นิพนธ์ต้นฉบับ

ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง ในจังหวัดนครศรีธรรมราช

สิทธิชัย ปัญญาใส[1]
สนธยา ชีช้าง[2]

The efficiency of screening for carriers of severe thalassemia in three community hospitals in Nakhon Si Thammarat province, Thailand

Panyasai S[1], Cheechang S[2].
[1]Division of Hematology and Clinical Microscopy, Department of Medical Technology, School of Allied Health Sciences, Naresuan University Phayao, Maeka, Muang, Phayao, 56000, Thailand
[2]Division of Clinical Pathology, Sichon Hospital, Sichon, Nakhon Si Thammarat, 80120, Thailand
Songkla Med J 2009;27(1):61-72

[1]แขนงวิชาโลหิตวิทยาและจุลทรรศนศาสตร์คลินิก สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา ต.แม่กา อ.เมือง จ.พะเยา 56000
[2]กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลสิชล อ.สิชล จ.นครศรีธรรมราช 80120
รับต้นฉบับวันที่ 2 เมษายน 2551 รับลงตีพิมพ์วันที่ 16 มกราคม 2552

Abstract:

Screening methods for thalassemia carriers which have been widely used in Thailand include the Osmotic Fragility Test (OFT) and Dichlorophenol-indophenol precipitation test (DCIP). Both methods have been shown to be effective for screening of severe thalassemia carriers including α-thalassemia 1, β-thalassemia and hemoglobin E (HbE). There has been some concern about the efficacy of thalassemia testing in smaller hospitals in Thailand. Effective screening of potential thalassemia carriers in community hospitals can lead to improved prevention and control of this serious disease. The objective of this study was to determine the efficiency of thalassemia screening at three community hospitals in Nakhon Si Thammarat province. Three hundred and fifty nine pregnant women who attended an anti-natal care clinic were studied. All subjects were screened at these three community hospitals using the OFT and DCIP tests. Hb types and quantifications were performed using cellulose acetate electrophoresis and microcolumn chromatography to identify β-thalassemia carriers. α-thalassemia 1 carriers (SEA and THAI deletions) were identified by PCR. It was found that the overall efficiency of thalassemia screening at these three community hospitals was 58.8%. Fifty-one severe thalassemia carriers were identified. Thirty cases screened positive and 21 cases screened negative. Among the 21 screening negative cases, 2 α-thalassemia 1 carriers (SEA deletion), 2 β-thalassemia carriers and 17 subjects with Hb E were identified. The findings indicate that screening for severe thalassemia carriers at these three community hospitals in Nakhon Si Thammarat province are not effective and need further improvement.

Key words: *efficiency, thalassemia carriers, screening test*

บทคัดย่อ:

การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย ใช้การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว (OF test) ร่วมกับการตกตะกอนฮีโมโกลบินด้วย DCIP เป็นหลัก ซึ่งมีประสิทธิภาพดีต่อการคัดกรองพาหะธาลัสเมียชนิดรุนแรงคือพาหะ α-thalassemia 1, β-thalassemia และ HbE ดังนั้นหากการตรวจคัดกรองในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลมีประสิทธิภาพดีด้วย ก็จะทำให้การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทยประสบผลสำเร็จ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่งในจังหวัดนครศรีธรรมราช โดยผลการตรวจคัดกรองด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป OF และ DCIP ในแต่ละโรงพยาบาลของกลุ่มหญิงตั้งครรภ์ที่เข้ารับบริการตรวจหาพาหะธาลัสซีเมียจำนวน 359 ราย ถูกตรวจยืนยันพาหะ β-thalassemia และ α-thalassemia 1 โดยตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินด้วยเทคนิค cellulose acetate electrophoresis, microcolumn chromatography และ PCR ตามลำดับ ผลการศึกษา พบว่าโรงพยาบาล ชุมชนมีประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงร้อยละ 58.8 ในจำนวนพาหะธาลัสซีเมีย ชนิดรุนแรงทั้ง 51 ราย ตรวจคัดกรองให้ผลเป็นบวก 30 ราย ให้ผลเป็นลบ 21 ราย ในจำนวนนี้เป็นพาหะ α-thalassemia 1(SEA type) 2 ราย, β-thalassemia 2 รายและ HbE 17 ราย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจ คัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชนยังมีประสิทธิภาพน้อยมาก จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาหา

สาเหตุของข้อผิดพลาด และหาแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงวิธีการตรวจคัดกรองในห้องปฏิบัติการ ในโรงพยาบาลชุมชนให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย ประสบผลสำเร็จ

