetramer) จึงหลุดออกจากกันอยู่ในรูปของโมโนเมอร์ ตกตะกอนลงมา ฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียรอื่นๆ (unstable Hb) เช่น ฮีโมโกลบินเอช ฮีโมโกลบินบาร์ทส์ ก็สามารถถูกออกซิไดซ์ให้ตกตะกอนได้ด้วยวิธีนี้

จากนั้นจะเจือจางตัวอย่างที่เข้ารับการวิจัย นำตัวอย่างเจือจางมาตรวจกรองภาวะโลหิตจาง โดยการทำการ CBC ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ ไกลสเมียร์ เลือด และย้อมสี Wright-Giemsa โดยสังเกตและรายงานความสมบูรณ์ รวมถึงลักษณะรูปร่างเม็ดเลือดแดงจากสเมียร์เลือดที่ได้ตรวจกรองธาลัสซีเมียและ Hemoglobinopathies โดยวิธี OF และ DCIP ดังที่กล่าวข้างต้น ตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี Cellulose acetate membrane และในรายที่ไม่สามารถแปลผลได้ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis จะส่งตรวจยืนยันชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี HPLC ในกรณีที่ต้องการทราบผลแอลฟาธาลัสซีเมีย 1

จะส่งตรวจ Polymerase Chain Reaction (PCR) วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป สถิติแบบบรรยายใช้การแจกแจงความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจ RBC count, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, OF, DCIP, และ Hb typing กับผลการตรวจ α -thalassemia IC strip test ใช้ Chi-square, Odd ratio และ 95% Confidence interval โดยกำหนดค่าความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ความชุกของพาหะโรคธาลัสซีเมีย พบพาหะฮีโมโกลบินอี ร้อยละ 29.2 และ EE ฮีโมโกลบินอี 23 ร้อยละ 3.9 พาหะฮีโมโกลบิน EE/EF ร้อยละ 2.2 และพาหะอัลฟา - ธาลัสซีเมีย ร้อยละ 0.2

ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน (Hb) และค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hct) ชายมากกว่าหญิง ต่ำกว่าปกติ ร้อยละ 24.24 และ ร้อยละ 23.56

ค่าเฉลี่ยปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) ต่ำกว่า 27 pg ร้อยละ 44.0 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCHC) ต่ำกว่า 32 g/dL ร้อยละ 3.05 และค่าเฉลี่ย red blood cell distribution width (RDW) มากกว่า 16 % ร้อยละ 11.86 ดังตารางที่ 1

ความผิดปกติของฮีโมโกลบิน

การตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินที่ผิดปกติด้วยวิธี OF และ DCIP test พบว่า ปกติ 214 คน คิดเป็นร้อยละ 36.27, ผลการตรวจวิธี OF เป็นลบ แต่ DCIP เป็นบวก (-/+) 107 คน คิดเป็นร้อยละ 18.14, ผลการตรวจวิธี OF เป็นบวก แต่ DCIP เป็นลบ (+/-) 0 คน คิดเป็นร้อยละ 0.00, ผลการตรวจวิธี OF และ DCIP เป็นบวก (++) 266 คน คิดเป็นร้อยละ 45.08

การตรวจกรองพาหะแอลฟาธาลัสซีเมียด้วยชุดตรวจ α -thalassemia IC strip test ซึ่งเป็นวิธีการตรวจคัดกรอง α -thalassemia trait เชิงคุณภาพไม่สามารถแยก α -thal-1 trait กับ α -thal-2 trait ในกลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCV ผิดปกติ 590 ราย ได้พบว่าให้ผลเป็นลบ 217 คน (ร้อยละ 36.8) และให้ผลเป็นบวก 373 คน (ร้อยละ 63.2)

ตารางที่ 1:

ผลการตรวจคัดค้นเม็ดเลือดแดงในประชากร (n = 590)

