

เอกสารอ้างอิง

1. Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. 4th ed. Oxford: Blackwell Science, 2001.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassaemia in Southeast Asia: problem and strategy for prevention and control. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1992; 23: 647-655.
3. สำนักส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 11. 1-2 กันยายน 2548; ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ กรุงเทพมหานคร.
4. The Thalassemia Working Party of the BCSH General Haematology Task Force. Guideline for investigation of the α - and β -thalassemia traits. J Clin Pathol 1994; 47: 289-295.
5. A Working Party of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. The laboratory diagnosis of haemoglobinopathies. Br J Haematol 1998; 101: 783-792.
6. Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility test screening in detecting β -thalassemia trait. J Med Genet 1981; 18: 266-270.
7. Sivestroni E, Bianco I. A highly cost effective method of mass screening for thalassemia. Br Med J 1983; 286: 1007-1009.
8. Thool AA, Walde MS, Shrikhande AV, et al. A simple screening test for detection of heterozygous β -thalassemia. Indian J Pathol Microbiol 1998; 41: 423-426.
9. Frischer H, Bowman JE. Haemoglobin E an oxidatively unstable mutation. J Lab Clin Med 1975; 35: 531-539.
10. Kulapongs P, Sanguansermisri T, Mertz G, Tawarat S. Dichlorophenolindophenol (DCIP) precipitation test: a new screening test of HbE and HbH. J Med Ass Soc Thai 1976; 15: 1 - 7.
11. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364-372.
12. 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: 113-118.
13. Sangkitporn S, Sangkitporn S, Sangnoi A, Supangwiput O, Tanphaichitr VS. 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.
14. 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: 525-528.
15. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ประทีป คุรุบรรณ, โสภา รัตมีพะกาย, และคณะ. การประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลชุมชน. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 42-53.
16. Charoenlarp P, Dhanamitta S, Kaewvichit R, et al. A WHO collaborative study on iron supplementation in Burma and in Thailand. Am J Clin Nutr 1988; 47: 280-297.

17. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Dietz E, Schelp FP. Thalassemia and hemoglobinopathies rather than iron deficiency are major causes of pregnancy-related anemia in northeast Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 37: 8-11.
18. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Dietz E, Schelp FP. Effect of the maternal betaE-globin gene on hematologic responses to iron supplementation during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 474-479.
19. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. alpha-Thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2006; 117: 78-82.
20. ประชาธิป พลลาภ, รวีวรรณ พวงพฤษ, ฉลอง ทวีชีพ, สัมฤทธิ์ นิ่มมงคล, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา ฟูเจริญ, ณัฐยา แซ่ฮ้อ, ภัทระ แสนไชยสุริยา. แนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพ สำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF/DCIP. *วารสารเทคนิคการแพทย์ และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 218 - 226.
21. Altman D. *Practical statistics for medical research*. London: Chapman & Hall/CRC, 1999.
22. กรมบัญชีกลาง. คู่มือสวัสดิการรักษายาบาลข้าราชการ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: คณะรัฐมนตรีและราชกิจจานุเบกษา; 2551.
23. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Pengjam Y. Molecular analysis of a Thai β -thalassemia heterozygote with normal hemoglobin A₂ level: implication for population screening. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 44-49.
24. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Hb Pakse' [α 2, codon 142 (TAA \rightarrow TAT or Term \rightarrow Tyr)] in Thai patients with EABart's disease and Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 227-235.
25. Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Panyasai S, Devenish R, Luy L. Interaction of hemoglobin E and several forms of alpha-thalassemia in Cambodian families. *Haematologica* 2003; 88: 1092-1098.
26. สุพรรณ ฟูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา ฟูเจริญ, ณัฐยา แซ่ฮ้อ. สิทธิบัตรเลขที่ 18004 กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์ ประเทศไทย.
27. Siriratmanawong N, Pinmuang-Ngam C, Fucharoen G, Fucharoen S. Prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis caused by a genetic compound heterozygosity for two different alpha-thalassemia determinants. *Fetal Diagn Ther* 2007; 22: 264-268.
28. Viprakasit V, Tanphaichitr VS. Compound heterozygosity for alpha0-thalassemia (- -THAI) and Hb Constant Spring causes severe Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 155-162.
29. Waye JS, Eng B, Patterson M, Chui DH, Olivieri NF. Identification of a novel termination codon mutation (TAA \rightarrow TAT, Term \rightarrow Tyr) in the alpha 2 globin gene of a Laotian girl with hemoglobin H disease. *Blood* 1994; 83: 3418-3420.
30. Viprakasit V, Tanphaichitr VS, Pung-Amritt P, Petrarat S, Suwantol L, Fisher C, Higgs DR. Clinical phenotypes and molecular characterization of Hb H-Pakse' disease. *Haematologica* 2002; 87:117-125.
31. Jetsrisuparb A, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S, Wiangnon S, Jetsrisuparb C, Sirijirachai J, Chansong K. Development of severe anemia during fever episodes in patients with hemoglobin E trait and hemoglobin H disease combinations. *J Pediatr Hematol Oncol* 2006; 28: 249-253.

32. Sanchaisuriya K, Chirakul S, Srivorakun H, Fucharoen G, Fucharoen S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya P. Effective screening for double heterozygosity of Hb E/ α (0)-thalassemia. *Ann Hematol* 2008; 87(11):911-914.
33. World Health Organization. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO database on anemia. Geneva, World Health Organization, 2008.
34. Panomai N, Sanchaisuriya K, Yamsri S, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Fucharoen S, Schelp FP. Thalassemia and iron deficiency in a group of northeast Thai school children: relationship to the occurrence of anemia. *Eur J Pediatr* 2010; (in press).
35. Thurlow RA, Winichagoon P, Green T, Wasantwisut E, Pongcharoen T, Bailey KB, Gibson RS. Only a small proportion of anaemia in northeast Thai schoolchildren is associated with iron deficiency. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 380-387.

ผลผลิตและผลลัพธ์จากโครงการ

1. การเผยแพร่ผลงานวิจัย

1.1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์

- 1.1.1. ชูรัตน์ เฟ่งพินิจ, นิรันดร มณีกานนท์, ประนอม คุณพระมา, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. ผลการดำเนินงานค้นหาความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน จังหวัดขอนแก่น. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2553; 22: 149-159.
- 1.1.2. จุฑารัตน์ พลภักดี, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, อัญทิศา ตรีภพ, จักรพันธ์ วันดี, กุลนภา พู่เจริญ, สุพรรณ พู่เจริญ. การพัฒนาระบบการควบคุมคุณภาพภายในและการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2553; 22: 130-138.

1.2. ผลงานวิจัยที่ยังไม่ได้ตีพิมพ์

1.2.1. ต้นฉบับที่ส่งวารสารวิชาการนานาชาติเพื่อขอรับการตีพิมพ์

- 1.2.1.1. Sanchaisuriya K, Tritipsombut J, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Fucharoen S, Frank P Schelp. Validation and improvement of rapid combined tests for screening of thalassemia in pregnancy at the community level. (submitted)

1.2.2. ผลงานที่เผยแพร่ในที่ประชุมวิชาการ

- 1.2.2.1. Sanchaisuriya K, Tritipsombut J, Sanchaisuriya P, Fucharoen S, Fucharoen G. False positive and false negative rates of OF and DCIP screening for α^0 -thalassemia, β -thalassemia and Hb E at five peripheral health care facilities in northeast Thailand. Paper presented at the 11th International Conference on Thalassemia and Haemoglobinopathies. Singapore, 8-11 October 2008.
- 1.2.2.2. Sanchaisuriya K, Tritipsombut J, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Fucharoen S. Situation of thalassemia screening in northeast Thailand: a lesson from 10 community hospitals. Paper presented at the 15th National Conference on Thalassemia. Charoensri Grand Royal, Udornthani, 22-24 April 2009.
- 1.2.2.3. Tritipsombut J, Sanchaisuriya K, Phollarp P, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Fucharoen S. Frequencies and hematological parameters of thalassemia and hemoglobinopathies in northeast Thailand: implications for prevention and control. Paper presented at the Commission on Higher Education Congress III, University Staff Development Consortium. Royal Cliff Grand Hotel and Spa, Pattaya, 9-11 September 2010.

1.2.3. ผลงานที่อยู่ระหว่างการเตรียมต้นฉบับเพื่อขอรับการตีพิมพ์

- 1.2.3.1. Tritipsombut J, Sanchaisuriya K, Phollarp P, Sanchaisuriya P, Fucharoen S, Fucharoen G. Frequencies and hematological parameters of thalassemia and hemoglobinopathies in different regions of northeast Thailand: implications for prevention and control.
- 1.2.3.2. Prachatip Phollarp, Sanchaisuriya K, Tritipsombut J, Sanchaisuriya P, Fucharoen S, Fucharoen G. Effect of α -thalassemia 2 and iron deficiency on thalassemia screening.

2. สื่อโปสเตอร์วิธีการมาตรฐานการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KRU-OF และ KRU-DCIP

โครงการฯ ได้ผลิตสื่อผังการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KRU-OF และ KRU-DCIP มอบให้โรงพยาบาลชุมชนทั่วประเทศไปแล้ว มากกว่า 100 แห่ง รวมทั้งมอบให้โรงพยาบาลในนครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว 3 แห่ง

3. จัดอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ให้กับโรงพยาบาลชุมชน 3 แห่ง

4. การเชื่อมโยงกับต่างประเทศ

สร้างเครือข่ายความร่วมมือพัฒนาการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียกับประเทศอนุภูมิภาคลุ่มน้ำโขง โดยได้ เจริญจากความร่วมมือและจัดอบรมวิธีการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์นํ้ายาตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและสื่อโปสเตอร์วิธีการมาตรฐานการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KRU-OF และ KRU-DCIP ให้กับโรงพยาบาลในนครหลวงเวียงจันทน์ 3 แห่ง คือ โรงพยาบาลแม่และเด็ก, โรงพยาบาลมโหสถ และโรงพยาบาลเซษฐาธิราช ภายใต้โครงการวิทยานิพนธ์นักศึกษาระดับปริญญาโท และได้เจริญจากความร่วมมือกับ Hue Regional Hematology and Blood Transfusion Center, Hue College of Medicine and Pharmacy ประเทศเวียดนาม เพื่อดำเนินการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียหญิงตั้งครรภ์ในเมืองเว้ ภายใต้โครงการวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก

5. เกียรติบัตรรับรองประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย มอบให้กับโรงพยาบาลชุมชนที่ร่วมโครงการ



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.
Reprint ผลงานวิจัย

การพัฒนาระบบการควบคุมคุณภาพภายในและการทดสอบความชำนาญ การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์

จตุรนต์ แลกาศิ^{1,2}, กบวรสุน แสขุโยสุริยา^{3*}, อัญทิศา ศรีภพ², จักรพันธ์ วนดี², กุลนภา ฟูเจริญ³, สุพรรณ ฟูเจริญ³

บทคัดย่อ

โรงพยาบาลลำปลายมาศได้ดำเนินการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยการทดสอบ OF และ DCIP มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ที่ผ่านมายังไม่มีระบบควบคุมคุณภาพ ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาระบบการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการและระบบการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียขึ้น โดยกำหนดให้มีบุคลากรทำหน้าที่คัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวัน ด้วยเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างควบคุมผลบวกจากค่า $MCV < 75$ fl ร่วมกับ $Hb > 10$ g/dl และคัดเลือกตัวอย่างควบคุมผลลบจากค่า $MCV > 85$ fl ร่วมกับ $Hb > 12$ g/dl ตัวอย่างควบคุมที่คัดเลือกถูกนำมาทดสอบกรองโดยผู้คัดเลือกก่อน แล้วจึงส่งให้ผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน ตรวจสอบต่อไปโดยไม่ให้ทราบว่า เป็นตัวอย่างควบคุมและให้บันทึกผลเสมือนหนึ่งเป็นตัวอย่างเลือดผู้มารับบริการตามปกติ ดำเนินการในระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน 2552 คัดเลือกตัวอย่างควบคุมได้ทั้งสิ้น 100 ราย แบ่งเป็นตัวอย่างควบคุมผลบวก 66 ราย และตัวอย่างควบคุมผลลบ 34 ราย ตัวอย่างทุกรายถูกส่งไปยังศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐาน ประเมินความสอดคล้องของผลการตรวจคัดกรองระหว่างผู้ปฏิบัติงาน 2 คน ด้วยสถิติ Kappa รวมทั้งประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจากความถูกต้องของผลการตรวจคัดกรองในตัวอย่างควบคุม โดยกำหนดเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ไม่พบผลลบปลอมของการตรวจคัดกรองพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ด้วย OF-test และไม่พบผลลบปลอมของการทดสอบ DCIP ในรายที่มีปริมาณ Hb E มากกว่าร้อยละ 25 รวมทั้งพบผลบวกปลอมของการตรวจคัดกรองได้น้อยกว่าร้อยละ 20 สำหรับตัวอย่างที่ไม่ได้เป็นพาหะธาลัสซีเมียทั้งสามชนิด จากการประเมินความสอดคล้อง พบว่า ผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน ให้ผลสอดคล้องในระดับดีมาก โดยการทดสอบ OF มีค่า Kappa = 0.93 ส่วนการทดสอบ DCIP มีค่า Kappa = 0.96 ผลการประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย พบว่าผู้ปฏิบัติงานประจำทั้งสองคนมีความชำนาญการตรวจคัดกรองในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงให้เห็นว่า ผู้ปฏิบัติงานตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลลำปลายมาศ สามารถทำการทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นมาตรฐานเดียวกัน ระบบการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการและการทดสอบความชำนาญที่พัฒนาขึ้นเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่ให้มีประสิทธิภาพได้ต่อไป

คำสำคัญ : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย, OF/DCIP, การควบคุมคุณภาพ, การทดสอบความชำนาญ

¹หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพยาบาลคลินิกและการจัดการ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,

²โรงพยาบาลลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์,

³ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Development of internal quality control and proficiency testing program for thalassemia screening at Lamplaimat Hospital, Burirum province

Jutharat Phonpakdee^{1,2}, Kanokwan Sanchaisuriya^{3*}, Jukrapan Wandee², Auntita Treepop², Goonnapa Fucharoen³, Supan Fucharoen³

Abstract

Thalassemia screening using a combined osmotic fragility (OF) test and dichlorophenolindophenol (DCIP) precipitation test has been implemented in Lamplaimat Hospital since 2005. However, quality control (QC) system has not yet been established. In order to develop an internal QC and proficiency testing program for thalassemia screening, one of laboratory staffs was assigned to prepare QC samples by selecting left-over blood samples from routine practice. The selection criterion for positive QC was MCV < 75 fl and Hb > 10 g/dl. For negative QC, sample with MCV > 85 fl and Hb > 12 g/dl was selected. These QC samples were firstly tested using the OF and DCIP tests by the assigned staff and then blindly tested by the other two laboratory staffs who took responsibility on the OF/DCIP screening in routine practice. The screening results were recorded as unknown samples. From January to June 2009, a total of 100 QC samples (66 positive QC and 34 negative QC) were collected. All of them were sent to the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, to investigate for thalassemia and hemoglobinopathies using standard methods. Agreement of the OF/DCIP screening between the 2 staffs was evaluated using Kappa statistics. Acceptable proficiency testing was assessed according to the criteria of no false negative OF result in α -thalassemia 1 or β -thalassemia carrier and no false negative DCIP result in Hb E carrier with Hb E > 25% and with false positive rate of less than 20 % in normal QC samples (sample without α -thalassemia 1, β -thalassemia and Hb E). Based on Kappa analysis, a perfect agreement was obtained for both OF test (K = 0.93) and DCIP test (K = 0.96). Proficiency testing on thalassemia screening of the two staffs revealed acceptable result. The data indicates the same standard in performing thalassemia screening of the Lamplaimat's laboratory staffs. The internal QC and proficiency testing program established in this study should prove useful for effective prevention and control of thalassemia in the region.

