

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจคัดกรอง α -Thalassemia-1 Heterozygote

ด้วยวิธี Dried Brilliant Cresyl Blue Method

ธัญศักดิ์ ตาตุ, สมศักดิ์ จันทร์น้อย, เกศินี แจ่มวุฒิปรีชา*, และ ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี**

ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก, *นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์,

**หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ: การตรวจหา HbH inclusion bodies เป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการตรวจเพื่อคัดกรองภาวะ α -thalassemia₁ ซึ่งเป็น α -thalassemia ชนิดรุนแรง แต่วิธีการตรวจหา HbH inclusion bodies ที่ใช้ในปัจจุบันซึ่งใช้ NSS ในการละลายสี brilliant cresyl blue (BCB) ไม่เหมาะสมกับการตรวจในภาคสนาม การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการประเมินประสิทธิภาพของเทคนิคการตรวจ HbH inclusion bodies ที่ได้ปรับปรุงขึ้นโดยการละลายสี BCB ใน absolute ethyl alcohol แทน NSS ก่อนนำไปเคลือบบนแผ่นแก้ว (Dried BCB method) การศึกษาประกอบด้วย 2 ระยะๆ แรกศึกษาในคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียและระยะที่สองศึกษาในผู้ป่วยนอกที่เข้ารับการเจาะเลือดที่ห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลมหาสารคามร้อยเอ็ด จังหวัดร้อยเอ็ด และระยะที่สามศึกษาในผู้ป่วยนอกที่เข้ารับการเจาะเลือดที่ห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลมหาสารคามร้อยเอ็ด จังหวัดร้อยเอ็ด ทำการตรวจหา Hb H inclusion bodies โดยวิธี Dried BCB Method เปรียบเทียบกับวิธี Conventional Method และยืนยันผลด้วย Gap-PCR เพื่อตรวจหา α -thalassemia gene ชนิด SEA type จากการศึกษพบว่า วิธี Dried BCB method และวิธี Conventional Method มีประสิทธิภาพในการตรวจหา HbH inclusion bodies ไม่แตกต่างกันและเทคนิค Dried BCB Method ที่ปรับปรุงขึ้นสามารถตรวจหาภาวะ α -thalassemia₁ heterozygote ในประชากรทั่วไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและถูกต้อง ดังนั้นเทคนิค Dried BCB Method ที่ปรับปรุงใหม่นี้จึงน่าที่จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการตรวจหา Hb H inclusion bodies ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ตรวจคัดกรองหาภาวะ α -thalassemia₁ heterozygote ได้อย่างจำเพาะ

Key Words : ● α -thalassemia₁ heterozygote ● Dried BCB Method

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2546;13:315-21.

α -thalassemia เป็นกลุ่มอาการที่เกิดจากอัตราการสังเคราะห์ α -globin chain ลดลงหรือหายไป ส่งผลทำให้การสร้าง α -chain containing hemoglobins

(เช่น HbF ในระยะ fetus และ Hb A ในระยะ adults) ลดลงหรือไม่มีการสร้างเลย ทำให้ β -like globin chains มีเหลือและหันมาจับกันเองกลายเป็น Hb Bart's (γ_4) ในระยะ fetus และ Hb H (β_4) ใน adults, Hb Bart's ทำให้เกิดกลุ่มอาการ Hb Bart's hydrops fetalis syndrome ซึ่งเป็น α -thalassemia ชนิดรุนแรงที่สุด ทารกมักเสียชีวิตในครรภ์หรือหลังคลอดเล็กน้อย มารดา

ได้รับต้นฉบับ 3 เมษายน 2546 ให้ลงตีพิมพ์ 19 กันยายน 2546
ต้องการสำเนาต้นฉบับกรุณาติดต่อ ดร.ธัญศักดิ์ ตาตุ ภาควิชา
จุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

อาจเสียชีวิตด้วยจากอาการครรภ์เป็นพิษ ส่วนผู้ป่วย Hb H disease มีอาการน้อยกว่ามักมีอาการซีดปานกลาง และจะซีดมากขึ้นถ้าเกิดการติดเชื้อทำให้คุณภาพชีวิตด้อยลง จากการสำรวจพบว่าร้อยละ 20-30 ของประชากรไทยเป็นพาหะของ α -thalassemia ซึ่งมีโอกาสที่บุคคลเหล่านี้จะมีบุตรเป็น Hb Bart's hydrops fetalis หรือ Hb H disease ดังนั้นการตรวจคัดกรอง (screen) หากภาวะ α -thalassemia heterozygote จึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้ได้ข้อมูลเพื่อนำไปประกอบการให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมของโรคดังกล่าวนี้¹