คำสำคัญ: *การตรวจคัดกรอง, ประสิทธิภาพ, พาหะธาลัสซีเมีย*

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นชื่อโรคโลหิตจางชนิดหนึ่งที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม เนื่องจากมีความผิดปกติของดีเอ็นเอที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการสังเคราะห์สายโกลบิน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง เกิดจากผู้ป่วยได้รับการถ่ายทอดยีนธาลัสซีเมียมาจากทั้งพ่อและแม่ และจะมีอาการแสดงทางคลินิก คือ มีภาวะซีดเรื้อรัง ต้องได้รับการดูแลรักษาอย่างสม่ำเสมอส่วนผู้ที่เป็นพาหะของโรค คือ มียีนธาลัสซีเมียแฝง ซึ่งจะไม่มีอาการแสดงทางคลินิกมีสุขภาพดีเหมือนคนปกติทั่วไป

ในปัจจุบันประเทศไทยมีผู้ป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมียที่ต้องได้รับการดูแลรักษา ร้อยละ 1 ของประชากรทั้งประเทศหรือประมาณ 600,000 ราย และมีผู้เป็นพาหะของโรคประมาณร้อยละ 30-40 ของประชากรทั้งประเทศ[1] นับเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญที่ต้องการการควบคุมและป้องกัน แนวทางในการควบคุมและป้องกันโรคในประเทศไทยมีเป้าหมายเพื่อลดจำนวนผู้ป่วยเด็กเกิดใหม่ที่จะเป็นโรคชนิดรุนแรงลง โดยการให้ความรู้แก่ประชาชน การค้นหาพาหะสืบทอดโรคในกลุ่มประชาชนทั่วไปเพื่อให้ตัวเองได้ทราบว่าเป็นพาหะสืบทอดโรคหรือไม่ การให้คำปรึกษาพันธุศาสตร์ การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด ซึ่งแนวทางดังกล่าว มีขั้นตอนที่สำคัญที่สุดอยู่ที่การตรวจเลือด เพื่อค้นหาผู้เป็นพาหะสืบทอดโรค ดังนั้นการตรวจเลือดเพื่อวินิจฉัยธาลัสซีเมียให้ได้อย่างถูกต้องจึงนับเป็นสิ่งสำคัญของการดำเนินงานเพื่อการควบคุมและป้องกันโรค

ประเทศไทยได้มีนโยบายที่จะควบคุม และป้องกันโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิด[2-3] คือ homozygous α-thalassemia 1 (Hb Bart's hydrops fetalis), homozygous β-thalassemia และ β-thalassemia /HbE disease ดังนั้น เป้าหมายของการตรวจวินิจฉัย คือ การตรวจหาพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่สำคัญ คือ พาหะ α-thalassemia 1, พาหะ β-thalassemia และ พาหะ HbE การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอต้องใช้เครื่องมือและน้ำยาราคาแพง รวมทั้งต้องใช้ผู้มีความรู้ความชำนาญมาก จึงมีการพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองที่สามารถคัดกรองผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้อย่างครอบคลุมทุกชนิดให้ทำได้ง่าย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพงและบุคลากรที่มีความชำนาญมากนัก จะทำให้ลดจำนวนตัวอย่างที่จะต้องตรวจยืนยันต่อด้วยวิธีมาตรฐานได้ ในปัจจุบันมีวิธีการตรวจคัดกรองหลายวิธี เช่น การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง (Osmotic Fragility Test ; OFT), การตกตะกอนฮีโมโกลบินด้วยสาร Dichlorophenol-indophenol (DCIP), การตรวจวิเคราะห์ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ (MCV, MCH, MCHC, RDW) เป็นต้น ประสิทธิภาพของแต่ละวิธีก็มีความแตกต่างกันไป[4-8] ในประเทศไทยนิยมใช้ OFT ร่วมกับการทดสอบ DCIP เป็นหลัก โดย OFT สามารถใช้คัดกรองพาหะ α-thalassemia 1 และ β-thalassemia ได้เป็นอย่างดี และ DCIPสามารถใช้คัดกรอง HbE ทั้งชนิด heterozygote และ homozygote ได้เป็นอย่างดีเช่นกัน ดังนั้นเมื่อใช้ทั้ง 2 วิธีนี้ร่วมกันจะสามารถคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงทั้ง 3 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพ[9-10]

ปัจจุบันได้มีการผลิตเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปจำหน่าย ทำให้สะดวกต่อการตรวจคัดกรองเป็นอย่างมาก เช่น ชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP เป็นต้น จากการศึกษาประสิทธิภาพของชุดน้ำยาดังกล่าวในการใช้ตรวจ

คัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของ Sanchaisuriya และคณะ[11] พบว่ามีประสิทธิภาพสูง โดยมีค่าความไว ค่าความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ร้อยละ 100, 84.1, 84.5 และ 100 ตามลำดับ จึงมีการนำไปใช้อย่างแพร่หลายทั้งในระดับสถานีอนามัย โรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลทั่วไป โรงพยาบาลศูนย์หรือศูนย์สุขภาพต่าง ๆ แต่การนำวิธีการดังกล่าวไปใช้ตรวจในห้องปฏิบัติการในแต่ละโรงพยาบาลซึ่งมีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องต่อประสิทธิภาพของการตรวจ เช่น ตัวอย่างเลือดที่นำมาตรวจ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ รวมทั้งความละเอียดรอบคอบของผู้ปฏิบัติการเอง อาจจะทำให้ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองลดลง เป็นผลให้พาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงบางรายไม่ได้รับการวินิจฉัย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชน

วัสดุและวิธีการ

ศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง ในจังหวัดนครศรีธรรมราช เป็นโรงพยาบาลขนาด 120 เตียง จำนวน 2 แห่ง และขนาด 60 เตียงจำนวน 1 แห่ง ทำการศึกษาในกลุ่มหญิงตั้งครรภ์ที่เข้ามารับบริการฝากครรภ์ในโรงพยาบาลจำนวน 359 ราย หญิงตั้งครรภ์ทุกรายจะได้รับการตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ตามโปรแกรมการตรวจสุขภาพของหญิงตั้งครรภ์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการในแต่ละโรงพยาบาลจะทำการตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP ซึ่งการตรวจคัดกรองโดยชุดน้ำยาสำเร็จรูปในแต่ละโรงพยาบาลทำตามวิธีการตรวจที่แนบมาพร้อมกับชุดน้ำยา (leaflet) โดยไม่ทำ intor-rater liability ระหว่างห้องปฏิบัติการ จากนั้นตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจคัดกรองทุกราย พร้อมทั้งผลการตรวจที่ได้จะถูกส่งไปตรวจยืนยันเพื่อวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงด้วยวิธีมาตรฐาน ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยทางเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช

วิธีการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

ใช้วิธีการตรวจคัดกรอง 2 วิธีร่วมกัน โดยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF จะใช้สำหรับตรวจคัดกรองพาหะ α-thalassemia 1 และ β-thalassemia ซึ่งหลักการของวิธีนี้อาศัยการทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง โดยเม็ดเลือดแดงของคนปกติเมื่ออยู่ในน้ำยาจะเกิดการแตกได้อย่างสมบูรณ์ แต่เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียและพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจะแตกไม่หมด มีวิธีการทำคือ เติมน้ำยา KKU-OF ปริมาตร 2 มล. ในหลอดทดลองขนาด 13x75 มม. และเติมเลือดรวม (whole blood) ที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอดทดลองไปมาเบาๆ และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้วอ่านผลการทดสอบด้วยตาเปล่าโดยสังเกตความขุ่นของสารละลาย ผลลบ สารละลายจะใส ผลบวก สารละลายจะขุ่น[12] และชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-DCIP ใช้สำหรับตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินผิดปกติโดยเฉพาะ HbE ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่จัดเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิดหนึ่ง โดยมีหลักการคือ การใช้สารละลาย DCIP ตกตะกอนฮีโมโกลบินโดย HbE จะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นสายโกลบินสายเดี่ยวที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล อิสระ (-HS) ได้ง่ายและเร็วกว่าฮีโมโกลบินชนิดอื่นและถูกออกซิไดซ์ต่อจนตกตะกอนในสารละลาย มีวิธีการทำคือ เติมน้ำยา KKU-DCIP ปริมาตร 2 มม. ในหลอดทดลองขนาด 13x75 มม.และเติมเลือดรวมที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน โดยการกลับหลอดทดลองไปมาหลายๆ ครั้ง นำไปอุ่นใน อ่างน้ำที่อุณหภูมิ 37 ^{0}ซ นาน 15 นาทีพอดีพอครบเวลา แล้วนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องทันทีและเติม clearing solution ลงไป 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2-3 นาที แล้วอ่านผลการทดสอบด้วยตาเปล่าโดยสังเกตความขุ่นของสารละลาย ซึ่งผลลบ สารละลายจะใส ผลบวก สารละลายจะขุ่น[13]

ตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF และ KKU-DCIP เป็นบวกอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้ง 2 อย่าง (+/-, -/+, +/+) จะถูกแปลผลว่าตัวอย่างนั้นให้ผลเป็นบวกต่อการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงและตัวอย่างที่ให้ผลลบต่อการตรวจทั้ง 2 อย่าง (-/-) จะถูกแปลผลว่าตัวอย่างนั้นให้ผลเป็นลบต่อการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

การตรวจยืนยันเพื่อวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงด้วยวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่างเลือดทุกรายที่ผ่านการตรวจคัดกรองจากโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 3 แห่งแล้ว จะถูกนำมาตรวจยืนยันเพื่อวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงโดยการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และ KKU-minicolumn chromatography ตามลำดับเพื่อวินิจฉัยพาหะ β-thalassemia[14,15] จากนั้นตัวอย่างเลือดทุกรายจะถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวด้วยวิธีมาตรฐาน[16] และตรวจหายีน α-thalassemia 1 ทั้งชนิด SEA และ THAI ด้วยเทคนิค Gap-PCR[17,18]

ผลการศึกษา

ตัวอย่าง 359 ราย ที่ถูกตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โดยเจ้าหน้าที่ของห้องปฏิบัติการในแต่ละโรงพยาบาลทั้ง 3 แห่ง ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก 47 ราย (ตารางที่ 1) การตรวจยืนยันพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงด้วยวิธีมาตรฐาน พบเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงโดยรวม 51 ราย (ร้อยละ 14.2) กลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก 47 ราย ตรวจไม่พบยีนธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 17 ราย (ผลบวกลวง) และตรวจพบยีนธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 30 ราย (ผลบวกจริง) ส่วนในกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นลบ 312 ราย ตรวจไม่พบยีนธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 291 ราย (ผลลบจริง) และตรวจพบยีนธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 21 ราย (ผลลบลวง) (ตารางที่ 1) ผลลบลวง ร้อยละ 6.7 (21/ 312)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจคัดกรอง ชนิด และจำนวนของพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่ตรวจพบด้วยวิธีมาตรฐานในตัวอย่างจำนวน 359 ราย

พาหะธาลัสซีเมีย	ผลการตรวจคัดกรอง (OF/DCIP)				รวม
	+/-	-/+	+/+	-/-	
α-thalassemia 1 (SEA deletion) trait	0	0	0	2	2
β-thalassemia trait	5	0	0	2	7
Hb E	6	7	9	17	39
Hb EE	0	0	1	0	1
α-thalassemia 1 (SEA deletion) with β-thalassemia	1	0	0	0	1
α-thalassemia 1 (SEA deletion) with Hb E	1	0	0	0	1
normal or non-severe thalassemia*	14	3	0	291	308
รวม	**27**	**10**	**10**	**312**	**359**

*α-thalassemia 2 trait or Hb Constant Spring or Hb Pakse'

เป็นพาหะ α-thalassemia 1, Hb E heterozygote และพาหะ β-thalassemia ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 3 แห่ง แสดงเป็นค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ร้อยละ 58.8 (30/51), 94.4 (291/308), 63.8 (30/47), 93.3 (291/312) ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ความถูกต้องและความคลาดเคลื่อนของการตรวจคัดกรองโดยรวมของทั้ง 3 โรงพยาบาล ร้อยละ 89.4 (321/359) และ 10.6 (38/359) ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองโรงพยาบาลแห่งที่ 1 (ขนาด 60 เตียง) ตรวจค้นหาผู้เป็นพาหะธาลัสซีเมียทั้งหมด 31 ราย พบพาหะธาลัสซีเมียเพียงชนิดเดียว คือ Hb E heterozygote 2 ราย (ร้อยละ 6.5) ซึ่งให้ผลการตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP เป็น -/- ไม่พบยีนธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 29 ราย เมื่อคำนวณค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนาย ผลบวก และค่าการทำนายผลลบของการตรวจคัดกรอง ร้อยละ 0, 89.6, 0 และ 92.8 ตามลำดับ โรงพยาบาลแห่งที่ 2 (ขนาด 120 เตียง) ตรวจค้นหาผู้เป็นพาหะธาลัสซีเมียทั้งหมด 135 ราย พบพาหะธาลัสซีเมีย 26 ราย (ร้อยละ 19.3) โดยพบพาหะ β-thalassemia 3 ราย, พาหะ β-thalassemia ร่วมกับพาหะ α-thalassemia 1 1 ราย, Hb E heterozygote 20 ราย, Hb E heterozygote ร่วมกับพาหะ α-thalassemia 1 1 ราย และ Hb E homozygote 1 ราย ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบของการตรวจคัดกรองร้อยละ 84.6, 90.0, 64.7 และ 96.0 ตามลำดับ โรงพยาบาลแห่งที่ 3 (ขนาด 120 เตียง) ตรวจค้นหาผู้เป็นพาหะธาลัสซีเมียทั้งหมด 193 ราย พบพาหะธาลัสซีเมีย 23 ราย (ร้อยละ 11.9) โดยพบพาหะ α-thalassemia1 2 ราย, พาหะ β-thalassemia 4 ราย และ Hb E heterozygote 17 ราย ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบของการตรวจคัดกรอง ร้อยละ 34.8, 98.8, 80.0 และ 91.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 2 แสดงประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 3 แห่ง