Keywords: Thalassemia screening, OF/DCIP, Quality control, Proficiency testing

¹Master of Sciences in Clinical Pathology and Management, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,

²Lamplaimat Hospital, Burirum Province,

³Center for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: kanokwan@kku.ac.th)

บทนำ

โรคเลือดจางธาลัสซีเมียเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของหลายประเทศทั่วโลก เกิดจากความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ของการสร้างฮีโมโกลบิน สำหรับประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศนโยบายส่งเสริมป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิด คือ homozygous α -thalassemia 1 (Hb Bart's hydrops fetalis), homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia / Hb E⁽¹⁾ โดยกำหนดให้ตรวจคัดกรองหญิงตั้งครรภ์ทุกรายที่สมัครใจด้วย OF test ร่วมกับ DCIP test หรือ MCV ร่วมกับ DCIP test โดย OF test หรือ MCV เป็นการทดสอบที่ใช้ในการค้นหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมียและบีตาธาลัสซีเมีย ส่วน DCIP ใช้เพื่อค้นหาพาหะฮีโมโกลบินอี⁽²⁻⁴⁾ หากให้ผลการทดสอบอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นบวกให้ส่งตรวจยืนยันต่อ แต่หากให้ผลการทดสอบเป็นลบทั้งสองการทดสอบ ถือว่าไม่มีความเสี่ยงต่อการมีลูกเป็นธาลัสซีเมียที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมและป้องกัน ให้ดูแลครรภ์ตามปกติไม่จำเป็นต้องส่งตรวจยืนยันแต่อย่างใด ดังนั้นการตรวจกรองที่ใช้จึงไม่ควรมีผลลบปลอม เนื่องจากจะทำให้หญิงตั้งครรภ์และคู่สมรสไม่ได้รับคำแนะนำเพื่อการควบคุมและป้องกันที่เหมาะสมและมีโอกาสที่ทารกในครรภ์จะเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้

ปัจจุบันการทดสอบ OF และ DCIP ได้มีการผลิตเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปจำหน่ายและใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยชุดน้ำยาสำเร็จรูปที่นิยมใช้กันทั่วไปคือ KKU OF และ KKU DCIP Clear⁽⁵⁾ แต่ชุดน้ำยาดังกล่าวยังไม่มีตัวอย่างควบคุมคุณภาพให้เท่ากับบรรจุภัณฑ์ เนื่องจากข้อจำกัดของการทดสอบที่จะต้องใช้เลือดใหม่ในการทดสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง OF test ดังนั้นโรงพยาบาลแต่ละแห่งจะต้องจัดหาเลือดสำหรับควบคุมคุณภาพเอง ซึ่งห้องปฏิบัติการหลายแห่งไม่ได้ดำเนินการในส่วนนี้ จึงส่งผลให้มีรายงานการตรวจกรองที่ผิดพลาดได้^(6, 7)

โรงพยาบาลลำปลายมาศ จ. บุรีรัมย์ เป็นโรงพยาบาลที่ได้ดำเนินการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียอย่างจริงจัง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุข ที่ผ่านมายังไม่มีระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการทดสอบ ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบการ

ควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียภายในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศขึ้น โดยนำแนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันตามที่มีผู้แนะนำไว้⁽⁸⁾ มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในงานประจำวัน อีกทั้งมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของบุคลากรห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศ โดยร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งสนับสนุนการตรวจยืนยันโดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอ

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. การคัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ให้บุคลากร 1 คน ทำหน้าที่คัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจ CBC ในงานประจำวัน เพื่อใช้เป็นตัวอย่างเป็นตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบ โดยใช้เกณฑ์ MCV < 75 fl ร่วมกับ Hb > 10 g/dl สำหรับตัวอย่างควบคุมผลบวก และ MCV > 85 fl ร่วมกับ Hb > 12 g/dl สำหรับตัวอย่างควบคุมผลลบ⁽⁸⁾

โครงการวิจัยนี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE 522230)

2. ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการ

2.1 ผู้คัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (P1) ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่คัดเลือก บันทึกผลการทดสอบเก็บเป็นข้อมูลเบื้องต้น

2.2 ผู้คัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพจัดเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพเสมือนหนึ่งเป็นตัวอย่างผู้มารับบริการการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ส่งให้กับผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน (เป็นผู้ปฏิบัติงานหลัก 1 คน คือ P2 และผู้ปฏิบัติงานเสริม 1 คน คือ P3) ทำการทดสอบควบคู่กับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในระบบปกติ โดยที่ไม่ทราบว่าเป็นตัวอย่างรายใดคือตัวอย่างควบคุมคุณภาพและบันทึกผลการทดสอบ

2.3 แบ่งตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพที่เหลือ ส่งมายังศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย

ขอนแก่น เพื่อตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และ/หรือ capillary zone electrophoresis (Sebia, France) และตรวจยีน α -thalassemia 1 (SEA และ THAI deletion) ด้วยวิธี gap PCR⁽⁹⁾

2.4 ประเมินผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของผู้ปฏิบัติงานโดยเปรียบเทียบกับผลการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐานและเปรียบเทียบระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำและประเมินความชำนาญการตรวจกรองโดยกำหนดเกณฑ์ ดังนี้

ผลการตรวจยืนยัน	เกณฑ์ที่ยอมรับได้
พาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia	ไม่พบ false negative ในรายที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 และ β^0 -thalassemia
พาหะ HbE	ไม่พบ false negative ในรายที่เป็นพาหะ Hb E และมีปริมาณ Hb E > 25 %
Non - thalassaemia	False positive (FP) < 20 % *

* กำหนดเกณฑ์จากข้อมูลการศึกษาของ ประชาธิป พลลาภ และคณะ (8) ที่พบ FP rate ของการตรวจคัดกรองด้วย OF / DCIP ประมาณร้อยละ 20 ในตัวอย่างควบคุมที่เป็นลบ

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำด้วยสถิติ Kappa⁽¹⁰⁾ และประเมินความชำนาญการทดสอบของผู้ปฏิบัติงานเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานตามเกณฑ์ที่กำหนด

ผลการศึกษา

จากการดำเนินการจัดตั้งระบบการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการในระหว่างเดือน มกราคม ถึง เดือน มิถุนายน 2552 โดยจัดส่งตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบที่ได้คัดเลือกจากตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันให้ผู้ปฏิบัติงานทำการทดสอบควบคู่กับตัวอย่างที่ส่งตรวจคัดกรองตามระบบปกติ ได้ตัวอย่างควบคุมทั้งสิ้น 100 ราย แบ่งเป็นตัวอย่างควบคุมผลบวก 66 ราย และตัวอย่างควบคุมผลลบ 34 ราย ผลการตรวจคัดกรองด้วย OF test และ DCIP-test ในตัวอย่างควบคุมทั้งสองกลุ่ม โดยผู้คัดเลือกตัวอย่าง (P1) และผู้ปฏิบัติงานประจำทั้งสองคน (P2 และ P3) จำแนกตามผลการตรวจยืนยัน แสดงไว้ใน ตารางที่ 1

ผลการประเมินผลการทดสอบระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน โดยประเมินจำแนกตามการทดสอบ พบว่า ผลการทดสอบ OF มีจำนวนตัวอย่างที่อ่านผลไม่ตรงกัน รวม 3 ราย และ ผลการทดสอบ DCIP มีตัวอย่างที่อ่านผลไม่ตรงกันรวม

2 ราย (ตารางที่ 2) เมื่อประเมินความสอดคล้องของผลการทดสอบ OF และ DCIP ด้วยค่า Kappa พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.93 และ 0.96 ตามลำดับ

เมื่อประเมินความชำนาญการทดสอบของผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน โดยใช้เกณฑ์ที่กำหนด พบว่า ผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของผู้ปฏิบัติงานประจำ ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ส่วนผู้ปฏิบัติงานเสริม พบผลลบปลอมของการทดสอบ OF จำนวน 1 ราย (ตารางที่ 3)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การพัฒนากระบวนการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศ ได้ดำเนินการโดยกำหนดให้มีบุคลากรทำหน้าที่จัดเตรียมตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบ โดยคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันตามเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างที่ ประชาธิป พลลาภ และคณะ⁽⁸⁾ ได้เสนอไว้ จากนั้นผู้คัดเลือกตัวอย่างเลือดทำการทดสอบ OF/DCIP ก่อน เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น และส่งตัวอย่างควบคุมให้ผู้ปฏิบัติงานประจำทำการทดสอบควบคู่ไปกับตัวอย่างเลือดผู้มารับบริการ ซึ่งผู้ปฏิบัติงานไม่ทราบว่าตัวอย่างใดเป็นตัวอย่างควบคุม รวมทั้งได้กำหนดให้ผู้ปฏิบัติงานเสริมอีก 1 คน ทำการทดสอบตัวอย่างควบคุมด้วย จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างควบคุมผลลบทุกรายมีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A₂A และไม่ใช่

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบ โดยผู้คัดเลือกตัวอย่างและผู้ปฏิบัติงานประจำ จำแนกตามชนิดฮีโมโกลบินและผลการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย

กลุ่ม	ชนิดฮีโมโกลบิน	ผลการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย *	OF/DCIP	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ		
				โดย P1	โดย P2	โดย P3
กลุ่มที่ 1	A ₂ A	α-thalassemia 1 trait (N = 4)	+/-	3	3	3
			+/+	1	1	1
		β-thalassemia trait (N = 1)	+/+	1	1	1
		Non α-thalassemia 1 and β-thalassemia (N = 6)	-/+	3	2	3
			+/-	1	1	1
			+/+	2	3	2
	EA	Hb E trait (N = 38)	-/+	28	29	28
			+/+	10	9	10
		Hb E trait with α-thalassemia 1 (N = 5)	+/-	2	0	2
			+/+	3	5	3
-/+			0	0	1	
CS EA**	Hb E trait with Hb CS (N = 1)	+/-	1	1	1	
EE	Homozygous Hb E without α-thalassemia 1 (N = 10)	+/+	10	10	10	
CSA ₂ A	Hb CS trait	+/+	1	1	1	
กลุ่มที่ 2	A ₂ A	Non α-thalassemia 1 and β-thalassemia (N = 34)	-/-	34	34	34

* วินิจฉัยจากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและผลการตรวจยีน α-thalassemia 1, ** Hb E = 19.7 %

พาหะ α-thalassemia 1 และ β-thalassemia และพบว่าผู้ปฏิบัติงานทั้งสามคนให้ผลการตรวจเป็นลบทั้งสองการทดสอบตรงกัน แสดงให้เห็นว่าด้วยเกณฑ์การคัดเลือกสามารถใช้ในการคัดเลือกตัวอย่างควบคุมผลบวกได้เป็นอย่างดี ส่วนกลุ่มควบคุมผลบวกพบผลการตรวจคัดกรองได้หลายรูปแบบ รวมทั้งพบพาหะธาลัสซีเมียได้หลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นพาหะ Hb E ทั้งที่มีและไม่มี α-thalassemia 1 ร่วม และที่พบมารองลงมา คือ homozygous Hb E (ตารางที่ 1)

ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของประชาติป พลลาภ และคณะ⁽⁸⁾ ที่พบว่า ด้วยเกณฑ์การคัดเลือกทำให้มีโอกาสพบตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินอีได้สูงกว่าธาลัสซีเมียชนิดอื่นเนื่องจากเป็นตัวอย่างเลือดของกลุ่มประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีความชุกของฮีโมโกลบินอีสูงกว่า^(11,12) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ สามารถคัดตัวอย่างควบคุมที่เป็นพาหะ α-thalassemia 1 เข้ามา รวมทั้งสิ้น 9 ราย รวมทั้งพบตัวอย่างที่เป็นพาหะ β-thalassemia 1 ราย สะท้อนโดย

ทางอ้อมว่า ในพื้นที่นี้ น่าจะมีความชุกของ α -thalassemia 1 สูงเช่นกัน รวมทั้งมีโอกาสพบพาหะ β -thalassemia ด้วย ทำให้มีโอกาสพบโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมป้องกันได้สูงทั้งสามโรค เป็นข้อมูลให้ผู้ปฏิบัติงานตระหนักว่าผลการตรวจคัดกรองในพื้นที่ควรมีความถูกต้องสูง และหากพิจารณาผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในกลุ่มควบคุมผลบวกจะเห็นว่าในรายที่มียีน α -thalassemia 1 แผลง และ β -thalassemia ซึ่งควรให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวกนั้น ผู้ปฏิบัติงานทั้งสามคนได้ผล OF เป็นบวกตรงกัน ยกเว้น 1 รายที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 ร่วมกับ Hb E ที่ผู้ปฏิบัติงานเสริม (P3) อ่านผลการทดสอบ OF เป็นลบ ส่วนในรายที่มี Hb E ส่วนใหญ่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกตรงกัน ยกเว้นรายที่เป็นพาหะ Hb E ที่มียีน α -thalassemia 1 ร่วม 2 ราย ที่มีผู้ปฏิบัติงานประจำ (P2) เพียงคนเดียว ที่มีผลการตรวจเป็นบวกถูกต้อง และ พาหะ Hb E ร่วมกับ Hb Constant Spring อีก 1 ราย ซึ่งเป็นรายที่มีปริมาณ Hb E ต่ำกว่าร้อยละ 25 ซึ่งผู้ปฏิบัติงานทั้งสามคนรายงานผล DCIP เป็นลบตรงกันทั้งสามคน จึงถือได้ว่าบุคลากรทั้งสามคนมีผลการตรวจที่สอดคล้องกัน