α -thalassemia heterozygotes มี 2 ชนิดตามจำนวน α -globin genes ที่ขาดหายไปคือ α -thalassemia₁ หรือ α^0 -thalassemia heterozygote ซึ่งมี α -globin gene ขาดหายไป 2 loci ใน 1 ข้างของโครโมโซม และ α -thalassemia₂ หรือ α^+ -thalassemia heterozygote ซึ่งมี α -globin gene ขาดหายไป 1 locus ใน 1 ข้างของโครโมโซม และเนื่องจากการขาดหายไปของ α -globin gene บุคคลเหล่านี้จึงจะมีการสร้าง α -globin chain น้อยลงและมี Hb H ถูกผลิตขึ้นจากสาย α -globin chain ปริมาณ Hb H ที่พบจะแปรผันโดยตรงกับจำนวน α -globin chain ที่พร่องไป กล่าวคือ α -thalassemia₁ มีปริมาณ Hb H มากกว่า α -thalassemia₂ ดังนั้นการตรวจพบ Hb H ในวัยผู้ใหญ่จึงเป็นหลักฐานที่บ่งชี้ถึงการมี α -thalassemia gene ชนิดใดชนิดหนึ่งอยู่ในร่างกาย อย่างไรก็ตาม ปริมาณ Hb H ใน α -thalassemia heterozygote มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีการตรวจชนิดฮีโมโกลบิน (Hb typing) ที่ใช้ทั่วไปเช่น Hb electrophoresis หรือ HPLC และเนื่องจาก Hb H เป็น unstable hemoglobin ซึ่งจะเสถียรภาพและตกตะกอนได้ง่ายเมื่อผสมกับที่เป็น supravital stain เช่น new methylene blue หรือ brilliant cresyl blue (BCB) ซึ่งเตรียมสดๆ เรียกว่า Hb H inclusion bodies (IB) เม็ดเลือดแดงที่มี IB อยู่ภายในมีลักษณะคล้ายลูกกอล์ฟ

ซึ่งสามารถตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดาขนาดกำลังขยาย 1,000x และจำนวนเม็ดเลือดแดงที่มี IB ที่ตรวจพบสามารถให้การวินิจฉัย α -thalassemia₁ heterozygote แต่ตรวจไม่พบในผู้ที่ เป็น α -thalassemia₂ heterozygote²

การตรวจหา IB ในงานประจำวัน (routine IB examination) ใช้สี BCB ที่ละลายใน NSS ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) ผสมกับ EDTA blood ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นนำส่วนผสมของสีกับเลือดไปอุ่นในอ่างน้ำที่ 37°C เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตรวจหา IB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดาขนาดกำลังขยาย 1,000x2 วิธีการนี้สามารถให้การวินิจฉัย α -thalassemia₁ heterozygote ได้ระดับหนึ่ง แต่เป็นที่ทราบกันดีว่าวิธีการดังกล่าวนี้มีความยุ่งยากในการเก็บรักษาน้ำยา BCB ที่มีโอกาสตกตะกอนได้ง่ายถ้าหากเก็บรักษาไม่ถูกต้องซึ่งจะส่งผลทำให้ความเข้มข้นของสีเปลี่ยนไป นอกจากนี้การตรวจคัดกรอง α -thalassemia heterozygote ในการสำรวจภาคสนามกระทำได้อ่อนขางลำบากถ้าใช้สีแบบเดิม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อประเมินประสิทธิภาพของวิธีการตรวจ Hb H inclusion bodies ที่ถูกปรับปรุงขึ้นในการตรวจ α -thalassemia₁ heterozygote ชนิด SEA type ซึ่งพบมากในประเทศไทย
2. เพื่อประเมินประสิทธิภาพของวิธีการตรวจ Hb H inclusion bodies ที่ถูกปรับปรุงขึ้นในการตรวจ α -thalassemia₁ heterozygote ในประชากรทั่วไป