Parameter (จำนวนคน)	ค่าปกติ	Mean $\pm$ SD	ค่าที่ผิดปกติ	จำนวนคนที่มีค่าผิดปกติ (%)
RBC count (Male 222 คน)	4.5-6.0 $\times 10^{12}/L$	4.80 $\pm$ 0.73	<4.5 $\times 10^{12}/L$	77 (13.05)
RBC count (Female 368 คน)	4.0-5.5 $\times 10^{12}/L$	4.76 $\pm$ 0.70	<4.0 $\times 10^{12}/L$	40 (6.78)
Hb (Male 222 คน)	14-18 g/dL	13.58 $\pm$ 8.55	<14 g/dL	143 (24.24)
Hb (Female 368 คน)	12-16 g/dL	13.12 $\pm$ 6.41	<12 g/dL	126 (21.36)
Hct (Male 222 คน)	40-52%	40.83 $\pm$ 32.53	< 40 %	139 (23.56)
Hct (Female 368 คน)	37-47%	38.07 $\pm$ 16.93	<37 %	188 (31.86)
MCV (590 คน)	80-100 fL	80.04 $\pm$ 26.25	<80 fL	261 (44.24)
MCH (590 คน)	27-33 pg	27.19 $\pm$ 3.48	<27 pg	260 (44.07)
MCHC (590 คน)	32-36 g/dL	34.92 $\pm$ 13.24	<32 g/dL	18 (3.05)
RDW (590 คน)	11-16 %	14.43 $\pm$ 5.61	>16 %	70 (11.86)

การตรวจยืนยันโดยการตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบิน ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis หรือวิธี HPLC

การทำ Hb typing ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis และยืนยันด้วยวิธี HPLC ในรายที่สงสัย พบว่ามีผลเป็นปกติ A2A จำนวน 361 ราย (ร้อยละ 61.2) และมีผลไม่ปกติ จำนวน 229 ราย (ร้อยละ 38.8) โดยเป็น แอลฟาธาลัสซีเมีย จำนวน 21 ราย (ร้อยละ 3.6) และเป็น เบต้าธาลัสซีเมีย จำนวน 208 ราย (ร้อยละ 35.2)

ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงกับการผลการตรวจ α -thalassemia IC strip test

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง ได้แก่ RBC count, Hb, Hct, MCV, MCH,

MCHC, RDW, OF, DCIP, และ Hb typing กับผลการตรวจ α -thalassemia IC strip test โดยหาค่า Odds ratio พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCV < 80 fL มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCV $\geq$ 80 fL 26.17 เท่า (95% CI: 15.89-43.11, $p < 0.001$), กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCH < 27 pg มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCH $\geq$ 27 pg 10.91 เท่า (95% CI: 7.32-16.24, $p < 0.001$) และกลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCHC < 32 g/dL มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive น้อยกว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCHC $\geq$ 32 g/dL 0.10 เท่า (95% CI: 0.01-0.73, $p = 0.003$) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2:

ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงกับการผลการตรวจ α - thalassemia IC strip test

ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง	α -thalassemia IC strip test		Total	Odds ratio (95% CI)	P
	Positive	Negative			
RBC male (x10 ¹² cells/L)					
< 4	8	32	40	0.39 (0.17-0.86)	0.011*
≥ 4	129	199	328		
Total	137	231	368		
Hb female (g/dL)					
< 14	61	82	143	2.48 (1.33-4.62)	0.003*
≥ 14	19	60	79		
Total	80	142	222		
Hb male (g/dL)					
< 12	59	67	126	1.84 (1.18 - 2.86)	0.013*
≥ 12	79	163	242		
Total	138	230	368		
Hct female (%)					
< 40	61	78	139	2.74 (1.5 - 5.10)	0.001*
≥ 40	18	65	83		
Total	79	143	222		
Hct male (%)					
< 37	88	100	188	2.33 (1.51 - 3.61)	<0.001*
≥37	49	131	180		
Total	137	231	368		

ตารางที่ 2:

ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงกับผลการตรวจ α - thalassemia IC strip test (ต่อ)

ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง	α -thalassemia IC strip test		Total	Odds ratio (95% CI)	P
	Positive	Negative			
MCV (fL)					
< 80	194	94	288	26.17 (15.90-43.11)	<0.001*
≥ 80	22	279	301		
Total	216	373	589		
MCH (pg)					
< 27	169	91	260	10.91 (7.33-16.25)	<0.001*
≥ 27	48	282	330		
Total	217	373	590		
MCHC (g/dL)					
< 32	1	17	18	0.10 (0.01 - 0.73)	0.003*
≥ 32	216	355	571		
Total	217	372	589		
RDW (%)					
< 12	0	11	11	1.60 (1.50 - 1.70)	0.006*
≥ 12	216	362	578		
Total	216	373	589		