จากการวิเคราะห์ความสอดคล้องผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยสถิติ Kappa จะเห็นได้ว่า ผลการตรวจคัดกรองของผู้ปฏิบัติงานประจำ (P2) และผู้ปฏิบัติงานเสริม (P3) มีผลสอดคล้องในระดับดีมากทั้งการทดสอบ OF ($K = 0.93$) และ DCIP ($K = 0.96$) โดยที่การทดสอบ OF มีตัวอย่างที่ให้ผลไม่สอดคล้องกัน เพียง 3 ราย ส่วนการทดสอบ DCIP มีผลที่ไม่สอดคล้องกันเพียง 2 ราย (ตารางที่ 2) ซึ่งผลที่ไม่สอดคล้องไม่ส่งผลกระทบให้เกิดผลลบปลอมของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้สองการทดสอบร่วมกัน เนื่องจากตัวอย่างที่ให้ผลไม่สอดคล้องต่อการทดสอบ OF นั้น 2 ราย เป็นตัวอย่างที่เป็นพาหะ Hb E ที่ไม่มียีน α -

thalassemia 1 ร่วม ซึ่งอาจให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวกหรือลบก็ได้^(2,3) ส่วนอีก 1 ราย จากผลการตรวจยืนยันพบว่า เป็นพาหะ Hb E ที่มี α -thalassemia 1 ร่วม ซึ่งผู้ปฏิบัติงานรายงานผลการทดสอบ DCIP เป็นบวก จึงไม่กระทบต่อผลการคัดกรองโดยใช้สองการทดสอบร่วมกัน ส่วนผลที่ไม่สอดคล้องต่อการทดสอบ DCIP เป็นตัวอย่างที่เป็นพาหะ Hb E ที่มียีน α -thalassemia 1 แผลง จึงอาจให้ผลความชุ่นที่ไม่ชัดเจนได้ เนื่องจากผู้ที่เป็นพาหะ Hb E ที่มียีน α -thalassemia 1 จะส่งผลให้ปริมาณ Hb E ลดต่ำลง⁽¹³⁾ อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างทั้งสองรายนี้ให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวก จึงไม่ถูกคัดกรองออกจากระบบการตรวจคัดกรองแต่อย่างใดจากข้อมูลความสอดคล้องข้างต้น แสดงให้เห็นว่า ผู้ปฏิบัติงานของโรงพยาบาลลำปลายมาศ มีมาตรฐานการทดสอบและอ่านผลไม่แตกต่างกัน สามารถทำงานทดแทนกันได้เป็นอย่างดี

หากประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของบุคลากรรายบุคคล โดยเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองจำแนกตามการทดสอบกับผลการวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐาน โดยกำหนดเกณฑ์ว่าไม่ควรมีผลลบปลอมของการทดสอบ OF ในรายที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia และไม่ควรมีผลลบปลอมของการทดสอบ DCIP ในรายที่เป็นพาหะ Hb E ที่มีปริมาณ Hb E มากกว่าร้อยละ 25 ของฮีโมโกลบินทั้งหมด รวมทั้งยอมรับอัตราผลบวกปลอมได้ไม่เกินร้อยละ 20 ในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่พาหะเป้าหมายทั้งสามชนิด ถือได้ว่าผู้ปฏิบัติงานประจำ (P2) และผู้คัดเลือกตัวอย่าง (P2) มีความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ตารางที่ 3) ส่วนผู้ปฏิบัติงานเสริม (P3) นั้นอาจต้องพิจารณาปรับปรุงการอ่านผลการทดสอบ OF เนื่องจากพบผลลบปลอมของการทดสอบ OF ในตัวอย่างที่เป็นพาหะเป้าหมาย

ตารางที่ 2 ความสอดคล้องของผลการทดสอบ OF test และ DCIP-test โดยผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน

Screening by P3	Screening by P2		Total
	Positive	Negative	
OF-test			
Positive	33	1	34
Negative	2	64	66
Total	35	65	100
DCIP-test			
Positive	59	0	59
Negative	2	39	41
Total	61	39	100

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของผู้ทำการทดสอบ 3 คน

ผลการตรวจ ยืนยัน	เกณฑ์การประเมิน	ผลการตรวจคัดกรอง			ผลการ ประเมิน
		P1	P2	P3	
พาหะ α -thal 1 และ β -thal	ไม่พบ false negative ของการทดสอบ OF-test ในรายที่เป็นพาหะ α -thal 1 และ β^0 -thal	FN = 0	FN = 0	FN = 10 % (1/10)	ผ่าน (เฉพาะ P1 และ P2)
พาหะ Hb E	ไม่พบ false negative ของการทดสอบ DCIP ในรายที่เป็นพาหะ Hb E และมี ปริมาณ Hb E > 25 % หรือไม่มีพาหะ α -thal 1 ร่วม	FN = 0	FN = 0	FN = 0	ผ่าน
Non α -thal 1, β -thal, Hb E	พบ false positive ของการตรวจคัด กรองด้วย OF/DCIP ได้ไม่เกิน 20 %	FP = 15.0 % (6/40)	FP = 15.0 % (6/40)	FP = 15.0 % (6/40)	ผ่าน

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเริ่มต้นพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ จากผลการศึกษาที่ได้ทำให้ทราบว่าบุคลากรในโครงการมีความชำนาญการทดสอบที่เป็นมาตรฐานเดียวกันและมีประสิทธิภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซึ่งจะนำไปสู่การดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาของห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปางมาศโดยตรงแล้ว การศึกษานี้จะเป็นประโยชน์สำหรับโรง

พยาบาลชุมชนอื่นๆที่ต้องการพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียภายในห้องปฏิบัติการขึ้น นอกเหนือจากการจัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน (standard operating procedure; SOP) ดังที่ ศาสตราจารย์วันทอง และคณะได้เสนอไว้⁽¹⁴⁾ และมีข้อเสนอแนะว่าในระยะเริ่มต้นอาจขอความร่วมมือกับโรงพยาบาลจังหวัดหรือโรงพยาบาลศูนย์ที่เป็นแม่ข่ายในการตรวจยืนยัน ซึ่งทำให้ทราบความชำนาญและมาตรฐานการปฏิบัติงานของบุคลากรที่เกี่ยวข้องในเบื้องต้น

หลังจากนั้นควรส่งตัวอย่างควบคุมภายในห้องปฏิบัติการเอง โดยอาจดำเนินการเป็นระยะ หากพบผลที่ไม่สอดคล้องหรือไม่เป็นไปตามที่คาดหมาย ก็จะเป็นข้อพึงตระหนักให้ผู้ปฏิบัติงานวิเคราะห์หาสาเหตุเพื่อดำเนินการแก้ไขต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย “สถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย” ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากทุนสนับสนุนการศึกษาอิสระ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบพระคุณ นพ.ยิ่งเกียรติ พิษณุวงศ์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลลำปลายมาศ และคุณเสาวณีย์ จิตสัตย์ หัวหน้าห้องปฏิบัติการชั้นสูตร ที่สนับสนุนการดำเนินการวิจัยในโรงพยาบาล รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชั้นสูตรทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือการเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย เทียนถาวร. คำประกาศนโยบายส่งเสริม ป้องกัน และควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของประเทศไทย. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 11, ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพมหานคร, วันที่ 1-2 กันยายน 2548.
2. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-72.
3. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, 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.
4. กุลนภา พุเจอร์ญู, สุพรรณ พุเจอร์ญู. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2551; 20: 165-77.
5. สุพรรณ พุเจอร์ญู, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พุเจอร์ญู, ญัฐยา แซ่อึ้ง. สิทธิบัตรเลขที่ 18004 กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์ ประเทศไทย.
6. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ประทีป คุรุวรรณ, โสภารัตน์มี ฝะกาย, ศุภลักษณ์ จันคำ, ญัฐยา แซ่อึ้ง, กุลนภา พุเจอร์ญู และคณะ. การประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลชุมชน. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 42-53.
7. สิทธิชัย ปัญญาใส, สนธยา ชีช่วง. ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาล 3 แห่ง ในจังหวัดนครศรีธรรมราช. *สงขลานครินทร์เวชสาร* 2552; 27: 61-72.
8. ประชาธิป พลลาภ, รวิวรรณ พวงพฤษ, ฉลอง ทวีชีพ, สัมฤทธิ์ นิมมมงคล, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พุเจอร์ญู และคณะ. แนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF / DCIP. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 218 - 26.
9. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2006; 117: 78-82.
10. Altman D. *Practical statistics for medical research*. London: Chapman & Hall/CRC, 1999.
11. 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.
12. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Dietz E, et al. Thalassemia and hemoglobinopathies rather than iron deficiency are major causes of pregnancy-related anemia in northeast Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 37: 8-11.

13. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
14. สาคร วันทอง, กุลนภา พุ่เจริญ, เชี่ยวชาญ สระคูพันธ์, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่อึ้ง, สุพรรณ พุ่เจริญ. การจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 148-66.

ผลการดำเนินงานค้นหาผู้เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน จังหวัดขอนแก่น

บุรินทร์ พงษ์พิณ^{1,2}, บุรินทร์ มนต์กานนท์², ประบอบ คุณพระมา², กนกวรรณ แสนไชยสุริยา^{3*}

บทคัดย่อ

โรงพยาบาลพระยีนได้ดำเนินงานตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุข โดยมีแนวทางในการดำเนินงาน คือ ตรวจคัดกรองในหญิงตั้งครรภ์ และติดตามสามีในรายที่มีผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก หากพบว่าผลการตรวจคัดกรองในสามีเป็นบวกด้วย ก็จะส่งตัวอย่างเลือดคู่สมรสไปตรวจยืนยันโดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดขอนแก่น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลการดำเนินงานค้นหาผู้เสี่ยงของโรงพยาบาลพระยีน ระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551 โดยรวบรวมข้อมูลย้อนหลังหญิงตั้งครรภ์รายใหม่ที่มาใช้บริการฝากครรภ์ อัตรากារติดตามสามี และวิเคราะห์ความเสี่ยงจากผลตรวจคัดกรองและผลตรวจยืนยัน เพื่อประเมินอัตราการตรวจพบคู่สมรสเสี่ยง ผลการศึกษาจำแนกตามปีงบประมาณ 2549, 2550 และ 2551 พบหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก ร้อยละ 53.5, 49.3 และ 53.9 ในจำนวนนี้ติดตามสามีมาตรวจคัดกรองได้ร้อยละ 56.9, 76.1 และ 70.8 ตามลำดับ เมื่อประเมินความเสี่ยงจากผลตรวจคัดกรอง พบคู่เสี่ยงเฉลี่ย 3 ปี คิดเป็นร้อยละ 63.8 ของหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลคัดกรองผิดปกติ และพบคู่สมรสเสี่ยงจริงทั้งสิ้น 8 คู่ คิดเป็นร้อยละ 3.1 ของคู่สมรสที่รวบรวมได้ 260 คู่ โดยเป็นคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิด β -thalassemia / Hb E จำนวน 6 คู่ และ homozygous α -thalassemia 1 จำนวน 2 คู่ ผลการวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายการตรวจทางห้องปฏิบัติการในการค้นหาผู้เสี่ยง พบว่ามีค่าใช้จ่ายประมาณ 62,500 บาท/ปี คิดเป็นร้อยละ 0.9 ของค่าดูแลรักษาพยาบาลตลอดอายุขัยของผู้ป่วย 1 ราย ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า โรงพยาบาลพระยีน มีผลการดำเนินงานดีเป็นไปตามเป้าหมายของกระทรวงสาธารณสุข และสามารถพบค้นพบคู่เสี่ยงที่อาจนำไปสู่การป้องกันทารกเกิดใหม่เป็นโรคชนิดรุนแรงได้ อย่างไรก็ตาม ผลการประเมินความเสี่ยงจากรูปแบบผลตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในคู่สมรส พบว่าประมาณร้อยละ 25 ของคู่สมรสที่มีผลคัดกรองบวก มีโอกาสมีบุตรเป็น homozygous Hb E ดังนั้น ควรมีแนวทางอย่างง่ายเพื่อคัดคู่สมรสกลุ่มนี้ออกจากการส่งตรวจยืนยันเพื่อลดค่าใช้จ่ายที่ไม่จำเป็น

คำสำคัญ: การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย, คู่สมรสเสี่ยง, โรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง



¹หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
โรงพยาบาลพระยีน จังหวัดขอนแก่น

³ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Performance of thalassemia screening program for identification of at-risk couples at Prayuen Hospital, Khon Kaen province

Churat Pengpinij^{1,2}, Nirandorn Maneekanondh², Pranom Khunprama², Kanokwan Sanchaisuriya³ *

Abstract

Complying with national policy of the Ministry of Public Health, Prayuen Hospital has implemented thalassemia screening program since 2006. Based on the operational guidelines, pregnant women attending antenatal care service are screened for thalassemia using OF/DCIP approach. In case of positive results, the husbands are requested to be screened for thalassaemia as well. Accordingly, blood samples of the positive-screened couples are referred to the Regional Medical Sciences Center, Khon Kaen, to investigate further whether they have true risk. In order to evaluate the performance of thalassemia screening program conducted at Prayuen Hospital during 2006-2008, a retrospective data on the number of the first-visit pregnant women, number of positive screened couples as well as number of the at-risk couples were collected. The positive rate of thalassemia screening, the percentage of screened husbands and the positive rate of at-risk couples were calculated. It was found that the rate of positive screened women in 2006, 2007 and 2008 was 53.5 %, 49.3 % and 53.9 %, respectively. Of the positive-screened women, 56.6 %, 76.1 % and 70.8% of the husbands had been screened for thalassemia. During these 3 fiscal years, a total of 260 couples were gathered. Among them, 8 (3.1 %) were at risk of having babies with severe thalassemia diseases, i.e. 6 at risk of β -thalassemia / Hb E and 2 at risk of homozygous α -thalassemia 1. The expense of laboratory identification of at risk couples was 62,500 baht/year (0.9 % of treatment expense for 1 patient). The results demonstrated that Prayuen Hospital had good performance and complied with the goal of the Ministry of Public Health in that at-risk couples were identified. Consequently, the births of new cases with severe thalassemia diseases could be prevented. However, risk assessment based on Hb analysis revealed that approximate 25% of the positive screened couples were at risk of having babies with non-severe disease, i.e. homozygous Hb E. Therefore, a simple strategy for screening out of these couples is needed to reduce unnecessary expenses of laboratory confirmation.