วัสดุและวิธีการ

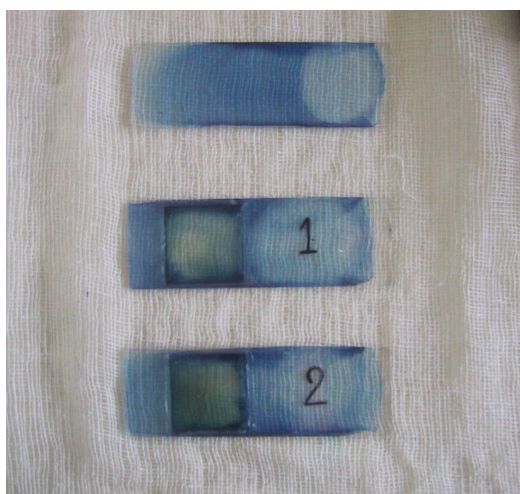
การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือขั้นตอนการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจหา Hb H inclusion bodies ของวิธีที่ปรับปรุง (Dried BCB Method) กับวิธีการเดิมที่ใช้กันอยู่ทั่วไป (Conventional Method)

และขั้นตอนการประเมินประสิทธิภาพของวิธี Dried BCB Method ในการตรวจคัดกรอง α -thalassemia₁ heterozygote ในประชากรทั่วไป

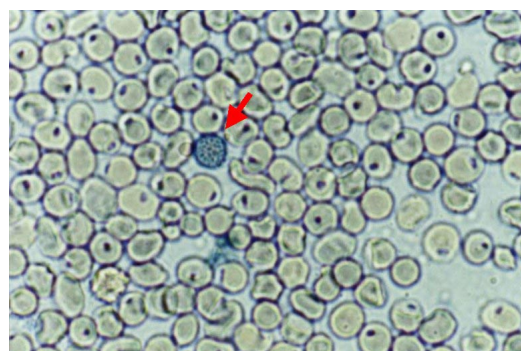
ขั้นตอนแรกศึกษาในคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย (high risk couple) ที่เข้ารับการตรวจที่แผนกสูติศาสตร์เวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่จำนวน ซึ่งหลังจากทำการตรวจคัดกรองเบื้องต้นด้วยวิธี one-tube osmotic fragility test (EOFT) ได้คัดเลือกเฉพาะผู้ที่ให้ผลบวกต่อ EOFT เพื่อนำไปตรวจหา α -thalassemia₁ heterozygote (SEA type) โดยวิธี Gap-PCR³ ซึ่งจากผลของ EOFT และ Gap-PCR ทำให้สามารถแบ่งตัวอย่างตรวจออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม α -thalassemia₁ heterozygote (SEA type) และ กลุ่ม heterozygote for other types of thalassemia (others) จำนวนกลุ่มละ 30 ราย จากนั้นนำตัวอย่างเลือดของทั้ง 2 กลุ่มไปตรวจหา Hb H inclusion bodies โดยวิธี Conventional ตามวิธีที่นิยม² และวิธี Dried BCB Method ที่ปรับปรุงขึ้น โดยทำการเคลือบร้อยละ 1 (w/v) BCB จำนวน 60 μ L (ให้เป็น

แผ่นฟิล์มครึ่งละ 15 μ L ซ้อนทับกัน 4 ครั้ง) หลังจากแห้งแล้วสามารถนำไปใช้ย้อมตัวอย่างเลือดได้ทันทีโดยหยดเลือด 10 μ L ลงบนฟิล์ม BCB ที่เคลือบบนแผ่นแก้ว ปิดทับด้วย cover slip และปิดขอบด้วย vasline หลังจากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน วันรุ่งขึ้นนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงธรรมดาขนาดกำลังขยาย 1,000 เท่าโดยตรวจนับบริเวณที่มีเม็ดเลือดแดงไม่ซ้อนทับกันจำนวน 50 fields ซึ่งเท่ากับเม็ดเลือดแดงประมาณ 15,000-25,000 เซลล์ ถ้าพบ Hb H inclusion bodies รายงานเป็นจำนวนเม็ดเลือดแดงที่มี Hb H inclusion bodies/5,000 RBCs ถ้าไม่พบ Hb H inclusion bodies รายงานว่า negative for α -thalassemia₁ heterozygote (รูปที่ 1, 2)