*= Significant difference

สำหรับค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hb male < 14 g/dL มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hb male ≥ 14 g/dL 2.48 เท่า (95% CI: 1.33-4.62, $p=0.003$), กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hb female < 12g/dL มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hb female ≥ 12 g/dL 1.84 เท่า (95% CI: 1.18-2.86, $p=0.013$) ส่วนค่า Hct พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hct male < 40 % มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hct male ≥ 40 % 2.74 เท่า (95% CI: 1.47-5.10, $p=0.001$),

กลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hct female < 37 % มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีค่า Hb female ≥ 37 % 2.33 เท่า (95% CI: 1.51-3.61, $p<0.001$) ซึ่งประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรอง α -thalassemia โดยพิจารณาจากค่า MCV ร่วมกับค่า RDW เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วและมีความถูกต้อง แม่นยำสูง ทั้งยังคำนวณค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงได้ด้วยค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงจึงเป็นค่าที่มีประโยชน์ในการช่วยประกอบ การวินิจฉัยภาวะโลหิตจางในปัจจุบันจึงอาจส่งผลให้การคัดกรองแม่นยำกว่าวิธี OF และ DCIP test

การอภิปรายผล

ความชุกของพาหะโรคธาลัสซีเมีย พาหะฮีโมโกลบินอี ร้อยละ 29.2 และ EE โหโมไซกัสฮีโมโกลบินอี 23 ร้อยละ 3.9 พาหะฮีโมโกลบิน EE/EF ร้อยละ 2.2 และพาหะอัลฟา - ธาลัสซีเมีย ร้อยละ 0.2 ใกล้เคียงกับ วิลาวรรณ์ ปาลี⁶ พบหญิง ตั้งครรภ์พาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมีย (beta thalassemia trait) ร้อยละ 6.15 ฮีโมโกลบิน อีเทรต (Hb E trait) ร้อยละ 15.64 และโหโมไซกัส ฮีโมโกลบิน อี (Homozygous Hb E) ร้อยละ 1.68 แตกต่างกับสนั่น ชื่นตาและคณะ⁷ ที่พบ ความชุกของปิตาธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินในหญิงตั้งครรภ์ ผิดปกติร้อยละ 38.87 และ การศึกษาความชุกของโรคธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์ที่ภาคเหนือของประเทศไทยที่รายงาน เมื่อไม่นานนี้ โดยพบว่าหญิงตั้งครรภ์ 409 ราย มีความชุกของ โรคธาลัสซีเมียร้อยละ 35.9⁸ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้ ยังไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากการศึกษาใช้วิธี Cellulose acetate electrophoresis และ/หรือยืนยันด้วยวิธี HPLC ส่วนการศึกษาที่ผ่านมาใช้วิธี PCR แต่ทั้งสองการศึกษาพบความชุกของโรคธาลัสซีเมีย ในหญิงตั้งครรภ์ที่มากกว่าร้อยละ 35.9 ซึ่งเป็นอัตราที่พบ ได้มาก อาจจะมีผลทำให้เกิดทารกที่เป็นธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของทารกที่จำเป็นต้องได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลอย่างต่อเนื่อง มีค่าใช้จ่ายในการรักษา มากและมีผลต่อความเป็นอยู่ เศรษฐกิจและสังคมของ ครอบครัว ดังนั้นจึงควรมีการให้คำปรึกษาและตรวจคัดกรอง โรคธาลัสซีเมียในประชากรไทยตั้งแต่ยังเด็ก ก่อนที่จะมีการ แต่งงานและตั้งครรภ์ ซึ่งน่าจะลดอุบัติการณ์การเกิดโรคธาลัสซีเมียได้ผลดีกว่าการคัดกรองเมื่อตั้งครรภ์แล้ว