Keywords: Thalassemia screening, Couple-at-risk, Severe thalassemia disease

¹Bachelor of Sciences in Medical Technology program, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,

²Prayuen Hospital, Khon Kaen Province,

³Center for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author: (e-mail: kanokwan@kku.ac.th)

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ของการสร้างฮีโมโกลบินที่มีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย โดยพบพาหะธาลัสซีเมียได้ประมาณร้อยละ 20-30 ของประชากร อีกทั้งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก⁽¹⁻³⁾ ทำให้มีโอกาสมพบผู้ที่ เป็นโรคที่มีอาการแสดงทางคลินิกที่มีความรุนแรงแตกต่างกันไป ชนิดที่มีอาการรุนแรงมากที่สุด คือ โรค Hb Bart's hydrops fetalis โดยผู้ที่ เป็นโรคนี้นักจะเสียชีวิตตั้งแต่ในครรภ์หรือหลังคลอดไม่นานนัก เกิดจากการได้รับการถ่ายทอดยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 มาจากทั้งพ่อและแม่ (homozygous α -thalassemia 1) ส่วนชนิดที่มีอาการแสดงทางคลินิกรุนแรงรองลงมา คือ โรคธาลัสซีเมียชนิดที่ เรียกว่า homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia/Hb E ซึ่งผู้ที่ เป็นโรคธาลัสซีเมียสองชนิดหลังนี้ ส่วนใหญ่จะมีอาการซีดเนื่องจากมีเม็ดเลือดแดงแตก มีตับและม้ามโตมาก ส่งผลให้มีลักษณะรูปร่างหน้าตาที่เปลี่ยนแปลงไป มีการเจริญเติบโตช้า ต้องได้รับการรักษาโดยการถ่ายเลือด⁽⁴⁾ ในรายที่รุนแรงมากและได้รับเลือดเป็นประจำต้องได้รับการรักษาโดยการให้ยาขับธาตุเหล็กต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง นับเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญ รวมทั้งเป็นปัญหาทางด้านเศรษฐกิจและสังคมทั้งต่อตัวผู้ป่วยและของประเทศ ดังนั้นกระทรวงสาธารณสุขจึงได้กำหนดเป็นนโยบายให้มีการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคเลือดจางธาลัสซีเมียขึ้นโดยมีเป้าหมายลดจำนวนทารกเกิดใหม่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงทั้งสามชนิด และกำหนดนโยบายให้สถานบริการสาธารณสุขทุกแห่งตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียที่เป็นเป้าหมายในหญิงตั้งครรภ์ทุกรายที่สมัครใจ และกำหนดแนวปฏิบัติสำหรับค้นหาพาหะธาลัสซีเมีย คือ ให้ตรวจคัดกรองหญิงตั้งครรภ์ด้วย OF/DCIP หรือ MCV/DCIP และติดตามสามีมาตรวจคัดกรองในรายที่มีผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก หากพบว่าสามีมีผลตรวจคัดกรองเป็นบวกด้วย ก็ให้ส่งตัวอย่างเลือดไปยังโรงพยาบาลศูนย์หรือโรงพยาบาลจังหวัดหรือหน่วยงานที่เป็นแม่ข่าย เพื่อตรวจยืนยันหรือให้การวินิจฉัยธาลัสซีเมีย และวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ต่อไป^(5, 6)

โรงพยาบาลพระยีน จังหวัดขอนแก่น เป็นโรงพยาบาลขนาด 30 เตียง ได้ดำเนินงานตรวจคัดกรองตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุขตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2549 โดยได้

ดำเนินงานตามแนวทางที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด จาก การดำเนินงานมาเป็นเวลา 3 ปี ทางโรงพยาบาลยังไม่เคยประเมินผลการดำเนินงานของโรงพยาบาลมาก่อน ในการศึกษานี้ จึงได้วิเคราะห์ผลการดำเนินงานของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจากข้อมูลย้อนหลัง ประกอบด้วย อัตราการตรวจพบผลคัดกรองที่เป็นบวก ซึ่งเป็นข้อมูลโดยอ้อมที่สะท้อนประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองของโรงพยาบาล อัตราการติดตามสามีหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลคัดกรองเป็นบวก และอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากการตรวจคัดกรองและคู่เสี่ยงจากการตรวจยืนยัน ซึ่งสะท้อนถึงโอกาสการตรวจพบโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในพื้นที่ รวมทั้งวิเคราะห์รูปแบบผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในคู่สมรส เพื่อประเมินโอกาสการพบคู่สมรสที่เสี่ยงจริงในพื้นที่

วิธีการศึกษา

1. แนวทางการดำเนินงานคัดกรองธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลพระยีน

1.1 หญิงตั้งครรภ์ทุกรายได้รับฟังคำชี้แจงจากงานเวชปฏิบัติครอบครัวเกี่ยวกับการคัดกรองธาลัสซีเมียก่อนการเจาะเลือด

1.2 เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF/DCIP ตัวอย่างเลือดหญิงตั้งครรภ์ทุกราย และแจ้งผลไปยังงานเวชปฏิบัติครอบครัว

1.3 เจ้าหน้าที่งานเวชปฏิบัติครอบครัวให้คำปรึกษาในเบื้องต้นแก่หญิงตั้งครรภ์ที่มีผลคัดกรองผิดปกติ และติดตามสามีมาเจาะเลือดตรวจคัดกรองด้วย

1.4 ส่งตัวอย่างเลือดคู่สมรสทุกคู่ที่มีผลคัดกรองด้วย OF/DCIP เป็นบวก (ทั้งแบบที่เป็น +/-, -/+ และ +/+) ไปตรวจยืนยันที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดขอนแก่น ตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในตัวอย่างเลือดทุกรายและพิจารณาเลือกตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 ในตัวอย่างบางรายตามความเหมาะสม และแจ้งผลกลับมายังโรงพยาบาลพระยีน

1.5 เจ้าหน้าที่เจ้าหน้าที่งานเวชปฏิบัติครอบครัวส่งคู่สมรสเสี่ยงพบแพทย์เพื่อให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ ในกรณีที่คู่สมรสมีความประสงค์ตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ จะส่งคู่สมรสไปยังโรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่นหรือโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

รวบรวมข้อมูลย้อนหลัง ปีงบประมาณ 2549, 2550 และ 2551 จากงานเวชระเบียนและสมุดบันทึกผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย ข้อมูลจำนวนหญิงตั้งครรภ์รายใหม่และจำนวนสามีหญิงตั้งครรภ์ที่ติดตามได้ จำนวนหญิงตั้งครรภ์และสามีที่มีผลตรวจคัดกรองเป็นบวก และผลการตรวจยืนยันในคู่สมรส

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินผลการดำเนินงานเพื่อค้นหาคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โดยแสดงข้อมูลเป็นร้อยละของตัวชี้วัด ได้แก่ อัตราการตรวจพบผลคัดกรองที่เป็นบวก อัตราการติดตามสามี อัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากผลคัดกรอง อัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 รวมทั้งวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายการตรวจทางห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนการดำเนินงาน

ผลการศึกษา

1. จำนวนตัวอย่างและอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน ระหว่างปีงบประมาณ 2549 ถึง 2551

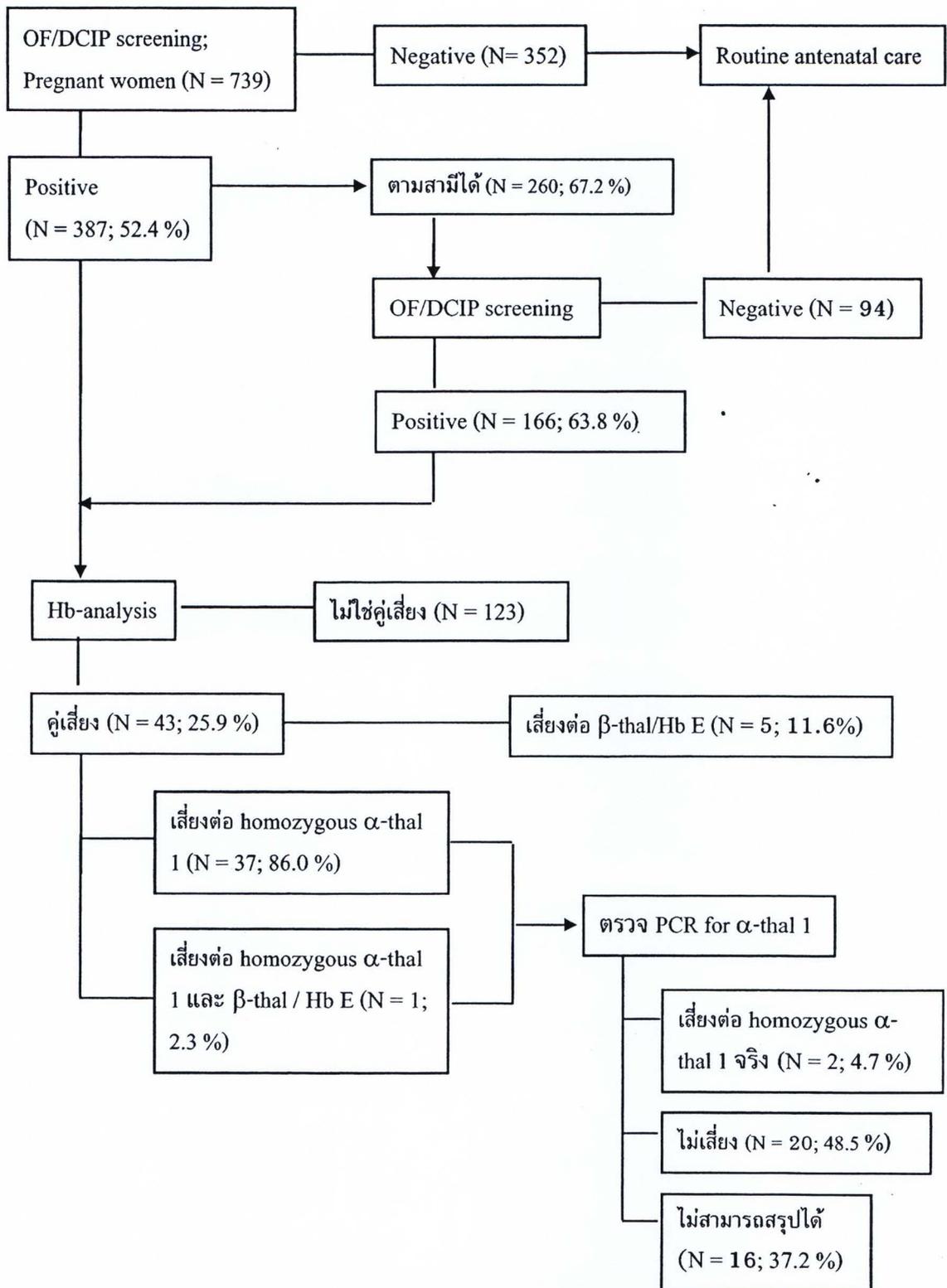
รูปที่ 1 แสดงจำนวนตัวอย่างและอัตราการพบตามขั้นตอนการดำเนินงานค้นหาคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน ระหว่างปีงบประมาณ 2549 ถึง 2551 จากหญิงตั้งครรภ์รายใหม่ที่ได้ตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP ในรอบ 3 ปี จำนวนทั้งสิ้น 739 ราย พบผลตรวจคัดกรองที่ผิดปกติ (ผลเป็น +/- หรือ -/+ หรือ +/+) จำนวน 387 ราย คิดเป็นร้อยละ 52.4 ในจำนวนนี้สามารถติดตามสามีได้ 260 ราย คิดเป็นร้อยละ 67.2 ของหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลผิดปกติ และพบผลคัดกรองผิดปกติในสามีจำนวน 166 ราย คิดเป็นคู่สมรสเสี่ยงจากการตรวจคัดกรองร้อยละ 63.8 ของคู่สมรสทั้งหมด จากการประเมินความเสี่ยงด้วยผลตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินที่ได้รับจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดขอนแก่น พบคู่เสี่ยงทั้งสิ้น 43 คู่ คิดเป็นร้อยละ 25.9 ของคู่สมรสเสี่ยงจากการตรวจคัดกรอง โดยเป็นคู่เสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1 จำนวน

37 คู่ และเสี่ยงต่อ β -thalassemia / Hb E จำนวน 5 คู่ และเสี่ยงต่อทั้ง homozygous α -thalassemia 1 และ β -thalassemia / Hb E จำนวน 1 คู่ คิดเป็นร้อยละของคู่เสี่ยงจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเท่ากับ 86.1, 11.6 และ 2.3 ตามลำดับ ในจำนวนคู่เสี่ยงต่อ homozygous β -thalassemia 1 มีคู่สมรสที่สามารถสรุปความเสี่ยงจากผลตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 ได้ทั้งสิ้น 22 คู่ และไม่สามารถสรุปได้เนื่องจากไม่มีผลตรวจวิเคราะห์ยีน จำนวน 16 คู่ โดยในจำนวนที่สามารถสรุปผลได้ พบคู่เสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1 จริง จำนวน 2 คู่

2. ผลการดำเนินงานค้นหาคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน จำแนกตามปีงบประมาณ

จากการดำเนินงานค้นหาคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน เมื่อเปรียบเทียบผลการดำเนินงานจำแนกตามปีงบประมาณ โดยเปรียบเทียบอัตราการตรวจตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก, อัตราการติดตามสามี, อัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากการตรวจคัดกรอง และอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากการตรวจยืนยัน พบว่า อัตราการตรวจพบตัวอย่างที่คัดกรองเป็นบวกมีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกันตลอด 3 ปี และพบว่าอัตราการติดตามสามี มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น คือจาก ร้อยละ 56.9 ในปี 2549 เป็นร้อยละ 76.1 ในปี 2550 และร้อยละ 70.1 ในปี 2551

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนคู่เสี่ยงจากผลการตรวจคัดกรองในระหว่างปี 2549 ถึง 2551 พบว่ามีแนวโน้มลดลงจาก 78.0 ในปี 2549 เป็น 60.9 ในปี 2551 ในจำนวนนี้เมื่อประเมินความเสี่ยงจากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน พบคู่เสี่ยงได้ร้อยละ 34.4, 13.0 และ 26.8 ตามลำดับ เมื่อประเมินร่วมกับผลการตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 พบคู่เสี่ยงจริงในแต่ละปีต่อคู่เสี่ยงจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน คิดเป็นร้อยละ 18.2, 16.7 และ 20.0 ตามลำดับ และเมื่อคำนวณเป็นอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจริงต่อคู่สมรสทั้งหมด พบว่า มีอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจริง คิดเป็นร้อยละ 4.9, 1.2 และ 3.3 ตามลำดับ เฉลี่ย 3 ปี พบได้ร้อยละ 3.1 (ตารางที่ 1)



รูปที่ 1 จำนวนตัวอย่างและขั้นตอนการดำเนินงานค้นหาคู่สมรสเสี่ยง โครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียโรงพยาบาลพระยีน ระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551

ตารางที่ 1 ผลการดำเนินงานค้นหาความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรงพยาบาลพระยีน จำแนกตามปีงบประมาณ

ตัวชี้วัดผลการดำเนินงาน	ปีงบประมาณ			ข้อมูลรวม 3 ปี
	2549	2550	2551	
จำนวนหญิงตั้งครรภ์รายใหม่ / ปี	269	229	241	246
อัตราการตรวจพบผลการตรวจคัดกรองที่เป็นบวกในหญิงตั้งครรภ์ (%)	53.5 (144/269)	49.3 (113/229)	53.9 (130/241)	52.4 (387/739)
อัตราการติดตามสามี (%)	56.9 (82/144)	76.1 (86/113)	70.1 (92/130)	67.2 (260/387)
อัตราการตรวจพบความเสี่ยงจากการตรวจคัดกรอง ^a (%)	78.0 (64/82)	53.5 (46/86)	60.9 (56/92)	63.8 (166/260)
อัตราการตรวจพบความเสี่ยงจากผลตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน (%)	34.4 (22/64)	13.0 (6/46)	26.8 (15/56)	25.9 (43/166)
อัตราการตรวจพบความเสี่ยงจริง ^b ต่อจำนวนความเสี่ยงจากการประเมินด้วยผลตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน (%)	18.2 (4/22)	16.7 (1/6)	20.0 (3/15)	18.6 (8/43)
อัตราการตรวจพบความเสี่ยงจริง ^b ต่อจำนวนคู่สมรสทั้งหมด (%)	4.9 (4/82)	1.2 (1/86)	3.3 (3/92)	3.1 (8/260)

a: เป็นคู่สมรสที่ส่งตรวจยืนยันที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสามีหรือภรรยาคนใดคนหนึ่งมีผลตรวจคัดกรองด้วย OF/DCIP อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างเป็นบวก (รวมทั้งคู่ที่มีผล OF/DCIP เป็น +/- ทั้งคู่)

b: คู่เสี่ยงจากการประเมินโดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินร่วมกับผลตรวจยืนยัน α -thalassemia 1

3. รูปแบบผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและผลการประเมินความเสี่ยงในคู่สมรสที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก โรงพยาบาลพระยีน

จากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในคู่สมรสที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก ที่ได้รับจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดขอนแก่น ซึ่งทำการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ และตรวจวิเคราะห์ α -thalassemia 1 ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) พบรูปแบบผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในสามีและภรรยาที่แตกต่างกันถึง 16 รูปแบบ และมีอัตราการตรวจพบที่แตกต่างกันไปในแต่ละปี (ตารางที่ 2) และจะเห็นได้ว่า รูปแบบที่ 1-5 เป็นรูปแบบที่ไม่มีความเสี่ยง คือ

สามีหรือภรรยาคนใดคนหนึ่งมีชนิดฮีโมโกลบินเป็น EA; Hb E มากกว่าร้อยละ 25 และอีกคนหนึ่งไม่ใช่พาหะ β -thalassemia ส่วนรูปแบบที่ 6-16 เป็นรูปแบบที่มีความเสี่ยงต่อการมีลูกเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้ โดยส่วนใหญ่จะเสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1 ส่วนน้อยเสี่ยงต่อ β -thalassemia / Hb E และไม่พบคู่เสี่ยงต่อ homozygous β -thalassemia เลย

4. ค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยธาลัสซีเมียในคู่สมรส ระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551
จากการวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยธาลัสซีเมียในคู่สมรส ในโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลพระยีน ระหว่าง

ปีงบประมาณ 2549-2551 โดยวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายการตรวจทางห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนการตรวจคัดกรอง จนกระทั่งพบคู่เสี่ยงจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอตามอัตราค่าตรวจทางห้องปฏิบัติการที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด⁽⁷⁾ พบว่า มีค่าใช้จ่ายทั้งสิ้น 187,500 บาท โดยเฉลี่ยต่อปี มีค่าใช้จ่ายประมาณ 62,500 บาท (รูปที่ 2)

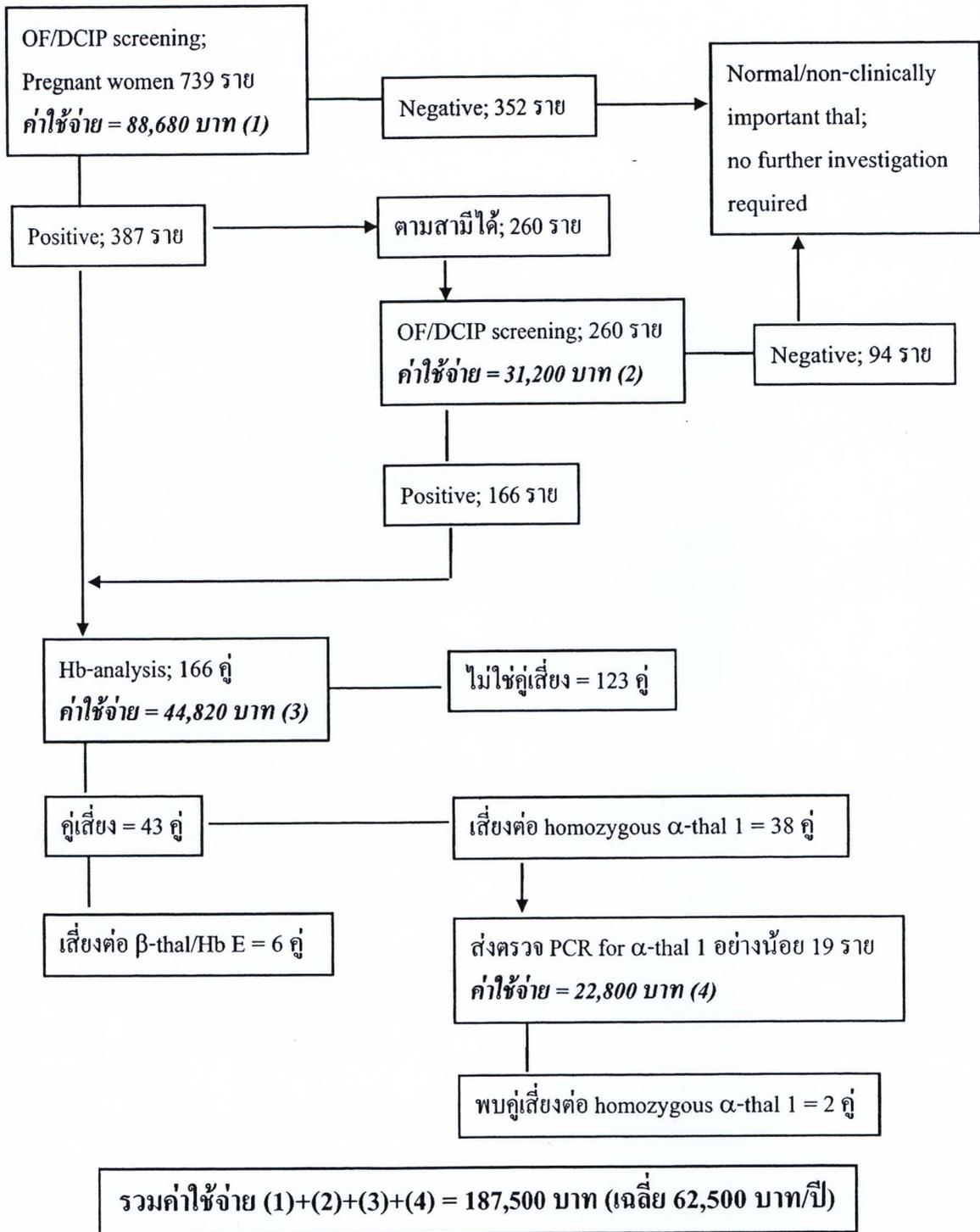
วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคเลือดจางธาลัสซีเมีย ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก คือ การตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียในกลุ่มประชากรเป้าหมาย (carrier screening) การให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ (genetic counseling) และ การวินิจฉัยทารกในครรภ์ (prenatal diagnosis)⁽⁸⁾ ผลสำเร็จของการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคเลือดจางธาลัสซีเมียจึงขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ตั้งแต่การสนับสนุนในระดับนโยบาย การกำหนดแผนงานและแนวทางที่ชัดเจน การให้ความรู้แก่บุคลากรที่เกี่ยวข้องรวมทั้งประชากรกลุ่มเป้าหมายให้มีความเข้าใจและตระหนักถึงความสำคัญของการดำเนินงาน การมีระบบการตรวจคัดกรองการวินิจฉัย และการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ที่มีประสิทธิภาพ รวมถึงความร่วมมือร่วมใจของบุคลากรที่เกี่ยวข้องทุกฝ่าย ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการประเมินผลการดำเนินงานของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โดยประเมินจากการเก็บข้อมูลย้อนหลังเท่าที่จะสามารถเก็บรวบรวมได้ ประกอบด้วย อัตราการตรวจพบผลคัดกรองที่เป็นบวก ซึ่งเป็นข้อมูลโดยอ้อมที่สะท้อนประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองของโรงพยาบาล อัตราการติดตามสามีหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลคัดกรองเป็นบวก ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงทารกในครรภ์ และอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากการตรวจคัดกรองและคู่เสี่ยงจากการตรวจยืนยัน ซึ่งสะท้อนถึงโอกาสการตรวจพบโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในพื้นที่

จากการรวบรวมข้อมูลผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์รายใหม่ ระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551 พบหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก เข้าข่ายว่าอาจเป็นพาหะ α -thalassemia 1, β -thalassemia และ Hb E ประมาณร้อยละ 50 โดยแต่ละปีมีอัตราการตรวจพบที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการตรวจพบในหญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่ใกล้เคียงกันที่เคยมีรายงานมาก่อน^(9,10) ซึ่ง

สะท้อนโดยอ้อมว่า ผลการตรวจคัดกรองของโรงพยาบาลพระยีน่าจะมีความถูกต้องในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และหากพิจารณาอัตราการติดตามสามี จะเห็นว่าในปีแรกของการดำเนินงาน สามารถติดตามสามีได้ร้อยละ 57 ของหญิงตั้งครรภ์ที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก ซึ่งต่ำกว่าเป้าหมายที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด คือ ร้อยละ 70⁽¹¹⁾ อาจเนื่องมาจากความพร้อมบุคลากรยังน้อย อย่างไรก็ตาม อัตราการติดตามสามีในปีงบประมาณ 2550 และ 2551 ได้เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 76 และ 70 ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นผลจากการรณรงค์และนโยบายชุดสิทธิประโยชน์ในโครงการหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้าของกระทรวงสาธารณสุข รวมทั้งบุคลากรของโรงพยาบาลมีความตื่นตัวและร่วมแรงร่วมใจ กำชับและกำกับติดตามหญิงตั้งครรภ์ให้พาสามีมาตรวจคัดกรองด้วย และพบว่าปัญหาที่สำคัญของการติดตามสามีหญิงตั้งครรภ์ คือ สามีไปทำงานนอกพื้นที่ จึงน่าจะเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้มีอัตราการติดตามสามีในสองปีหลังคงที่ที่ประมาณร้อยละ 70

จากการส่งตัวอย่างเลือดของคู่สมรสที่ให้ผลบวกต่อการตรวจคัดกรองไปตรวจยืนยันโดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จ. ขอนแก่น โดยทางศูนย์จะทำการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในคู่สมรสทั้งคู่ และพิจารณาคัดเลือกเฉพาะบางคู่หรือบางรายไปตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 ตามความเหมาะสม จากนั้นจึงสรุปผลส่งกลับมายังโรงพยาบาลพระยีน จากการวิเคราะห์รูปแบบผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในคู่สมรส พบรูปแบบที่แตกต่างกันถึง 16 รูปแบบ (ตารางที่ 2) ซึ่งเกิดจากจากความหลากหลายของชนิดธาลัสซีเมียในพื้นที่⁽¹⁻³⁾ และพบว่าประมาณร้อยละ 70-80 ของคู่สมรสที่พบว่ามีความเสี่ยงจากการตรวจคัดกรอง ไม่มีความเสี่ยงต่อโรคเป้าหมาย เนื่องจากคนใดคนหนึ่งมีชนิดฮีโมโกลบินเป็น EA; Hb E มากกว่าร้อยละ 25 ซึ่งเป็นผลที่พบในผู้ที่ เป็นพาหะ Hb E ที่ไม่มียีน α -thalassemia 1 ร่วม^(9,10,12) เมื่อเข้าคู่กับผู้ที่ไม่ใช่พาหะ β -thalassemia จึงไม่มีความเสี่ยงต่อโรคที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมและป้องกันแต่อย่างใด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในกรณีที่คู่สมรสมีชนิดฮีโมโกลบินเป็น EA; Hb E มากกว่าร้อยละ 25 ทั้งคู่ ซึ่งเป็นรูปแบบที่มีโอกาสมีลูกเป็นเพียง homozygous Hb E เท่านั้น และพบได้ประมาณร้อยละ 25



รูปที่ 2 ขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยธาลัสซีเมียในคู่สมรสเสี่ยง โครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลพระยีน ระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551

ตารางที่ 2 รูปแบบผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและผลการประเมินความเสี่ยงในคู่สมรสที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวก
โรงพยาบาลพระยีน

รูปแบบ	Hb analysis		Risk assessment ^a	จำนวน คู่	ร้อยละ
	สามี / ภรรยา	สามี / ภรรยา			
1	EA; Hb E > 25 %	EA; Hb E > 25 %	No	44	26.5
2	EA; Hb E > 25 %	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	No	64	38.6
3	EA; Hb E > 25 %	EE	No	9	5.4
4	EA; Hb E > 25 %	EA; Hb E < 25 %	No	5	3.0
5	EA; Hb E > 25 %	A ₂ ABart'sH	No	1	0.6
6	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	Yes ^b	19	11.4
7	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	EE	Yes ^b	6	3.6
8	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	A ₂ A; Hb A ₂ > 4 %	Yes ^b	4	2.4
9	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	EA; Hb E < 25 %	Yes ^b	2	1.2
10	EA; Hb E < 25 %	EE	Yes ^b	2	1.2
11	EE	EE	Yes ^b	2	1.2
12	A ₂ A; Hb A ₂ < 4 %	A ₂ ABart'sH	Yes ^b	1	0.6
13	A ₂ A; Hb A ₂ > 4 %	EA; Hb E > 25 %	Yes ^c	4	2.4
14	EA; Hb E > 25 %	EF	Yes ^c	1	0.6
15	A ₂ A; Hb A ₂ > 4 %	EE	Yes ^{b,c}	1	0.6
16	EA; Hb E < 25 %	EA; Hb E < 25 %	Yes ^b	1	0.6
Total				64	100

a: ประเมินจากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน

b: เสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1

c: เสี่ยงต่อ β -thalassemia / Hb E disease

ของคู่สมรสทั้งหมด หากสามารถกำหนดแนวทางอย่างง่ายในการส่งตรวจยืนยันในคู่สมรสกลุ่มนี้ได้ ก็จะช่วยลดค่าใช้จ่ายที่ไม่จำเป็นลงได้ และหากพิจารณารูปแบบที่มีความเสี่ยง (รูปแบบที่ 6-16) จะเห็นว่า ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 86) มีความเสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1 โดยเป็นกลุ่มที่มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A₂A; Hb A₂ น้อยกว่าร้อยละ 4.0 เข้าคู่กันเอง หรือเข้าคู่กับ EA; Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25 หรือ EE ซึ่งทั้ง A₂A; Hb A₂ น้อยกว่าร้อยละ 4.0 และ EA; Hb

E น้อยกว่าร้อยละ 25 เป็นผลที่บ่งชี้ว่าอาจมี α -thalassemia 1 ได้^(9,12,13) ส่วนผลที่เป็น EE ทุกราย ก็ต้องพิจารณาตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 ด้วยหากผลอีกฝ่ายหนึ่งมีข้อบ่งชี้ว่าอาจเป็นพาหะ α -thalassemia 1 ได้⁽¹⁴⁾ แต่เมื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงจากผลตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1 ร่วมด้วย พบคู่เสี่ยงจริงทั้งสิ้น 8 คู่ จากคู่สมรสที่ได้รับการตรวจคัดกรองทั้งสิ้น 260 คู่ คิดเป็นร้อยละ 3.1 (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1) ซึ่งใกล้เคียงกับข้อมูลของศูนย์อนามัยที่ 8