ขั้นตอนที่สองศึกษาในกลุ่มประชากรทั่วไปซึ่งเป็นผู้ป่วยที่เข้ารับการเจาะเลือดที่ห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่จำนวน 219 ราย ทำการตรวจหา Hb H inclusion bodies ในตัวอย่างเลือด (EDTA blood) ทุกรายโดยวิธี Dried BCB Method หลังจากนั้นนำรายที่ให้ผลบวกต่อ Hb H inclusion



รูปที่ 1 แสดงแผ่นกระจก (microscopic glass slides) ที่เคลือบด้วยร้อยละ 1 Brilliant Cresyl Blue stain in absolute ethanol ทั้งก่อนและหลังการหยดตัวอย่างเลือดลงไปผสม



รูปที่ 2 แสดง Hb H inclusion bodies จากผู้ที่เป็น α -thalassemia₁ heterozygote (SEA type) หลังจากย้อมด้วยวิธี Dried BCB Method และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงธรรมดาขนาดกำลังขยาย 1,000x ที่ชี้ด้วยลูกศรคือเม็ดเลือดแดงที่มี HbH inclusion bodies ส่วนเม็ดเลือดแดงอื่นไม่มี HbH inclusion bodies แต่ที่เห็นเป็นจุดดำคือรอยบุ๋มของผนังเซลล์

bodies ไปตรวจหา α -thalassemia 1 ชนิด SEA โดยวิธี Gap-PCR ดังที่เคยกล่าวมา³

ผลการศึกษา

1. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Dried BCB Method กับ Conventional Method

ผลการตรวจ Hb H inclusion bodies ในกลุ่มคู่สมรสที่เป็น heterozygote สำหรับ SEA type และ others จำนวนกลุ่มละ 30 รายพบว่า กลุ่ม SEA type ให้ผลบวกกับ Conventional Method จำนวน 19 ราย และกับ Dried BCB Method จำนวน 21 รายและให้ผลลบกับ Conventional Method จำนวน 11 รายและกับ Dried BCB Method จำนวน 9 ส่วนกลุ่ม others ให้ผลบวกต่อ Conventional Method จำนวน 10 ราย และกับ Dried BCB Method จำนวน 1 รายและให้ผลลบกับ Conventional Method จำนวน 20 รายและกับ Dried BCB Method จำนวน 29 ราย (ตารางที่ 1) ความไวและความจำเพาะของวิธี Conventional Method ในการตรวจหา α -thalassemia 1 (SEA

type) เท่ากับร้อยละ 63 และร้อยละ 67 ตามลำดับ ส่วนความไวและความจำเพาะของวิธี Dried BCB Method เท่ากับร้อยละ 70 และร้อยละ 97 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

2. ประสิทธิภาพของวิธี Dried BCB Method ในการตรวจคัดกรอง α -thalassemia₁ heterozygote ในประชากรทั่วไป

จากการตรวจ Hb H inclusion bodies ด้วยวิธี Dried BCB Method ในกลุ่มประชากร 219 ราย พบผู้ที่ให้ผลบวกต่อ Hb H inclusion bodies 25 รายคิดเป็นร้อยละ 11.0 โดยมีจำนวน HbH inclusion bodies เฉลี่ย 3 เซลล์/5,000 RBCs (3.1 ± 1.0 เซลล์/5,000 RBCs) และให้ผลลบ 194 รายคิดเป็นร้อยละ 89.0 ส่วนผลการตรวจหา α -thalassemia₁ gene ชนิด SEA type โดยวิธี Gap-PCR ในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อ Hb H inclusion bodies พบผู้ที่ให้ผลบวกต่อ α -thalassemia₁ (SEA type) จำนวน 21 รายคิดเป็นร้อยละ 9.5 และให้ผลลบต่อ α -thalassemia₁ (SEA type) จำนวน 4 รายคิดเป็นร้อยละ 1.8 ส่วนในกลุ่มที่ให้ผลลบต่อ HbH inclusion bodies พบผู้ที่ให้ผลบวกต่อ α -thalas-