ผลการตรวจคัดกรองใน	พาหะธาลัสซีเมีย		
โรงพยาบาลชุมชน (OF/DCIP)	ชนิดรุนแรง	ชนิดไม่รุนแรงหรือปกติ	รวม
Positive (+/-, -/+, +/+)	30	17	47
Negative (-/-)	21	291	312
รวม	**51**	**308**	**359**

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจคัดกรอง ชนิด และจำนวนของพาหะธาลัสซีเมียที่ตรวจพบด้วยวิธีมาตรฐานในแต่ละโรงพยาบาล

การตรวจคัดกรอง (OF/DCIP)	+/-	-/+	+/+	-/-	Hb typing	% Hb A_2	รวม
โรงพยาบาลแห่งที่ 1 (31 ตัวอย่าง)							
Hb E heterozygote	-	-	-	2	EA	26.2-30.7	2
non-severe thalassemia	2	1	-	26	A_2A	2.0-3.5	29
โรงพยาบาลแห่งที่ 2 (135 ตัวอย่าง)							
β-thalassemia trait	3	-	-	-	A_2A	4.3-5.8	3
β-thalassemia trait with α-thalassemia 1 trait	1	-	-	-	A_2A	6.40	1
Hb E heterozygote	3	6	7	4	EA	25.5-35.6	20
Hb E heterozygote with α-thalassemia 1 trait	1	-	-	-	EA	24.6	1
Hb E homozygote	-	-	1	-	EE	85.78	1
non-severe thalassemia	11	1	-	97	A_2A	1.9-3.7	109
โรงพยาบาลแห่งที่ 3 (193 ตัวอย่าง)							
α-thalassemia 1 trait	-	-	-	2	A_2A	1.7-2.4	2
β-thalassemia trait	2	-	-	2	A_2A	5.2-6.6	4
Hb E heterozygote	3	1	2	11	EA	25.0-37.2	17
non-severe thalassemia	1	1	-	168	A_2A	1.5-3.9	170

ตารางที่ 4 แสดงประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 3 แห่ง แยกในแต่ละโรงพยาบาล

ผลการตรวจคัดกรองใน โรงพยาบาลชุมชน (OF/DCIP)	พาหะธาลัสซีเมีย		
	ชนิดรุนแรง	ชนิดไม่รุนแรงหรือปกติ	รวม
โรงพยาบาลแห่งที่ 1			
Positive (+/-, -/+, +/+)	0	3	3
Negative (-/-)	2	26	28
รวม	**2**	**29**	**31**
โรงพยาบาลแห่งที่ 2			
Positive (+/-, -/+, +/+)	22	12	34
Negative (-/-)	4	97	101
รวม	**26**	**109**	**135**
โรงพยาบาลแห่งที่ 3			
Positive (+/-, -/+, +/+)	8	2	10
Negative (-/-)	15	168	183
รวม	**23**	**170**	**193**

วิจารณ์

โดยทั่วไปผลของการตรวจคัดกรองที่ถือว่าเป็นปัญหาและควรได้รับการแก้ไขอย่างยิ่งคือ ผลที่เป็นลบลวง และมักจะให้ความสำคัญมากกว่าผลที่เป็นบวกลวง เนื่องจากผลลบลวงจะทำให้พาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงบางรายหลุดออกไปจากโปรแกรมการตรวจวินิจฉัย ซึ่งจะไม่ได้รับการตรวจยืนยันต่อไปด้วยวิธีมาตรฐาน ดังนั้นการตรวจคัดกรองจึงมุ่งป้องกันไม่ให้เกิดผลลบลวงขึ้น แต่จากผลการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจากโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 3 แห่ง ที่ได้จากการศึกษานี้ ตรวจได้ผลเป็นลบทั้งหมด 312 ราย ซึ่งเป็นผลลบลวง 21 ราย (ร้อยละ 6.7) และมีความแตกต่างกันในแต่ละโรงพยาบาล (ตารางที่ 4) โดยโรงพยาบาลที่มีผลตรวจเป็นลบลวงมากที่สุด คือ โรงพยาบาลแห่งที่ 3 (ร้อยละ 8.9) รองลงมาคือ โรงพยาบาลแห่งที่ 1 (ร้อยละ 7.1) และโรงพยาบาลแห่งที่ 2 (ร้อยละ 4.0) ซึ่งมีผลตรวจ เป็นลบลวงน้อยที่สุดแสดงให้เห็นว่าโรงพยาบาลชุมชนแต่ละแห่งไม่สามารถตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่สำคัญได้ครบทุกราย