นครสวรรค์ ที่พบคู่เสี่ยงประมาณร้อยละ 5⁽¹¹⁾ ในจำนวนนี้เป็นคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรค β -thalassemia/Hb E จำนวน 6 คู่ และเสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1 จำนวน 2 คู่ แสดงให้เห็นว่า โรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่เป็นปัญหาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ β -thalassemia/Hb E และ homozygous α -thalassemia 1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการรวบรวมข้อมูลคู่สมรสของศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น⁽¹⁵⁾ อย่างไรก็ตาม จำนวนคู่เสี่ยงต่อ homozygous α -thalassemia 1 ในการศึกษาครั้งนี้สูงกว่านี้เล็กน้อยเนื่องจากมีคู่สมรสอีกประมาณร้อยละ 37 (16/43; รูปที่ 1) ของคู่สมรสเสี่ยงที่ไม่สามารถสรุปได้ เนื่องจากไม่มีผลตรวจวิเคราะห์ยีน α -thalassemia 1

เมื่อสรุปในภาพรวมของผลการดำเนินงานตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลพระยีน ระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551 (ตารางที่ 1) ถือได้ว่า มีผลการดำเนินงานในเกณฑ์ที่น่าพอใจ ทั้งในส่วนของอัตราการตรวจพบหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลคัดกรองที่เป็นบวกที่คงที่ สะท้อนผลที่พบเป็นปกติของประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อัตราการติดตามสามีที่เพิ่มขึ้นจากปีแรกที่ดำเนินการและเป็นไปตามเป้าหมายของกระทรวง อัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากการตรวจคัดกรองที่คงที่ (ประมาณร้อยละ 50-60) ซึ่งลดลงจากปีแรกที่อาจมีผลบวกปลอมของการคัดกรองในสามีค่อนข้างมาก รวมทั้งอัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจริง ที่พบได้ประมาณร้อยละ 3 ของคู่สมรสทั้งหมด หรือคิดเป็นร้อยละ 1 (8/739) ของหญิงตั้งครรภ์รายใหม่ แสดงให้เห็นว่าในพื้นที่ที่มีโอกาสพบคู่เสี่ยงจริงได้ เมื่อคำนวณค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการทั้งหมดตั้งแต่การตรวจคัดกรองจนกระทั่งพบคู่เสี่ยงที่นำไปสู่การควบคุมและป้องกันทารกเกิดใหม่ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง มีค่าใช้จ่ายเฉลี่ยต่อปี 62,500 บาท (รูปที่ 2) หรือประมาณร้อยละ 0.9 ของค่ารักษาพยาบาลที่จะต้องใช้ตลอดอายุขัยผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียที่ต้องใช้ประมาณ 6.6 ล้านบาท/ราย⁽¹¹⁾ ซึ่งค่าใช้จ่ายการตรวจทางห้องปฏิบัติการอาจสูงหรือต่ำกว่านี้ ขึ้นอยู่กับความชุกของธาลัสซีเมียและประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองของแต่ละพื้นที่

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย “สถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย” ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. Ann N Y Acad Sci 1980; 344: 352-63.
2. 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.
3. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited hemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Organ 2001; 79: 704-12.
4. Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. 4th edition. Blackwell Science Oxford; 2001.
5. กุลนภา พุเจริญ, สุพรรณ พุเจริญ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2551; 20: 165-77.
6. สำนักส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 11. 1-2 กันยายน 2548; ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ กรุงเทพมหานคร.
7. กรมบัญชีกลาง. คู่มือสวัสดิการรักษายาบาลข้าราชการ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: คณะรัฐมนตรีและราชกิจจานุเบกษา; 2551.
8. Guidelines for the control of haemoglobin disorders. Report of the VIth Annual Meeting of the WHO Working Group on Haemoglobinopathies. Cagliari, Sardinia, 8-9 April, 1989. Geneva, World Health Organization, 1989 (unpublished document WHO/HDP/WG/HA/89.2).

9. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. 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. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, Ukosanakarn U, Ussawaphark W, Schelp FP. 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.
11. สำนักงานส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการธาลัสซีเมีย แห่งชาติและแผนงานธาลัสซีเมียแห่งชาติ พ.ศ. 2550-2554 ครั้งที่ 13, 4-5 ตุลาคม 2550; ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ กรุงเทพมหานคร.
12. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
13. Wasi P, Sookanek M, Pootrakul S, Na-Nakorn S, Suingdumrong A. Haemoglobin E and alpha-Thalassaemia. *Br Med J* 1967; 4: 29-32.
14. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee S, Yamsri S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Molecular and hematological profiles of hemoglobin EE disease with different forms of alpha-thalassemia. *Ann Hematol* 2006; 85: 450-4.
15. Yamsri S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Ratanasiri T, Fucharoen S. Prevention of severe thalassemia in northeast Thailand: 16 years of experience at a single university center. *Prenat Diagn* 2010; 30: 540-6.

ภาคผนวก ข.

Manuscript

Title Page

Full title: Validation and improvement of rapid combined tests for screening of thalassemia in pregnancy at the community level

Authors: Kanokwan Sanchaisuriya¹, Jaruwat Tritipsombut^{1,2}, Pattara Sanchaisuriya³, Goonnapa Fucharoen¹, Supan Fucharoen¹, Frank P. Schelp³

Institutional affiliations:

¹Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Thailand

²Graduate School, Khon Kaen University, Thailand

³Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Khon Kaen University, Thailand

Corresponding author: Kanokwan Sanchaisuriya, Ph. D.

Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories,

Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Thailand

Email: kanokwan@kku.ac.th

Tel/Fax: 66-43-202083

Key words: Thalassemia, Osmotic fragility test, Dichlorophenolindophenol precipitation test, Mean corpuscular volume, Mean corpuscular hemoglobin

Synopsis: The quality of laboratory investigation at peripheral healthcare facilities is crucial for avoiding false negative results of thalassemia screening in pregnancy.

ABSTRACT

Objective: To validate the performance of thalassemia screening in pregnancy at community hospitals of northeast Thailand. *Method:* Blood samples derived from 1,200 pregnant women attending antenatal care (ANC) at 11 community hospitals together with their screening results were sent to the reference center for further determinations of thalassemia and hemoglobinopathies. Three different combined tests, OF/DCIP, MCV/DCIP and MCH/DCIP, were tested to assess the efficiency of the laboratories in detecting α^0 -thalassemia, β -thalassemia and hemoglobin E carriers. *Results:* The sensitivities of the OF/DCIP tests, being over 90% for 6 out of 9 hospitals, were acceptable. The results of three hospital laboratories were insufficient with rather low sensitivity values for the OF/DCIP test. After conducting a training program, the 3 hospitals substantially improved their performance, achieving sensitivity values higher than 90%. The combination of MCV or MCH with DCIP as screening tools resulted in a sensitivity in the range of 72.7 to 100% and a specificity in the range of 35.7-87.8%. *Conclusion:* The results indicate that in the hands of well trained staff members, a combination of OF/DCIP tests is an effective tool for screening of α^0 -thalassemia, β -thalassemia and Hb E carriers among pregnant women. However regular monitoring of the screening performance is necessary.

INTRODUCTION

Thalassemia and hemoglobinopathies are highly endemic in Thailand [1,2]. Prevention and control programs for thalassemia have been implemented for more than a decade by the Ministry of Public Health. The three prime targets are homozygous α^0 -thalassemia (α^0 -thal), homozygous β -thalassemia (β -thal) and haemoglobin E (Hb E)- β -thal diseases [2]. All pregnant women visiting a hospital or other medical centre for antenatal care (ANC) the first time and with a gestational age of less than 16 weeks are asked to participate in a screening program [3]. The participation is voluntary. The screening applies a combination of the basic turbidity tests namely the osmotic fragility (OF) test and the dichlorophenol-indophenol (DCIP) precipitation test. These tests are recommended as primary screening tools [4-5]. As an alternative to the OF-test, the determination of the mean corpuscular volume (MCV) or mean corpuscular hemoglobin (MCH) of red blood cells with a cutoff value of 80 femtolitre (fl) for MCV and 27 picogram (pg) for MCH may be used [6]. The OF and MCV aim to detect carriers of α^0 - and β -thalassemia and the DCIP test will detect the Hb E carriers. Pregnant women with negative screening results are considered as not being carriers of the diseases or having a form of non-clinically significant thalassemia and no further actions are required. The husbands of positive-screened women are invited to be screened for thalassemia as well, using the same screening methods. The positive couples (i.e., thalassemia screening positive for both husband and wife) then undergo a number of clinical diagnostic tests in order to ascertain that the diagnosis is true. Based on this strategy, the accuracy of the screening tests is a key issue, hence a high rate of false negative results (indicating a low sensitivity) will undermine the efforts for prevention and control of the diseases, since a substantive number of diseased persons will go unrecognized. On the other hand, a high



false positive rate (indicating a low specificity) will result in a high workload for the reference centers and in budget spent uselessly.

From the results of previous investigations, it is known that the OF test or MCV or MCH alone cannot identify some Hb E carriers. Therefore, the DCIP precipitation test has been proposed to be used for detecting Hb E carriers in screening attempts [4]. While the OF and DCIP tests are performed manually, the determination of MCV and MCH needs an automated blood cell counter which is expensive and in the past may have not been available at peripheral health care facilities. Laboratory procedures of the OF and DCIP test are relatively simple and rapid to perform. They have been proven to be effective by many investigators [4, 6-8]. However, a pilot survey of thalassemia screening procedures at the community level conducted by the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories of the Faculty of Associated Medical Sciences of Khon Kaen University, Thailand, revealed that the results of some hospitals contained unusually high false negative results. This leads to a query concerning the accuracy of the screening procedures of a combined OF/DCIP test conducted at peripheral health care facilities where human resources are limited. In addition, in contrast to the past, more and more health facilities even at the peripheral level are now equipped with automated blood cell counters, enabling them to measure MCV and MCH. The aim of this investigation therefore was to discover the reasons for the low sensitivity of screening results from a number of hospitals, and secondly whether a combined MCV/DCIP or MCH/DCIP test would be more effective in screening for thalassemia.

METHODS

A cross sectional study investigating the performance of thalassemia screening was launched in 11 community hospitals located in different regions of northeast Thailand. Specimens used for this study were 'left-over' blood samples obtained from pregnant women attending ANC services. Data recorded for the thalassemia screening could not be traced back to any individual who had taken part in the program. The study protocol was approved by the ethical committee of Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand (HE510139).

The director of each hospital was invited to participate and asked for permission to conduct the study. Laboratory staff were informed about the project and asked for their cooperation in the collection of the specimens. Approximately 100-130 'left-over' blood samples obtained from pregnant women attending ANC services from each hospital were collected consecutively over a period of three months. Blood samples together with their screening results performed by laboratory staff of each hospital, as well as hematological parameters, were sent to the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL), Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, for further determination of thalassemia and hemoglobinopathies.

Screening procedures

According to national guidelines, most laboratories use a combined OF/DCIP for screening. The OF and DCIP tests are commercially available (DrewBio Thailand Co. Ltd., Bangkok, Thailand). The OF test is done by adding 20 microlitre (μ l) of fresh blood sample into 2 millilitre (ml) of hypotonic buffer saline provided by the manufacturer. After mixing gently, the mixture is left at room temperature for at least 15 minutes. For

the DCIP test, 20 μ l of blood sample is added to 2 ml of the DCIP reagent. After mixing, the mixture is incubated at 37°C for 15 minutes, and then 20 μ l of additional solution for stopping the reaction is added. The interpretation of both tests is based on the turbidity of each reaction tube. Turbidity visible to the naked eye is considered to indicate a positive test. In the case of MCV or MCH screening, MCV values of < 80 fl or MCH values of < 27 pg are considered to be positive.

Laboratory investigation at the reference centre

All blood samples with positive and negative results were examined further for β -thal and Hb E using an automated haemoglobin analyzer, either the high performance liquid chromatography (HPLC Variant Haemoglobin Testing System; Bio-Rad, USA.) or the capillary zone electrophoresis (Capillary; Sebia, France). Samples with normal Hb-type (A_2A) and Hb $A_2 \geq 4.0$ % were diagnosed as β -thal carriers. α^0 -Thal (SEA & THAI deletion) was identified using the polymerase chain reaction (PCR) [9].

Training program

A training program on thalassemia screening took place at the hospitals. It was provided to laboratory staff of those hospitals with a poor performance. The training focused on the principles, procedure and interpretation as well as limitations of the OF/DCIP tests. A poster of the standard operation procedure (SOP) of the OF and DCIP tests was created as an educational item and distributed to all community hospitals participating.

Data analysis

To determine the validity of thalassemia screening at each hospital, the sensitivity and specificity were calculated based on the results obtained from the reference laboratory

which served as a gold standard. False negative (FN) tests were those which were labeled as negative by the laboratory staff of the community hospital but actually were found to be positive by the reference centre, in that the blood tested was derived from carriers of α^0 -thal, β -thal or Hb E. Cases identified by the screening tests as positive but not confirmed with the tests of the reference centre were considered to be false positive (FP).

RESULTS

A total of 1,200 blood samples screened for thalassemia from 11 community hospitals were investigated. Of these, 67 (5.6%) were α^0 -thal carriers, 12 (1.0%) were β -thal carriers and 497 (41.4%) were Hb E carriers. Analysis of thalassemia proportion by hospitals revealed similar proportions of β -thal and Hb E carriers. However, the proportion of α^0 -thal varied from 1.9% to 16.0 % between the different locations (Table 1).

Sensitivities and specificities of each screening strategy, i.e. OF/DCIP, MCV/DCIP and MCH/DCIP are given in Table 2. Based on the OF/DCIP screening, the sensitivity and specificity of 6 out of 9 hospitals (hospitals 1-6) was found to be acceptable with a sensitivity higher than 90% and a specificity of 70% or higher. The performances of the laboratories of the remaining hospitals, in particular hospitals 8 and 9, were insufficient in that the sensitivity of the OF/DCIP tests was below 50% and at one hospital even only 39.1%. The MCV/DCIP and MCH/DCIP combinations applied by the participating hospitals laboratories achieved acceptable sensitivities though the specificities of some of them were rather low.

In order to improve the performance of thalassemia screening using the OF/DCIP approach, a training program was organized at the 3 hospitals (hospitals 7-9) with insufficient results. After training, each laboratory was asked to send blood samples again to the CMDL to evaluate the performance of each individual laboratory a second time. Re-evaluation of the sensitivity and specificity indicated a substantially improved performance resulting in a sensitivity of higher than 90% and specificity of higher than 70% (Table 3).

DISCUSSION

The three clinically significant thalassemia diseases; i.e. α^0 -thal, β -thal and Hb E, are quite common in the area of this investigation, as indicated by the results given in Table 1. The chances are quite high that couples in the region might have a child with a severe thalassemia disease and that underlines the need for an appropriate approach for screening of these three forms of thalassemia. The screening approach using either OF or MCV has been proven to be effective for screening of α^0 - and β -thal carriers [10-13] but not for Hb E [4, 6]. Hence, the DCIP precipitation test in combination with either OF or MCV has been introduced, proving to be effective [4, 6-8, 14] and adopted as a useful strategy by the health authorities in Thailand for more than a decade. It is of immense importance for the screening program to keep false negative results as low as possible.