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจหา HbH inclusion bodies ด้วยวิธี Conventional method และวิธี Dried BCB method ในผู้ที่ทราบแน่นอนแล้วว่าเป็น α -thalassemia₁ heterozygote (SEA type) และผู้ที่เป็น thalassemia heterogote ชนิดอื่น

Methods	α -thalassemia trait (SEA type)		Other thalassemia traits	
	Positive for IB* (n)	Negative for IB* (n)	Positive for IB*(n)	Negative for IB* (n)
Conventional	19	11	10	20
Dried BCB	21	9	1	29

*IB stands for HbH inclusion bodies

ตารางที่ 2 แสดงความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธีการตรวจ HbH inclusion bodies ทั้งสองวิธี

	Sensitivity (ร้อยละ)	Specificity (ร้อยละ)
Conventional method	63	67
Dried BCB method	70	97

ตารางที่ 3 แสดงประสิทธิภาพของวิธี Dried BCB method ในการตรวจหา HbH inclusion bodies ใน α -thalassemia₁ (SEA type) heterozygotes ในกลุ่มผู้ป่วยนอก ผู้ที่ให้ผลลบต่อ HbH inclusion bodies จำนวน 26 คน ได้มาจากการสุ่มเลือกจากผู้ที่ให้ผลลบต่อ HbH inclusion body test

	Hb H inclusion bodies	
	Positive (n)	Negative (n)
α-thalassemia (SEA type)	21	5
Others	4	21
Total	25	26

semia₁ (SEA type) 5 รายคิดเป็นร้อยละ 2.3 และให้ผลลบต่อ α -thalassemia₁ (SEA type) 21 รายคิดเป็นร้อยละ 9.5 ของประชากรทั้งหมด อย่างไรก็ตามในผู้ให้ผลบวกต่อ α -thalassemia₁ (SEA type) 26 รายสามารถตรวจพบ Hb H inclusion bodies 21 รายคิดเป็นร้อยละ 80.7 และตรวจไม่พบ Hb H inclusion bodies 5 รายคิดเป็นร้อยละ 19.3 ในขณะที่ให้ผลลบต่อ α -thalassemia₁ (SEA type) 25 ราย ตรวจพบ Hb H inclusion bodies 4 รายคิดเป็นร้อยละ 16 และตรวจไม่พบ Hb H inclusion bodies 21 รายคิดเป็นร้อยละ 84 (ตารางที่ 3)

วิจารณ์

การพบตะกอน Hb H inclusion bodies เป็นสิ่งบ่งบอกถึงการมี α -thalassemia gene ในร่างกาย^{2,4} จำนวน Hb H inclusion bodies สามารถบ่งบอกถึงความรุนแรงของภาวะ α -thalassemia ได้ ดังนั้นการตรวจหา Hb H inclusion bodies จึงนิยมนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองหาภาวะพาหะ α -thalassemia โดยเฉพาะ α -thalassemia₁ หรือ α^0 -thalassemia ซึ่งเป็น α -thalassemia ชนิดร้ายแรง และจำเป็นที่จะต้องทราบแต่เนิ่นๆ ว่าผู้ป่วยมีความผิดปกติชนิดนี้อยู่เพื่อประโยชน์ต่อการควบคุมและป้องกันโรคนี้และการวางแผนการมีบุตรในอนาคต ได้มีความพยายามในการปรับปรุงวิธีการตรวจหา Hb H inclusion bodies ให้มีประสิทธิภาพ

ดีขึ้น⁵⁷ แต่เนื่องจากวิธีการตรวจหา Hb H inclusion bodies ที่ใช้กันโดยทั่วไปหรือแม้แต่ที่มีการปรับปรุงซึ่งใช้ NSS ละลายสี brilliant cresyl blue นั้นควบคุมคุณภาพได้ยากและต้องใช้สีที่เตรียมใหม่เสมอผลการตรวจสอบถึงจะเชื่อถือได้อีกทั้งวิธีดังกล่าวอาศัยขั้นตอนและเครื่องมือที่ค่อนข้างมากจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองในประชากรจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการสำรวจภาคสนาม

การศึกษาครั้งนี้ได้ประเมินประสิทธิภาพของวิธีการย้อม Hb H inclusion bodies ด้วยวิธีย้อมด้วยสี brilliant cresyl blue (BCB) แบบปรับปรุงกล่าวคือทำการละลายสีในความเข้มข้นร้อยละ 1 ใน absolute ethyl alcohol ก่อนแล้วจึงนำไปเคลือบบนแผ่นแก้วที่ใช้ในงานตรวจทางโลหิตวิทยาทั่วๆ ไป เมื่อแผ่นฟิล์มของสี BCB แห้งแล้วสามารถนำไปใช้ได้เลยโดยเพียงแต่หยดเลือดลงบนแผ่นแก้วที่เคลือบสีและปิดด้วย cover slip และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพียง 1 คืน จากนั้นสามารถตรวจหา Hb H inclusion bodies ได้เลย วิธีการนี้สามารถลดขั้นตอนต่างๆ ที่วิธีทั่วๆ ไป (Conventional method) ใช้ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือมาก สามารถเคลือบสีบนแผ่นแก้วและเก็บไว้ใช้ได้ตลอดไป จึงสามารถนำไปใช้ในการตรวจภาคสนามได้ อนึ่งเนื่องจากเมื่อสี BCB แห้งเคลือบบนแผ่นแก้วแล้วเมื่อนำไปย้อมตัวอย่างเลือดอาจจะก่อให้เกิดผลบวกหลงได้ การประเมินเบื้องต้นในขั้นตอนแรกของการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธี Dried

BCB Method กับวิธีเดิม (Conventional method) ซึ่งพบว่าวิธี Modified BCB method ให้ผลการตรวจไม่ต่างจากวิธีเดิมในแง่ความไวและวิธี Dried BCB Method มีความจำเพาะต่อ α -thalassemia heterozygote₁ (SEA type) มากกว่าวิธี Conventional ดังนั้นจึงน่าจะสมารถนำวิธี Dried BCB Method นี้ไปใช้งานจริงฯ ได้ แต่อย่างไรก็ตามเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวิธี Dried BCB Method ดังกล่าวในการตรวจหา α -thalassemia₁ (SEA type) heterozygote โดยที่ยังไม่ทราบผลการ SEA genotyping เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีการดังกล่าวนี้สามารถนำไปใช้งานตรวจคัดกรองในประชากรทั่วไปได้หรือไม่ จึงได้นำวิธีการ Dried BCB Method ดังกล่าวนำมาใช้ในขั้นตอนที่สองของการศึกษาซึ่งผลจากการศึกษาในขั้นตอนที่สองแสดงให้เห็นชัดว่าวิธีการดังกล่าวมีความไวในการตรวจหา α -thalassemia₁ (SEA type) heterozygote ได้ถึงร้อยละ 80.7 ซึ่งผลสอดคล้องกับการศึกษาในขั้นตอนแรก (ความไว 70%) อย่างไรก็ดีเนื่องจากการพบ Hb H inclusion bodies เป็นสัญญาณของการมี α -thalassemia gene ซึ่งอาจจะเป็นชนิดไหนก็ได้ ดังนั้นจากผลการศึกษาดังกล่าวผู้ป่วยบางรายให้ผลบวกต่อ Hb H inclusion body test แต่ให้ผลลบกับ PCR ซึ่งเป็น PCR for SEA type เท่านั้นจึงคาดว่าผู้ป่วยเหล่านั้น (4 รายใน 25 รายที่ให้ผลลบกับ PCR for SEA type) น่าจะมี genotype ของ α -thalassemia₁ เป็นชนิดอื่นที่ไม่ใช่ SEA type ซึ่งอาจพบได้ในประเทศไทย (Torpong Sanguansersri; personal communication) ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไป

โดยสรุปการศึกษาดังนี้พิสูจน์ได้ว่า สามารถนำวิธี Modified BCB method ไปใช้ตรวจหาภาวะ α -thalassemia₁ ในภาคสนามได้อย่างมีประสิทธิภาพเพียงในการตรวจหา α -thalassemia₁ heterozygote โดย

เฉพาะชนิด SEA type ซึ่งพบมากที่สุดในประเทศไทย อันนี้ได้มีผู้พยายามปรับปรุงวิธีการตรวจหา Hb H inclusion bodies เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการคัดกรองภาวะ α -thalassemia ดังนั้นวิธีการที่ปรับปรุงที่นำเสนอในการศึกษาดังนี้จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการตรวจคัดกรองภาวะ α -thalassemia โดยเฉพาะอย่างยิ่ง α -thalassemia หรือ α -thalassemia₁ heterozygotes