การศึกษาในโรงพยาบาลชุมชนในประเทศไทยซึ่งทำการศึกษาที่จังหวัดร้อยเอ็ด มีความไว ร้อยละ 98.1-100 ความจำเพาะร้อยละ 65.4-88.4 ค่าการทำนายผลบวก ร้อยละ 75.0-86.9 และค่าการทำนายผลลบร้อยละ 98.1-100[19] นอกจากนี้การรายงานของ กนกวรรณ แสนไชยสุริยา และคณะ[20] ในปี พ.ศ. 2550 ซึ่งทำการศึกษาในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง ในจังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดมหาสารคาม และจังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่ามีความไวร้อยละ 57.1-96.6 ความจำเพาะร้อยละ 70.4-

88.9 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ พบว่ามีประสิทธิภาพที่สูงกว่า แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในระดับโรงพยาบาลชุมชนในประเทศไทยยังมีความผิดพลาดและมีความแตกต่างกันในแต่ละโรงพยาบาล ซึ่งต้องได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ความผิดพลาดของการตรวจกรองในการศึกษานี้พบว่าพาหะ α-thalassemia 1 ตรวจคัดกรองให้ผลเป็นลบลวงมากที่สุด (ร้อยละ 100) รองลงมา คือ Hb E heterozygote (ร้อยละ 42.5) และพาหะ β-thalassemia (ร้อยละ 28.6) จากข้อมูลที่เคยมีรายงานมาก่อนพบว่าการตรวจคัดกรอง Hb E มักจะให้ผลการตรวจด้วย DCIP เป็นบวกแต่อาจจะให้ผลเป็นบวกหรือลบต่อการตรวจ OFT ก็ได้ และความผิดพลาดของผลการตรวจที่พบบ่อยมักไม่เกิดผลลบลวงต่อ DCIP แต่มักจะเกิดผลบวกลวงมากกว่า เนื่องจากการอุ่นน้ำยากับเลือดที่อุณหภูมิ 37 ^{0}ซ นานกว่า 15 นาที หรือใช้อุณหภูมิที่สูงเกินกว่า 37 ^{0}ซ จะทำให้ ฮีโมโกลบินชนิดอื่นๆ ถูกออกซิไดซ์และตกตะกอนได้[9,11] ดังนั้นอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความผิดพลาดของผลการตรวจที่พบจากการศึกษานี้ได้

ในตัวอย่างที่เป็น Hb E heterozygote และ homozygote จำนวน 23 ราย ซึ่งให้ผลบวกต่อการคัดกรอง ยังพบว่ามีจำนวน 7 ราย ตรวจได้ผลเป็นลบต่อ DCIP ซึ่งรูปแบบของผลการตรวจคัดกรองเบื้องต้นไม่สอดคล้องกับผลการตรวจหาชนิดฮีโมโกลบิน ทำให้เกิดความสับสนแก่ผู้ที่ทำการตรวจหาชนิดฮีโมโกลบิน (Hb typing) ได้ เพราะโดยทั่วไปตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบต่อ DCIP เมื่อตรวจยืนยันด้วยวิธีมาตรฐาน เช่น electrophoresis หรือเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติจะไม่พบแถบหรือเส้นกราฟโปรตีนที่ตำแหน่ง HbA_2/E[15] แต่รูปแบบของผลการตรวจคัดกรองที่ได้ดังกล่าวพบได้เป็นปกติในกลุ่มฮีโมโกลบินซี (Hb C) ซึ่งจะให้ผลการตรวจคัดกรองด้วย DCIP เป็นลบ แต่ให้ผลการตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินเป็น EA ได้ ซึ่งจะต้องทำการตรวจยืนยันแยกกับ HbE ด้วยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ[21] ดังนั้น ผู้ที่ทำการตรวจวินิจฉัยในระดับยืนยันด้วยวิธีมาตรฐานจะต้องมีความรู้ ความชำนาญสูงด้วย ถึงจะให้การวินิจฉัยได้อย่างถูกต้อง

ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชน ทั้ง 3 แห่ง ตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในหญิงตั้งครรภ์ได้เพียง 30 ราย จากทั้งหมด 51 ราย (ร้อยละ 58.8) แสดงให้เห็นถึงการตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาผู้เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมีประสิทธิภาพน้อยมาก ทำให้หญิงตั้งครรภ์ จำนวน 21 ราย ไม่ได้รับการวินิจฉัย ซึ่งในโปรแกรมการตรวจวินิจฉัยพาหะและโรคธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์ ตามแผนงานการป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียแห่งชาติจะทำการตรวจคัดกรองในหญิงตั้งครรภ์ก่อนหากผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกจึงจะทำการตรวจคัดกรองในสามี และหากสามีให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกด้วย จึงจะทำการตรวจยืนยันเพื่อหาชนิดของยีนธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐานต่อไป ทั้งนี้เนื่องจากเป็นการลดค่าใช้จ่ายที่ต้องสูญเสียในการส่งตรวจยืนยัน ซึ่งมีราคาแพง ดังนั้นหากหญิงตั้งครรภ์ที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นลบแล้วจะไม่ได้รับการตรวจยืนยันต่อด้วยวิธีมาตรฐานและไม่ตรวจคัดกรองในสามีด้วย เพราะไม่มีโอกาสมีลูกเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ดังนั้นหญิงตั้งครรภ์ทั้ง 21 ราย ที่ตรวจคัดกรองได้ผลเป็นลบในการศึกษานี้ หากอยู่ในโปรแกรมการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียตามแผนงานดังกล่าวข้างต้น จะไม่ได้รับการตรวจยืนยันต่อและหากสามีของหญิงตั้งครรภ์ทั้ง 21 ราย เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเดียวกันจะทำให้มีคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงถึง 21 คู่ แต่ไม่ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง อาจจะทำให้มีจำนวนผู้ป่วยเด็กเกิดใหม่ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงเพิ่มขึ้น ก่อให้เกิดปัญหาสาธารณสุขและเศรษฐกิจของประเทศ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อความสำเร็จของการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทยอีกด้วย ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นถึงผลเสียที่เกิดขึ้นจากการที่การตรวจคัดกรอง เพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลมีประสิทธิภาพน้อย

ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โดยรวมในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง ซึ่งแสดงเป็นค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบ มีประสิทธิภาพน้อยและมีความแตกต่างไปจากประสิทธิภาพของชุดน้ำยาสำเร็จรูปมาก แสดงให้เห็นว่าการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียในประเทศไทยยังเป็นปัญหาอยู่ ถึงแม้ว่าจะมีวิธีการตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพดีก็ตาม พาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงบางส่วนไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัย

จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นถึงว่ายังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เข้ามาเกี่ยวข้องต่อประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรอง ซึ่งจำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงสาเหตุที่ก่อให้เกิดความผิดพลาดขึ้นในห้องปฏิบัติการ เช่น ความเหมาะสมของตัวอย่างเลือดที่นำมาตรวจ คุณภาพของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ ขั้นตอนและความถูกต้องของวิธีการตรวจ ความละเอียดรอบคอบและความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน เป็นต้น เพื่อนำมาหาแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงวิธีการตรวจให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น แต่จากการสังเกตของผู้วิจัยพบว่าทั้ง 3 โรงพยาบาลจะทำการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียเพียงสัปดาห์ละ 1 วัน เพื่อความประหยัดที่จะต้องทำตัวอย่างควบคุมควบคู่ไปกับการตรวจ และลดภาระงานของผู้ปฏิบัติงานที่จะต้องทำการตรวจทุกวัน ซึ่งอาจจะมีตัวอย่างตรวจน้อยราย จึงมีการเก็บรักษาตัวอย่างเลือดไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{0}ซ เป็นเวลาหลายวันก่อนนำมาตรวจ จึงอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การตรวจคัดกรองในโรงพยาบาลชุมชนทั้ง 3 แห่ง มีประสิทธิภาพน้อยได้ เนื่องจากที่เคยมีรายงานมาก่อนว่าการทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว ต้องใช้ตัวอย่างเลือดใหม่ หรือหลังจากเจาะเก็บได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมงเท่านั้นจึงจะให้ผลการทดสอบถูกต้องมากที่สุด หากทำการเก็บรักษาเลือดไว้นานกว่านี้ จะทำให้เกิดผลลบลวงมากขึ้น[22] นอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลชุมชน ซึ่งพบว่าปัญหาที่พบมากที่สุดคือ ด้านบุคลากร เนื่องจากขาดความรู้ ความเข้าใจหลักการทดสอบ ทักษะ วิธีการอ่านผล และข้อควรระวัง[20] ซึ่งสอดคล้องกับข้อสังเกตที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้น โรงพยาบาลจะต้องตระหนักและให้ความสำคัญในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงให้ถูกต้องและแม่นยำมากที่สุด