As shown in Table 2, 6 laboratories out of 9 that performed OF/DCIP produced sufficient screening results. It had been decided by the Thai authorities that the OF/DCIP screening method is a good choice for thalassemia screening in areas with a limited budget. The accuracy of the tests however relies on well-trained laboratory staff, but obviously those working in the hospital laboratories coming up with a very low sensitivity were not well

trained. The main reasons for incorrect results were difficulties in interpreting the results of the OF/DCIP test, since the positive and negative results are based on the turbidity of the test reaction which can vary from sample to sample and is highly observer dependent. Laboratory staff need long experience and good skills to read the test results correctly. Another reason for faulty results is the use of un-calibrated equipment, which in particular refers to the temperature used for the DCIP incubation. It is well recognized that use of the DCIP test needs careful training [15] and the achievements after training the staff of the poorly performing laboratories clearly show that training has a very positive impact on the future performance of the laboratories. There is an urgent need for regular proficiency testing, as well as for an internal quality control system to monitor the screening performance of community hospitals in countries like Thailand. For the 3 formerly poorly performing hospitals, a combined MCV/DCIP test or MCH/DCIP test seems to be a better choice. The staffs of the hospitals with insufficient performances were surprised at being faced with the high and unexpected FN rate. It was found that while the staffs of the 6 hospitals with acceptable performance had attended training programs several times, those of the 3 poorly performing laboratories never participated in an appropriate training, and also no quality control system had been introduced into these laboratories.

The wide variation of specificity values obtained from the laboratories with acceptable results might be explained by the fact that apart from personal skills, other thalassemia types as well as anemia from other causes could produce a false positive screening result. Therefore, a varying specificity is considered to be acceptable. Previous investigations have reported a specificity range from 65 to 90% [4, 6-8]. The specificity of a combined OF/DCIP test seems to be higher than for the MCV/DCIP or MCH/DCIP tests as found in

this study. In the case that a high specificity can be achieved by a motivated and experienced staff using the OF/DCIP test, the workload for the reference centers could be reduced and budgets not spent uselessly.

In conclusion, the results of the study indicate that both a combined OF/DCIP and a combination of MCV or MCH with DCIP are effective strategies for screening of α^0 -thal, β -thal and Hb E carriers in pregnancy. However, laboratory staff need to be well trained if the OF/DCIP tests are used.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from the Thailand Research Fund (TRF) [DIG5180011]. Tritipsombut J. is a Ph.D. candidate under the program Strategic Scholarships for Frontier Research Network for the Joint Ph.D. Program Thai Doctoral degree, the Office of the Higher Education Commission, Ministry of Education, Thailand [CHE510746]. We thank the 11 community hospitals for participating in this study.

Conflict of interest: None declared

REFERENCES

1. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ* 2001; 79(8): 704-12.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in Southeast Asia: problem and strategy for prevention and control. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1992; 23(4): 647-55.

3. Department of Health, Ministry of Public Health. Practice guidelines for prevention and control of thalassemia and hemoglobinopathies in Thailand. Proceedings of the 11th National Conference on Thalassemia and Hemoglobinopathies; 2005 Sept 1-2 Sept; Bangkok, Thailand.
4. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82(5): 364-72.
5. Winichagoon P, Thitivichianlert A, Lebnak T, Piankijagum A, Fucharoen S. Screening for the carriers of thalassemas and abnormal haemoglobins at the community level. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002; 33(suppl2): 145-50.
6. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, 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(1): 113-8.
7. Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Paritpokee N. Combined one-tube osmotic fragility test and dichlorophenol-indophenol (DCIP) test screening for haemoglobin disorders, an experience in 213 Thai pregnant women. *Clin Lab* 2002; 48(9-10): 525-8.
8. Sangkitporn S, Sangkitporn S, Sangnoi A, Supangwiput O, Tanphaichitr VS. 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(6): 1538-42.
9. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha-Thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2006; 117(2): 78-82.

10. The Thalassemia Working Party of the BCSH General Haematology Task Force. Guidelines for investigation of α - and β -thalassemia traits. *J Clin Pathol* 1994; 47: 289-95.
11. A Working Party of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. The laboratory diagnosis of hemoglobinopathies. *Br J Haematol* 1998; 101: 783-92.
12. Sirichotiyakul S, Wanapirak C, Srisupundit, Leuwan S, Tongsong T. A comparison of the accuracy of the osmotic fragility and mean corpuscular volume tests for the alpha-thalassemia 1 and beta-thalassemia traits. *Int J Gynecol Obstet* 2009; 107(1): 26-9.
13. Sirichotiyakul S, Tantipalakorn C, Sanguansermisri T, Wanapirak C, Tongsong T. Erythrocyte osmotic fragility test for screening of alpha-thalassemia-1 and beta-thalassemia trait in pregnancy. *Int J Gynecol Obstet* 2004; 86(3): 347-50.
14. Savongsy O, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-Ung N. Thalassemia and hemoglobinopathies in pregnant Lao women: carrier screening, prevalence and molecular basis. *Ann Hematol* 2008; 87(8): 647-54.
15. Chapple L, Harris A, Phelan L, Bain BJ. Reassessment of a simple chemical method using DCIP for screening for haemoglobin E. *J Clin Pathol* 2006; 59: 74-6.

Table 1 Proportions of α^0 -thalassemia, β -thalassemia and Hb E in northeastern Thai-subjects attending ANC at 11 community hospitals

Hospital No.	N	Proportion (%)		
		α^0 -thal	β -thal	Hb E
1	103	1.9	0.97	48.5
2	122	2.5	0.82	35.2
3	100	7.0	1.0	41.0
4	111	2.7	0	29.7
5	100	16.0	1.0	34.0
6	101	6.9	1.0	48.5
7	100	8.0	1.0	44
8	132	3.0	1.5	47.0
9	98	4.1	2.0	41.8
10	130	7.6	0.76	38.5
11	103	2.9	0.97	48.5
Total	1,200	5.6	1.0	41.4

Table 2 Sensitivity and specificity for detection of α^0 -thalassemia, β -thalassemia and Hb E carriers derived from screening programs conducted at eleven community hospitals

Hospital No.	OF/DCIP		MCV/DCIP		MCH/DCIP	
	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
1	98.1	84	98.1	80	98.1	74
2	97.8	78.9	97.8	65.8	97.8	72.4
3	97.7	91.1	97.7	82	97.7	66.1
4	96.9	81	na ¹	na ¹	na ¹	na ¹
5	95.7	69.8	100	66.0	97.9	66.0
6	91.7	91.7	96.4	87.5	96.4	75.0
7	82	86	92.0	62	90.0	66.0
8	48.5	90.6	100	42.9	100	35.7
9	39.1	94.2	81.8	78.6	72.7	80.4
10	na ²	na ²	100	78.9	100	78.9
11	na ²	na ²	94.4	87.8	96.3	75.5

na: not available, 1: No MCV and MCH results, 2: No OF-test results.

Table 3 Performance of a combined OF/DCIP for screening of α^0 -thal, β -thal and Hb E carriers before and after implementation of a training program at 3 community hospitals

Performance	Hospital 7		Hospital 8		Hospital 9	
	Before	After	Before	After	Before	After
Sensitivity (%)	82	100	48.5	100	39.1	93.3
Specificity (%)	86	76.9	90.6	79.1	94.2	85.7
FN (%)	18	0	60.9	0	51.5	6.7
FP (%)	14	23.1	5.8	20.9	9.4	14.3

ภาคผนวก ค.
เอกสารการเผยแพร่ในที่ประชุมวิชาการ

International Thalassaemia Conference 2008

11th International Conference On Thalassaemia & Haemoglobinopathies and
13th International TIF Conference For Thalassaemia Patients & Parents

8 - 11 October 2008, Singapore

www.thalassaemia2008singapore.org

Equal Access to Quality Medical Care for Every Patient with Thalassaemia

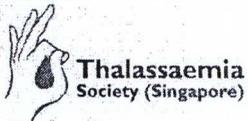
ABSTRACTS BOOK



8-11 October, 2008
Singapore

Suntec Singapore International
Convention & Exhibition Centre

Organised by:



KK Women's and
Children's Hospital
SingHealth

Supported by:



Held in:

UNIQUELY
Singapore

Conference Secretariat &
Housing Bureau

ace:daytons

www.thalassaemia2008singapore.org

POSTER COMMUNICATIONS

Epidemiology/Prevention

8 October 2008, Wednesday

EPI133

THALASSAEMIA SCREENING ON WORLD THALASSAEMIA DAY (2006-2008)

CHUL-SHEUN YOON¹, GP TAN¹, BC CHAN¹, E TAN¹, AHM LAI¹, HY LAW¹, ISL NG¹
Kk Women's & Children's Hospital Pte. Ltd., Singapore¹

Purpose: Thalassaemia is the commonest genetic disorder in Singapore affecting 4% of the population. The National Thalassaemia Registry (NTR) was set up in 1992 to register all individuals with the thalassaemia gene and to offer free counseling and subsidized screening of family members. Since 2006, NTR has been commemorating World Thalassaemia Day every year by offering free thalassaemia screening to the public.

Method: Blood samples from 319 individuals with reportedly no family history of thalassaemia were collected. They were subjected to full blood count (FBC) and haemoglobin (Hb) electrophoresis using the BioRad Variant II analyzer to determine the Hb F and A₂ values.

Result: FBC found 67 (21%) to have hypochromic and microcytic anaemia or with unusual Hb electrophoresis findings. There were 8 β -thalassaemia carriers, 1 HbE and 1 Hb J trait. Sixteen individuals carried the α -thalassaemia trait confirmed by DNA analysis. The MCV values of these individuals ranges from 48.1fL to 80.3fL.

Conclusion: Public screening of 319 individuals found 8.15% thalassaemia and Hb variant carriers. Of this, 3.14% were β -thalassaemia, HbE or Hb J trait while 5.01% were α -thalassaemia carriers. This high detection rate could be due to a biased cohort as individuals who participated in such screening may have symptoms of mild anaemia or may have an unreported family history of thalassaemia. These events had been successful with the public gaining more knowledge and information about thalassaemia.

EPI135

PRENATAL DIAGNOSIS OF ALPHA - AND BETA - THALASSEMIA BY ANALYSIS OF FETAL BLOOD USING CAPILLARY ELECTROPHORESIS SYSTEM

HATAICHANOK SRIVORAKUN¹, GOONNAPA FUCHAROEN², NATTAYA SAE-UNG³, KANOKWAN SANCHAISURIYA², THAWALWONG RATANASIRI¹, SUPAN FUCHAROEN²
Biomedical Sciences Program, Graduate School, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand¹, Centre For Research And Development Of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty Of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand², Department Of Obstetrics And Gynecology, Faculty Of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand³

Purpose: To investigate the feasibility of prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis and Hb E- β -thalassaemia by fetal blood analysis using an automated capillary electrophoresis.

Method: Thirty-five fetal blood specimens collected from pregnant women at risk of having fetuses with severe thalassaemia by cordocentesis at 18 to 28 weeks of gestations were studied. Fetal blood samples were analyzed by the CAPILLARYS 2 System (Sebia, France). Fetal DNA was also extracted and analyzed for respective thalassaemia alleles by PCR.

Result: Among 35 fetuses, 14 were at risks of having Hb Bart's hydrops fetalis. DNA analysis identified 4 cases with homozygous α -thalassaemia 1 (SEA type), 6 cases with double Hb E/ α -thalassaemia 1 and one each of EABart's disease, heterozygous α -thalassaemia 1, double HbE/ α -thalassaemia 2 and a normal fetus. Hb analysis clearly demonstrated Hb Bart's (> 75 %) and embryonic Hb without Hb F and Hb A in all 4 cases with homozygous α -thalassaemia 1. Among the remaining 21 fetuses at risks of having β^0 -thalassaemia/HbE disease, DNA analysis identified 9 β^0 -thalassaemia /Hb E diseases, 5 β -thalassaemia carriers, 3 Hb E carriers and 4 normal fetuses. Hb electrophoregrams showed only Hb F and E without Hb A in all 9 cases with β^0 -thalassaemia /Hb E diseases whereas normal fetuses had Hb F and Hb A.

Conclusion: Our result demonstrates that prenatal diagnosis of the Hb Bart's hydrops fetalis and Hb E- β -thalassaemia could be accurately done by analysis of fetal blood using the capillary electrophoresis system and the result corresponds well with standard DNA analysis. As compared to DNA method, Hb analysis is more convenient, rapid and could readily be performed in routine setting.

EPI134

HELICOBACTER PYLORI PREVALENCE ASSESSED SEROLOGICALLY IN ASYMPTOMATIC PATIENTS WITH BETA-THALASSAEMIA MAJOR

ATHANASIOS CHRISTOFORIDIS¹, EFTHIMIA VLACHAKI¹, VASSILIOS PERIFANIS¹, IFIGENIA FRIDA-MICHAELIDOU², IOANNA TSATRA¹
Thalassaemia Unit, Ippokratio Hospital, Thessaloniki, Greece¹, Department Of Microbiology, Ippokratio Hospital, Thessaloniki, Greece²

Purpose: Several infections included blood borne viral infections, infections with unusual organism favoured by iron overload or chelation therapy and post splenectomy infections are frequently reported among patients with β -thalassaemia major. The aim of this study was to determine the prevalence of Helicobacter pylori assessed serologically among Greek asymptomatic thalassaemic patients. In addition, possible correlation between Helicobacter pylori infection and different parameters were investigated.

Method: Forty patients (24 F and 16 M) with a mean age of 27.2 \pm 9.7 years, conventionally treated and 30 health controls sex and age matched were tested for the presence of Helicobacter pylori antibodies. Both patients and controls did not complain of any gastrointestinal symptoms.

Result: Results showed that there was no difference in Helicobacter pylori seroprevalence between thalassaemic patients and controls (15% vs 20%, p=0.5). Mean age of seropositive thalassaemic patients was significantly higher compared to seronegative patients (32.35 \pm 5.7 versus 26.28 \pm 9.9, p=0.05). Serum ferritin concentrations were significantly lower in the seropositive patients (969.8 \pm 677 versus 2069.5 \pm 1250, p=0.008). The Helicobacter pylori results were independent of gender, hepatitis C virus infection and liver function.

Conclusion: In conclusion, patients with β -thalassaemia major show a similar prevalence and a similar age and gender pattern compared to controls. The interesting observation of significant decreased serum ferritin concentration among seropositive patients indicated in this study needs further investigation.

EPI136

FALSE POSITIVE AND FALSE NEGATIVE RATES OF OF AND DCIP SCREENING FOR ALPHA0- THALASSEMIA, BETA-THALASSEMIA AND HB E AT FIVE PERIPHERAL HEALTHCARE FACILITIES IN NORTHEASTERN THAILAND

KANOKWAN SANCHAISURIYA¹, JURUWAN TRITIPSOMBAT, PATTARA SANCHAISURIYA³, SUPAN FUCHAROEN², GOONNAPA FUCHAROEN²
Graduate School, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand¹, Centre For Research And Development Of Medical Diagnostic Laboratory, Faculty Of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand², Department Of Nutrition Faculty Of Public Health, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand³

Purpose: To assess false positive and false negative rates of the OF and DCIP screening for α^0 -thalassaemia, β -thalassaemia and Hb E at five community hospitals.

Method: A total of 425 blood samples screened for thalassaemia at 5 community hospitals were sent to the thalassaemia reference center (the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratory, CDML) for further investigation. The standard protocol includes automated hemoglobin analysis for β -thalassaemia and Hb E as well as DNA analysis for α^0 -thalassaemia (SEA and THAI deletion).