เอกสารอ้างอิง

1. สุทัศน์ พุเจริญ, ปราณี (วินิจกุล) พุเจริญ. กลุ่มโรค thalassemia และ hemoglobinopathies. ใน : ถนอมศรี ศรีชัยกุล, วิชัย อติชาตการ, แสงสุรีย์ จูหา, editor. ตำราโลหิตวิทยา. กรุงเทพฯ, 2529:130-76.
2. ต่อบงค์ สงวนเสริมศรี. วิธีตรวจรักษาและการป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงในเด็ก. เชียงใหม่: วัฒนาชัย, 2537.
3. Sanguansersri T, Phumyu N, Chomchuen S, Steger H. Screening from alpha-thalassemia₁ heterozygotes in expecting couples by the combination of a simple erythrocyte osmotic fragility test and a PCR based method. *Community Genetics* 1999;2:26-9.
4. ณัฐยา แซ่อึ้ง, กุลณา พุเจริญ (บรรณานิการ). การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2539.
5. Jones JA, Broszeit HK, LeCrone CN, Detter JC. An improved method for detection of red cell hemoglobin H inclusions. *Am J Med Technol* 1981;47:94-6.
6. Maungsapaya W, Winichagoon P, Fucharoen S, Pootrakul SN, Wasi P. Improved technic for detecting intraerythrocytic inclusion bodies in alpha thalassemia trait. *J Med Assoc Thai* 1985;68:43-5.
7. Kuptamethi S, Pravatmuang P, Fucharoen S, Ridthimat W, Choopanya K. Modified technique for detecting red cells containing inclusion bodies in alpha-thalassemia trait. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1987;23(5A): 213-21.

Screening for α -thalassemia-1 using the Dried Brilliant Cresyl Blue Method

Thanusak Tatu, Somsak Jannoi, Kesinee Jamwuttiapreecha*,
and Torpong Sanguansermisri**

Department of Clinical Microscopy; *Fourth-year MT student, Faculty of Associated Medical Science Chiangmai University;

**Thalassemia research unit, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiangmai University

Abstract: The detection of HbH inclusion bodies is the acceptable method for α -thalassemia₁ screen. The traditional method using NSS to dissolve brilliant cresyl blue (BCB) dye currently employed for the demonstration of HbH inclusion bodies is not practical, particularly for field surveys. The presented study aimed to evaluate the efficacy of the Hb H inclusion body demonstration technique by using absolute ethyl alcohol instead of NSS to dissolve BCB before coating on a microscopic glass slide. Two phases of study were carried out comprising firstly the comparison of the Dried BCB Method with the Conventional Method for the efficiency of Hb H inclusion body demonstration and secondary the test for the capability of the Dried CBC Method in the detection of α -thalassemia₁ heterozygote in the general population. The study clearly demonstrated that the efficacies of the Dried BCB method and the Conventional Method in demonstration of HB H inclusion bodies were highly comparable. The improved Dried BCB Method can effectively and correctly detect α -thalassemia₁ heterozygote in the general population. This finding indicates that the Dried BCB method can be an alternative method for Hb H inclusion body demonstration; the technique specific for α -thalassemia₁ heterozygote screen.

Key Words : ● α -thalassemia₁ heterozygote ● Dried BCB Method

Thai J Hematol Transf Med 2003;13:315-21.

ข้างเงาเงาหน้าใจเงา

ข้างเงาเงา	น้ำใจเงา	เงาส่องอย่าง
พรรณหลงทาง	ข้างช่วยส่ง	จากดงใต้
พรรณถึงบ้าน	พล่นแต่คิด	ในจิตใจ
แล้วกลับไป	เงาข้าง	ข้างอัมพริย์
น้ำใจเงา	นารักกว่า	เงาทั้งสอง
แต่พรรณมอง	ไม่แลเห็น	เป็นศักดิ์ศรี
เป็นนกตก	อกตัญญู	ไม่รู้ตัว
คนเช่นนี้	มีหัวใจ	ใช้เป็นคน

หลวงตาวัชรบรรพ