การตรวจคัดกรองและวินิจฉัยในหญิงตั้งครรภ์ของ โรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย มีวัตถุประสงค์เพื่อเพื่อคัดกรอง คู่สามีภรรยาที่มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย สามารถใช้ค่า MCV แทนการตรวจ Osmotic fragility test (OF)⁹ โดยค่าพารามิเตอร์ MCV ในการศึกษาพบว่ามีคน ที่พบความผิดปกติจำนวน 261 รายหรือร้อยละ 44.2 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทำ Hb typing ที่ได้ผลผิดปกติ 229 รายหรือร้อยละ 38.8 ดังนั้นการตรวจคัดกรองวิธีแรกคือการ ตรวจด้วย CBC โดยใช้ค่าพารามิเตอร์ MCV หรือ Osmotic fragility test (OF) สำหรับการตรวจคัดกรองพาหะของ

อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 รวมถึงพาหะเบต้าธาลัสซีเมียและ Dichlorophenolindophenol Precipitation (DCIP) สำหรับการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินชนิดอี ในกรณีห้อง ปฏิบัติการใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติสำหรับตรวจ นับหาค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง RBC count, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC และ RDW นั้น

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจค่าดัชนี เม็ดเลือดแดงกับการผลการตรวจ ประกอบด้วย RBC count, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, OF, DCIP, และ Hb typing กับผลการตรวจ α -thalassemia IC strip test โดย หาค่า Odds ratio พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCV < 80 fL มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่า กลุ่มประชากรที่มีค่า MCV $\geq$ 80 fL, กลุ่มกลุ่ม ตัวอย่างที่มีค่า MCH < 27 pg มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่ากลุ่ม ประชากรที่มีค่า MCH $\geq$ 27 pg และกลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCHC < 32 g/dL มีโอกาสพบผล α -thalassemia IC strip test เป็น positive มากกว่า กลุ่มประชากรที่มีค่า MCHC $\geq$ 32 g/dL ดังนั้นการตรวจ MCV, MCH และ MCHC อาจนำมา ใช้ร่วมในการตรวจกรองเพื่อหาพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย ได้ อย่างไรก็ตาม ผู้ที่เป็นพาหะแอลฟาธาลัสซีเมียอาจมี ลักษณะของเม็ดเลือดแดงปกติ และกลุ่มที่มีค่า MCV < 80 fL, MCH < 27 pg และ MCHC < 32 g/dl บางรายเมื่อตรวจด้วย วิธี α -thalassemia IC strip test กลับพบว่าให้ผล negative สอดคล้องกับงานวิจัยของ กรวัณน์ สีใส และคณะ¹⁰ ที่ศึกษา ความสัมพันธ์ของผลการตรวจ OF, DCIP, MCV, MCH และ MCHC กับการเกิด gene deletion พบว่า กลุ่มที่ให้ผล MCH < 27 pg และ MCHC < 32 g/dl มีโอกาสที่จะพบ α -thal 2 trait ($\alpha\alpha$ / $-\alpha$ ^{3,7}) มากกว่า กลุ่มที่ให้ผล MCH $\geq$ 27 pg และ MCHC $\geq$ 32 g/dl ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ คมสัน อยู่เย็น⁹ ศึกษา Cut off ของ MCV และ MCH ที่เหมาะสมต่อการ คัดกรอง α -thalassemia 1 trait และปิตาศูนย์-ธาลัสซีเมีย เมื่อวิเคราะห์อัตราผลบวกปลอมของการใช้ค่า cut off ใหม่ คือ MCV < 78 fl และ MCH < 25 pg เทียบกับค่า cut off เดิม ที่ใช้อยู่ คือ MCV < 80 fl และ MCH < 27 pg พบว่ามีอัตรา ผลบวกปลอมโดยเฉลี่ยลดลงร้อยละ 25 เมื่อใช้ค่า MCV และ ร้อยละ 33 เมื่อใช้ค่า MCH

พาหะแอลฟาธาลัสซีเมียตรวจวินิจฉัยได้ยากโดยเฉพาะในแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งจะมีผลการตรวจด้วยวิธีมาตรฐานเหมือนคนปกติแทบทุกอย่างและมักจะไม่มีแสดงอาการ แต่มีความสำคัญทางคลินิก เนื่องจากทำให้เกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง เช่น Bart's hydrops fetalis ดังนั้นการตรวจกรองโดยวิธี MCV, MCH และ MCHC จึงมีความสำคัญกับการตรวจพบพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมียและควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้มีความจำเพาะมากขึ้น จะส่งผลให้สามารถประหยังบประมาณและทำให้การดำเนินงานเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

การตรวจคัดกรองหาภาวะธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบิน เป็นการตรวจคัดกรองในเบื้องต้นเท่านั้น ยังไม่สามารถบ่งชี้ว่ากลุ่มประชากรที่ศึกษานี้มีภาวะธาลัสซีเมียจริงหรือไม่แต่การตรวจคัดกรองหาภาวะธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบินมีประโยชน์ช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย เพื่อเป็นแนวทางให้อาสาสมัครผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียได้รับคำปรึกษาในการวางแผนครอบครัวและลดอุบัติการณ์การเกิดโรคธาลัสซีเมียในอนาคต

ความชุกของภาวะธาลัสซีเมียและความผิดปกติของฮีโมโกลบิน ในประชากรในโรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าบรมวงศ์เธอ เจ้าฟ้าจุฬาภรณวลัยลักษณ์ อัครราชกุมารี นครราชสีมา สามารถช่วยในการตรวจวินิจฉัยและป้องกันคู่สมรสที่มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยควบคุมการเกิดโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทยได้

ผลประโยชน์ทับซ้อน (Conflict of Interest)

นิพนธ์ต้นฉบับนี้ผู้เขียนไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนใดๆ ตลอดการดำเนินการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณหญิงตั้งครุฑเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในการวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณผู้บริหารโรงพยาบาลและ

เจ้าหน้าที่ฝ่ายเวชศาสตร์ชั้นสูงตร โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา ที่ให้ความร่วมมือในการศึกษานี้ และขอขอบพระคุณ ดร.ชินุทัต ยี่เขียน ที่ให้คำปรึกษาและให้ข้อเสนอแนะในการเขียนบทความ

เอกสารอ้างอิง

1. Somchai Saengkitporn, Siripakorn Saengkitporn. Thalassemia Genetically engineered anemia. Bangkok: Finisher Company Limited, 2009. p. 21-23.
2. Sathian Suksananan. Diagnosis of thalassemia carrier Bangkok: The Thalassemia Foundation of Thailand. Available at: <http://www.thalassemia.or.th/thaiversion/carrier-th.htm>. Retrieved April 7, 2013.
3. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in Southeast Asia: problem and strategy for prevention and control. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1992; 23: 647-55.
4. Uravan Surin et al., Thalassemia and Iron Deficiency in Positive Population of OF Test and KKKU-DCIPC Lear. Journal of Hematology and Transfusion Medicine 1997; 2: 111-8.
5. Ampaipan Juansamrit. A comparison between Thalassemia Screening Test and Hb Typing. Journal of Hematology and Transfusion Medicine 1997; 9: 49-52.
6. วิลาวรรณ ปาลี. อุบัติการณ์พาหะธาลัสซีเมียในการตรวจคัดกรองคู่สามีภรรยาที่มาฝากครรภ์ โรงพยาบาลสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่. 2551.
7. สนั่น ชื่นตา. อุบัติการณ์พาหะเบต้าธาลัสซีเมีย โรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในโรงพยาบาลยโสธร. ยโสธรเวชสาร. 2542
8. Pharephan S, Sirivatanapa P, Makonkawkeyoon S, Tunitwechapikul W, Makonkawkeyoon L. Prevalence of α -thalassaemia genotype in pregnant women in northern Thailand. Indian J Med Res. 2016; 143: 315-22.

9. Khomsan yooyen. Cut off MCV and MCH Appropriate for screening α -thalassemia and β -thalassemia: Information from 4 community hospitals in the Northeast. Journal of Medical Technology and Physical Therapy 2011; 2: 28-37.
10. กรวัฒน์ สีส, จักรพันธุ์ รุณเจริญ, จินตนา ศิริวารินทร์, พงศธร ชานุเนตร. การศึกษาพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย โดยเทคนิค Multiplex PCR ในหมู่บ้านตำแย อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต. 2554.