Result: The prevalent rate of α^0 -thalassaemia, β -thalassaemia and Hb E was 4.0 %, 1.5 % and 44.0 %, respectively. The false positive (FP) and false negative (FN) rates varied from site to site with the range of 3.1-16.0 % for FP and 0.0-60.9% for FN.

Conclusion: A wide range of false negative rates of 0-60.9% indicates a need of proficiency testing program to improve the test efficiency at peripheral healthcare facilities.

การประชุมสัมมนาวิชาการ

ครั้งที่

15

ชาลส์ซีเมียแห่งชาติ

"ตั้งใจงาม ความหวังดี วิถีเลิศ"

ระหว่างวันที่ 22-24 เมษายน 2552

ณ โรงแรมเจริญศรีแกรนด์ รอยัล

จังหวัดอุดรธานี



**Situation of thalassemia screening in northeastern Thailand:
a lesson from 10 community hospitals**

Kanokwan Sanchaisuriya¹, Jarawan Tritipsombat^{1,2}, Pattara Sanchaisuriya³,
Goonnapa Fucharoen¹, Supan Fucharoen¹

¹Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories,
Faculty of Associated Medical Sciences, ²Graduate School, ³Department of Nutrition,
Faculty of Public Health, Khon Kaen University, Thailand

Background: Prevention and control program for thalassemia has been launched in Thailand over a decade. A combination of either OF/DCIP or MCV/DCIP has been proved as an effective screening strategy for α -thalassemia 1, β -thalassemia and Hb E carriers. This strategy is widely implemented throughout the country.

Aim: To describe the performance of thalassemia screening program in northeastern Thailand in term of the accuracy of the screening strategy

Methods: Left-over blood samples screened for thalassemia from 10 community hospitals were sent to the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University. All positive- and negative-screened samples were investigated for thalassemia and hemoglobinopathies using standard methods including DNA analysis of α -thalassemia 1. The accuracy of screening results from each hospital was determined based on false negative (FN) and false positive (FP) rates. In case of high FN rate, training program was conducted to improve the screening performance. The accuracy of screening results was, then, determined.

Results: Of the 954 screened samples, 447 (46.9%) were positive. Based on a combined test (either OF/DCIP or MCV/DCIP), false negative and false positive rates for detection of α -thalassemia 1, β -thalassemia and Hb E was 14.3 % and 11.6 %, respectively. Analysis of FN and FP by hospital revealed that 3 out of 10 had poor performance with false negative rate ranged from 18.0 % to 60.9 %. Conducting training program in 2 hospitals revealed a substantially improved performance with the FN rate of less than 10.0 %.

Conclusion: Due to an occasionally finding of high rate of false negative results, proficiency testing and regular training programs are necessary to monitor the screening performance at the community hospitals or primary care units.

Program & Abstracts



Commission on Higher Education Congress III
University Staff Development Consortium
(CHE - USDC Congress III)

9-11 September, 2010

Royal Cliff Grand Hotel and Spa

Frequencies and hematological parameters of thalassemia and hemoglobinopathies in different regions of northeast Thailand: implications for prevention and control

Jaruwan Tritipsombut^{1,2}, Kanokwan Sanchaisuriya^{2*}, Prachatip Phollarp^{1,2}, Pattara Sanchaisuriya³, Goonnapa Fucharoen², and Supan Fucharoen²

¹Graduate School, ²Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, ³Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002

Introduction: In northeast Thailand, the frequency of some particular types such as α -thalassemia 2, Hb Constant Spring and Hb Pakse' is uncertain due to the limited availability of DNA technology.

Objectives: To determine the frequencies of thalassemia and hemoglobinopathies in different regions of northeast Thailand and re-evaluate the cut-off values of MCV and MCH for screening clinically significant thalassemia carriers.

Methods : A total of 1,460 blood samples collected from 10 community hospitals were investigated. All blood samples were initially screened for thalassemia, using either the osmotic fragility test (OF-test) or the mean corpuscular volume (MCV) combined with the dichlorophenol-indophenol (DCIP) precipitation test. The left-over blood samples were then sent to the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL) to diagnose thalassemia and hemoglobinopathies.

Results: Hb E was the most common type accounting for approximately half of the subjects under survey (714/1460; 48.9%). The carrier frequency of α -thalassemia 1 was 6.02% with 5.95% SEA deletion and 0.07% THAI deletion. A deletional type of α -thalassemia 2 was found in 147 out of 660 (22.3%) blood samples. The proportion of the 3.7 kb deletion and 4.2 kb deletion was 19.8% and 2.4%. The proportion of non-deletional α -thalassemia 2 was 11.5% for Hb Constant Spring and 0.98% for Hb Pakse'. For β -thalassemia, a proportion of 1.0% was obtained. Analysis of MCV and MCH values reveals that either MCV < 80 fl or MCH < 27 pg is an appropriate cutoff value for screening α -thalassemia 1 and β -thalassemia. For screening double heterozygosity for Hb E/ α -thalassemia 1, MCV < 74 fl or MCH < 25 pg in combination with DCIP test may be a better approach.

Discussion and Conclusion: The results indicate a high chance of individuals in northeast Thailand having complex thalassemia syndromes and this underline the need of an appropriate strategy for screening clinically significant thalassemia carriers in the region.

Keywords: Thalassemia, Hemoglobinopathies, Frequency, Prevention, Northeast Thailand

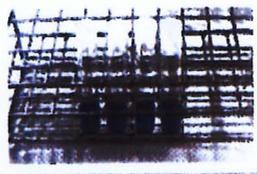
ภาคผนวก ง.

สื่อโปสเตอร์วิธีมาตรฐานการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย

Instruction for DCIP precipitation test

สิ่งส่งตรวจ : EDTA whole blood

น้ำยา : KCU-DCIP-Clear



ข้อแนะนำ

- ควรสังเกต น้ำยาควรมีลักษณะใส และสีน้ำเงินสด
- ไม่จำเป็นต้องทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน
- ตัวอย่างเลือดที่จะทำการทดสอบ สามารถเก็บไว้ในตู้เย็น (2-8°C) ได้นานประมาณ 2 สัปดาห์

ขั้นตอนการทดสอบ



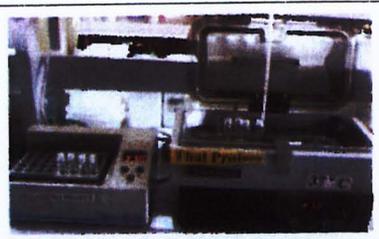
1. ผสมเลือดให้เข้ากันดี

2. ตูดเลือด 20 ไมโครลิตร

3. เติมนลงในหลอดซึ่งมีน้ำยาบรรจุอยู่ 2 มิลลิลิตร (ดูดข้าง up 2-3 ครั้ง)

4. ปิดฝา และผสมให้เข้ากันดี โดยกลับหลอดไปมา หรือใช้เครื่องช่วยผสม (mixer)

ข้อแนะนำ: - ขั้นตอนที่ 1-4 ไม่ควรทำพร้อมกันมากกว่า 15 ราย หรือใช้เวลาในการทำนานกว่า 5 นาที เนื่องจากปฏิกิริยาเกิดขึ้นทันทีที่เลือดผสมน้ำยา
- ตัวอย่างเลือดที่ซีดมาก (Hct < 25%) ควรใช้เลือด 40 ไมโครลิตร ในการทดสอบ



ข้อแนะนำ

- สามารถใช้ water bath หรือ dry bath
- ตรวจสอบอุณหภูมิให้ถูกอุณหภูมิที่ตั้ง 37°C (± ไม่เกิน 1°C) ด้วยเทอร์โมมิเตอร์มาตรฐาน
- จับเวลาพอดี (จับเวลาด้วยนาฬิกาที่มีเสียงร้องเตือน)

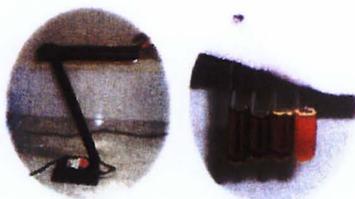
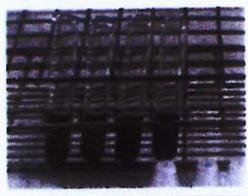


ข้อแนะนำ

- ควรทำทันที หลังจากนำออกจาก 37°C
- เก็บน้ำยา clearing แข็งแข็งหลังการใช้งาน

5. นำไปอุ่นที่ 37°C เป็นเวลา 15 นาที

6. เมื่อครบเวลา นำออกมาเติม clearing solution 20 ไมโครลิตร



การรายงานผล

หมู่ : Positive
สี : Negative

ข้อแนะนำ

- ควรอ่านผลโดยใช้โคมไฟ โดยถือหลอดไว้ได้ฉากที่บังหลอดไฟ และอ่านผลพร้อมกันหลายหลอดเพื่อเปรียบเทียบความขุ่น
- หมายเหตุ : ตัวอย่างเลือดแต่ละราย จะให้ผลความขุ่นมากน้อยแตกต่างกัน ขึ้นกับปริมาณ Hb E และความเข้มข้นของซีโรโกลบิน

7. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1-2 นาที เพื่อให้กำจัดสีและเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์

8. อ่านผลความขุ่นด้วยตาเปล่าโดยส่องภายใต้โคมไฟ



การควบคุมคุณภาพ

- ควรทำ 1 positive (เลือด EA) และ negative control (เลือด A₁) ตามคู่มือไปถ่ายทุกครั้งที่ incubate
- ตัวอย่างควบคุมที่เปลี่ยนเลือดเจาะใหม่ สามารถเก็บไว้ใช้ได้นานประมาณ 2 สัปดาห์ (เก็บที่ 2-8°C)

หมายเหตุ : การควบคุมคุณภาพโดยใช้ตัวอย่างเลือดควบคุม เป็นการควบคุมคุณภาพภายในและจะขบวนการทดสอบ แต่ไม่ควบคุมความถูกต้องของผลการอ่านผล

เปรียบเทียบความขุ่นเมื่อไม่ใช้ โคมไฟ (ซ้าย) และเมื่อส่องภายใต้โคมไฟ (ขวา)

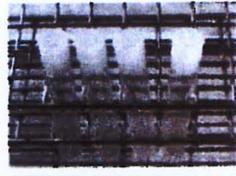
หลอดที่ 1 : Negative
หลอดที่ 2, 4 : Positive



Instruction for OF-test

สิ่งส่งตรวจ : EDTA whole blood

น้ำยา : KKU-OF



ข้อแนะนำ

- ควรสังเกต น้ำยาควรมีลักษณะใส
- ไม่จำเป็นต้องทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน
- ตัวอย่างเลือดที่ทดสอบเป็นเลือดเจาะใหม่ หรือเก็บที่ 2-8°C ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนการทดสอบ



1. ผสมเลือดให้เข้ากันดี



2. ดูดเลือด 20 ไมโครลิตร



3. เติมนลงในหลอดซึ่งมีน้ำยาบรรจุอยู่ 2 มิลลิลิตร (ดูล่าง lip 2-3 ครั้ง)



4. ปิดฝาและผสมให้เข้ากันดีโดยกลับหลอดไปมา

ข้อแนะนำ

- ไม่ควรใช้เครื่องช่วยผสม เพราะแรงกระทบอาจทำให้เม็ดเลือดแตก
- ตัวอย่างเลือดที่เข้มข้น (Hct < 25%) ควรใช้เลือด 40 ไมโครลิตร ในการทดสอบ



5. ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดตกดินตกสมบูรณ์



การรายงานผล

ขุ่น (ไม่เห็นเส้นหรือไม่คมชัด) : Positive
ใส (เส้นคมชัดเจน) : Negative

หมายเหตุ : ตัวอย่างเลือดแต่ละราย จะให้ผลความขุ่นมากน้อยแตกต่างกัน ขึ้นกับจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ติดปกติ

6. อ่านผลความขุ่นด้วยตาเปล่าโดยอ่านพร้อมกันหลายหลอด และเทียบกับเส้นหรือตัวอักษรสีดำ (ใต้โคมไฟ) สังเกตความคมชัดของเส้น (หลอดที่ 1-2 : Negative, หลอดที่ 3-4 : Positive)

การควบคุมคุณภาพ

- ควรทำ positive และ negative control ควบคู่ไปด้วยทุกครั้งที่ทำทดสอบ

การเลือกตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพของน้ำยา

- เลือกจากเลือดที่เหลือจากงานประจำโดยอาศัยค่าดังนี้เม็ดเลือดแดง

Positive control : MCV < 75 fl & MCH < 25 pg & Hb > 10 g/dl

Negative control : MCV > 85 fl & MCH > 28 pg & Hb > 13 g/dl

- เลือดที่เลือกไว้เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวกอาจเก็บไว้ที่ 2-8°C ได้นาน 1-3 วัน ขึ้นอยู่กับความชื้นแฉะ เลือดที่ขุ่นมากจะเก็บไว้ได้นานกว่า

หมายเหตุ : การควบคุมคุณภาพโดยการใช้น้ำยาตัวอย่างเลือดควบคุม เป็น การควบคุมคุณภาพน้ำยาและกระบวนการทดสอบ แต่ไม่ควบคุมความถูกต้องของการอ่านผล

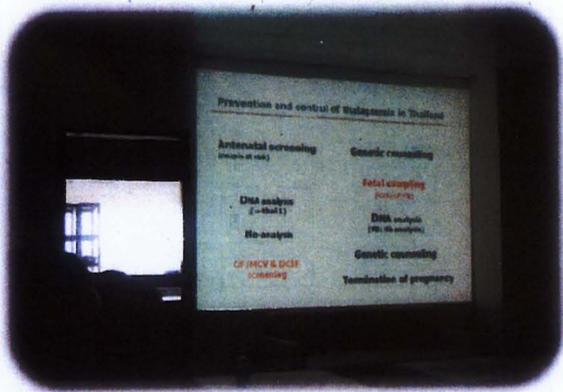
ภาคผนวก จ.
กิจกรรมที่เกี่ยวข้องในโครงการ



รูปที่ 10 กิจกรรมตรวจเยี่ยมและอบรมเชิงปฏิบัติการในพื้นที่



รูปที่ 11 กิจกรรมเจรจาความร่วมมือและเยี่ยมชมห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล 3 แห่ง ในนครหลวงเวียงจันทน์ สปป.ลาว



รูปที่ 12 กิจกรรมเจรจาความร่วมมือกับ Hue Regional Hematology and Blood Transfusion Center, Hue College of Medicine and Pharmacy ประเทศเวียดนาม (พบผู้บริหาร บรรยายและเยี่ยมชมห้องปฏิบัติการ)

ภาคผนวก ฉ.

เกียรติบัตรรับรองประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย



ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.)
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เกียรติบัตรฉบับนี้ ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

ห้องปฏิบัติการขั้นสูงตร โรงพยาบาล.....

ได้เข้าร่วมโครงการ

สถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและการพัฒนาประสิทธิภาพ
การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย
โดยศาสตราจารย์ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

และผ่านการประเมินประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย
ระหว่างเดือนถึงเดือนพ.ศ.....



.....
รศ.ดร.กนกวรรณ แสนไชยสุริยา
หัวหน้าโครงการฯ

.....
รศ.ดร.สุพรรณ พูเจริญ
ผู้อำนวยการ ศวป.

.....
รศ.ดร.เกรียงไกร กิจเจริญ
คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์