สรุป

การตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง ยังมีประสิทธิภาพน้อย ไม่สามารถให้การคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้ทุกราย จำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาหาสาเหตุและข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นอย่างเป็นระบบ เพื่อหาแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงการตรวจคัดกรองในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลชุมชนให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทยประสบผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P. Thalassemia syndrome in Thailand. J Med Assoc Thai 1978;61:49.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in Southeast Asia: problems and strategy for prevention and control. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1992;23:647-55.
3. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, et al. Thalassemia in Thailand. Ann N Y Acad Sci 1980;344: 352-63.
4. Sirichotiyakul S, Maneerat J, Sa-nguansermsri T, et al. Sensitivity and specificity of mean corpuscular volume testing for screening for alpha-thalassemia-1 and beta-thalassemia traits. J Obstet Gynaecol Res 2005;31:198-201.

5. Sirichotiyakul S, Tantipalakorn C, Sanguansermsri T, et al. Erythrocyte osmotic fragility test for screening of alpha-thalassemia-1 and beta-thalassemia trait in pregnancy. Int J Gynaecol Obstet 2004;86:347-50.
6. Winichagoon P, Thitivichianlert A, Lebnak T, et al. Fucharoen S. Screening for the carriers of thalassemias and abnormal hemoglobins at the community level. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2002;33:145-50.
7. Sangkitporn S, Sangkitporn S, Sangnoi A, et al. Validation of osmotic fragility test and dichlorophenol indophenol precipitation test for screening of thalassemia and Hb E. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005;36:1538-42.
8. อรทัย ตั้งวรสิทธิชัย, จิรภาส จงจิตวิมล, สุรพล ตั้งวรสิทธิชัย. การตรวจคัดกรอง alpha-thalassemia-1 ด้วยค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550;35:2145-50.
9. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, et al. A simplified screening strategy for thalassaemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. Bull World Health Organ 2004;82:364-72.
10. Wiwanitkit 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;48:525-8.
11. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Clin Pathol 2005;123: 113-8.
12. กุลนภา ฟู่เจริญ. การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียวด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-OF. ใน: กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา ฟู่เจริญ, บรรณาธิการ. การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2543:18-20.
13. กุลนภา ฟู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. การตรวจกรองฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป KKU-DCIP-Clear. ใน : กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา ฟู่เจริญ, บรรณาธิการ. การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2543:25-6.
14. กุลนภา ฟู่เจริญ. KKU-minicolumn chromatography for HbA_2/E. ใน : สุพรรณ ฟู่เจริญ, กุลนภา ฟู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, บรรณาธิการ. การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคเลือดจางธาลัสซีเมียในประเทศไทย. ขอนแก่น: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2546:24-5.
15. ณัฐยา แซ่อึ้ง, กุลนภา ฟู่เจริญ. การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2539.
16. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988;16:1215.
17. Panyasai S, Sringam P, Fucharoen G, et al. A simplified screening for alpha-thalassemia 1 (SEA type) using a combination of a modified osmotic fragility test and a direct PCR on whole blood cell lysates. Acta Haematol 2002;108:74-8.

18. Eng B, Patterson M, Borys S, et al. PCR-based diagnosis of the Filipino (--(FIL)) and Thai (--(THAI)) alpha-thalassemia-1 deletions. Am J Hematol 2000;63:54-6.
19. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, et al. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. Bull World Health Organ 2004;82:364-72.
20. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ประทีป ครูบรรณ์, โสภา รัศมีผะกาย และคณะ. การประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลชุมชน. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550;19:42-54.
21. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, et al. Molecular characterization of hemoglobin C in Thailand. Am J Hematol 2001;67:189-93.
22. สิทธิชัย ปัญญาใส, รูฮานี สานิง, ลัดดาวรรณ หนูเกลี้ยง และคณะ. การศึกษาเบื้องต้นของความคงตัวของตัวอย่างเลือดต่อการทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียวเพื่อการคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2551;4:94-102.