

คู่มือ

# การตรวจวิเคราะห์ ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน



คู่มือ

# การตรวจวิเคราะห์ ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน



ชื่อหนังสือ คู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน  
จัดทำโดย คณะกรรมการจัดทำคู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน

จัดพิมพ์ ศูนย์วิจัยทางคลินิก  
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
ถ.ติวานนท์ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000  
โทร. 02 951 0000 ต่อ 99394  
โทรสาร. 02 951 0000 ต่อ 99394

|                 |            |      |            |
|-----------------|------------|------|------------|
| พิมพ์ครั้งที่ 1 | ตุลาคม     | 2553 | 1,000 เล่ม |
| พิมพ์ครั้งที่ 2 | กุมภาพันธ์ | 2554 | 800 เล่ม   |
| พิมพ์ครั้งที่ 3 | พฤษภาคม    | 2554 | 500 เล่ม   |
| พิมพ์ครั้งที่ 4 | พฤษภาคม    | 2555 | 500 เล่ม   |
| พิมพ์ครั้งที่ 5 | มีนาคม     | 2556 | 500 เล่ม   |

พิมพ์ที่ : บริษัท หมัดเด็ด จำกัด  
1213/84 ซอยลาดพร้าว 94 ถนนลาดพร้าว  
แขวงวังทองหลาง เขตวังทองหลาง กรุงเทพฯ 10310  
โทร 02-559-3298-9  
[www.knockoutblow.com](http://www.knockoutblow.com)

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ

คณะกรรมการจัดทำคู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิด  
และปริมาณฮีโมโกลบิน.

คู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน.-- นนทบุรี :  
ศูนย์วิจัยทางคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2553.  
93 หน้า.

1. ฮีโมโกลบิน. 2. ฮีโมโกลบินผิดปกติ. 3. ธาลัสซีเมีย. I. ชื่อเรื่อง.

616.151075

ISBN : 978-616-11-0414-6

# คำนำ

ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์เป็นหน่วยงานหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมและป้องกันโรค ผลการตรวจวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ การแปลผลที่ถูกต้อง และการรายงานผลที่รวดเร็ว นับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการรักษาและพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ตลอดจนการป้องกันไม่ให้มีผู้ป่วยใหม่เพิ่มมากขึ้น

การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่มีความสำคัญในการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ถึงแม้ว่าเทคโนโลยีการตรวจวิเคราะห์ที่มีการพัฒนาก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว ช่วยให้การวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ แต่ในทางปฏิบัติยังคงมีปัญหการแปลผลที่มีความหลากหลายไม่เป็นมาตรฐานเดียวกัน หากบุคลากรมีความเข้าใจที่ไม่ถูกต้อง จะส่งผลกระทบต่อความสำเร็จในการควบคุมและป้องกันโรค

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในฐานะที่มีภารกิจหลักทางห้องปฏิบัติการ เพื่อสนับสนุนการแก้ไขปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย จึงได้เรียนเชิญผู้เชี่ยวชาญจากมูลนิธิโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุข และมหาวิทยาลัยต่าง ๆ ร่วมกันจัดทำคู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน เพื่อเผยแพร่ให้ทุกหน่วยงานที่เกี่ยวข้องถือปฏิบัติให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญทุกท่านที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการจัดทำคู่มือฉบับนี้ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าองค์ความรู้อันมีคุณค่าทั้งหมดจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาศักยภาพเครือข่ายห้องปฏิบัติการของประเทศ ให้สามารถรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินได้อย่างน่าเชื่อถือ มีมาตรฐานเดียวกัน เกิดประโยชน์ในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียของประเทศไทยต่อไป

พ พ

นายแพทย์นิพนธ์ โพธิ์พัฒนชัย  
รองอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
ประธานคณะกรรมการจัดทำคู่มือ  
การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน

## คณะผู้จัดทำ

ศ.เกียรติคุณ พญ.คุณหญิงสุดศราคร ตั้งจิณดา

มูลนิธิโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

แห่งประเทศไทย

โทร. 02-4198329

ศ.เกียรติคุณ พญ.วรวรรณ ตันไพจิตร

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์

โรงพยาบาลศิริราช

โทร. 02-4198329

นพ.นิพนธ์ โพธิ์พัฒนชัย

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 02-5915231 ต่อ 99005-6

รศ.พินเอก นพ.กิตติ ต่อจรัส

กองพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

โทร. 02-3547660 ต่อ 93808

ดร.ปราณี ฟูเจริญ

สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล

มหาวิทยาลัยมหิดล

โทร. 02-8892557-8

นพ.สมชาย แสงกิจพร

ศูนย์วิจัยทางคลินิก

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 02-9510000 ต่อ 98456

นพ.ชรินทร์ ลิ้มวงศ์

ภาควิชาอายุรศาสตร์

โครงการพัฒนาระบบสุขภาพ

สำหรับธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลศิริราช

โทร. 02-4199488

รศ.ดร.สุพรรณ ฟูเจริญ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัย

ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โทร. 043-202083

รศ.กุลนภา ฟูเจริญ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัย

ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โทร. 043-202083

รศ.พญ.พิมพ์ลักษณ์ เจริญขวัญ

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทร. 053-945412-5

---

**รศ.ดร.ธนูศักดิ์ ตาตุ**

ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยาและเทคโนโลยีสุขภาพ

คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทร. 053-949288

---

**อาจารย์ชวดี นพรัตน์**

ภาควิชาพยาธิวิทยา

คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โทร. 074-451562

---

**นางนิษฐ์ชลิษฐ์ หิริโอดัปปะ**

ศูนย์อนามัยที่ 1 กรมอนามัย

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 02-5216550-2 ต่อ 105

---

**นางสิริภากร แสงกิจพร**

ศูนย์วิจัยทางคลินิก

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 02-9510000 ต่อ 99394

---

**นางสาวรวงคณา อ่อนทรวง**

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 8

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 056-267423 ต่อ 112

---

---

**ผศ.ดร.จำนงค์ นพรัตน์**

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โทร. 074-451567

---

**นางภัทราภรณ์ บุญพันธ์**

งานโลหิตวิทยา โรงพยาบาลราชวิถี

กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 02-3548108 ต่อ 3620-1

---

**นางบุษบา เตชะชัยนิรันดร์**

ศูนย์อนามัยที่ 4 กรมอนามัย

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 032-310368-71 ต่อ 2222

---

**นางสุทัศน์ีย์ วิมลเศรษฐ์**

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 043-240800 ต่อ 2106

---

**นางพรรณทิพา ศรีวิรุฬห์โชติ**

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 077-355301-6 ต่อ 116

---

**นางสาวอัมรา โยวัง**

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 13

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 053-176225-6 ต่อ 115,106

---

**นางบุญนิภา สุวรรณกาล**

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 042-207364-6 ต่อ 110,106

---

**นางสาวอารีรัตน์ สังข์น้อย**

ศูนย์วิจัยทางคลินิก

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กระทรวงสาธารณสุข

โทร. 02-9510000 ต่อ 98464

---

# สารบัญ

|         |  |    |
|---------|--|----|
| บทที่ 1 | การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน                                      | 1  |
| บทที่ 2 | การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินผิดปกติทางห้องปฏิบัติการ                           | 15 |
| บทที่ 3 | การแปลผลการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติทางห้องปฏิบัติการ      | 33 |
| บทที่ 4 | ตารางผลการตรวจทางโลหิตวิทยาเบื้องต้น<br>ในพาหะและผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ | 89 |
| ภาคผนวก |  | 93 |

---

**การตรวจวิเคราะห์  
ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน**

---

## บทที่ 1

# การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน

ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย ประชากรไทยประมาณร้อยละ 1 หรือประมาณ 6 แสนคนเป็นโรคนี้ และอีกร้อยละ 30-40 หรือประมาณ 18-24 ล้านคน มีความผิดปกตินี้แฝงอยู่โดยไม่รู้ตัว ความผิดปกติเหล่านี้มีหลายชนิด การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อแยกชนิดของโรค เป็นหัวใจสำคัญที่จะนำไปสู่การให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรม การพยากรณ์โรค การดูแลรักษาผู้ป่วย ตลอดจนการควบคุมและป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ

ประเทศไทยได้ดำเนินการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 โรค ได้แก่ Hb Bart's Hydrops Fetalis, Homozygous  $\beta$ -thalassemia และ  $\beta$ -thalassemia/ Hb E มาอย่างต่อเนื่อง โดยมีแนวทางการดำเนินงานที่สำคัญ 2 แนวทาง คือ การรักษาผู้ป่วยที่มีอยู่ให้ดีที่สุด และการป้องกันการเกิดผู้ป่วยรายใหม่<sup>(1)</sup> การดำเนินงานด้านนี้อาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการสามระดับ คือ การตรวจคัดกรอง การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน และการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยห้องปฏิบัติการจะต้องมีศักยภาพในการวินิจฉัย  $\alpha$ -thalassemia 1,  $\beta$ -thalassemia และ Hb E ได้ ตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุข

ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติทางห้องปฏิบัติการได้มีการดำเนินงานอย่างกว้างขวางทั่วประเทศ ห้องปฏิบัติการต่างๆ สามารถพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการและ/หรือระบบส่งต่อเพื่อขอรับบริการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่เป็นเป้าหมายสำคัญในการดำเนินงานได้อย่างเป็นระบบ นับเป็นประโยชน์ในการสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของประเทศไทยให้ดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินหรือที่นิยมเรียกว่า Hb typing เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ประกอบด้วย การตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบิน การตรวจวัดปริมาณ Hb A<sub>2</sub> และการตรวจวัดปริมาณ Hb F เทคนิคดั้งเดิมที่ได้มาตรฐานประกอบด้วย การแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าผ่านตัวกลางที่เป็นแป้ง (starch gel electrophoresis)<sup>(2-5)</sup> การตรวจวัดปริมาณ Hb A<sub>2</sub> ด้วยวิธีไมโครคอลัมน์โครมาโตกราฟี (micro-column chromatography)<sup>(6-10)</sup> และการตรวจวัดปริมาณ Hb F ด้วยวิธีทำลายฮีโมโกลบินด้วยด่าง (alkali denaturation test)<sup>(11)</sup>

การตรวจด้วยวิธี starch gel electrophoresis มีความไวในการตรวจสูง แต่มีหลายขั้นตอนเริ่มตั้งแต่การเตรียมแป้งให้เป็นเจลใหม่ทุกครั้งที่ทำ การวิเคราะห์ การเตรียม hemolysate และการแยกฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้า กระบวนการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้เวลานาน และไม่สามารถบอกปริมาณของฮีโมโกลบินแต่ละชนิด จึงไม่ค่อยมีผู้นิยมใช้ และเปลี่ยนไปใช้แผ่นเซลลูโลสอะซีเตทเป็นตัวกลางแยกชนิดฮีโมโกลบินแทน (cellulose acetate electrophoresis)<sup>(12)</sup> ทั้ง starch gel และ cellulose acetate electrophoresis เป็นการแยกชนิดฮีโมโกลบินในบัฟเฟอร์ที่เป็นด่าง (alkali buffer) ฮีโมโกลบินจึงเคลื่อนที่จากขั้วลบเข้าหาขั้วบวก ดังนั้น Hb A ซึ่งมีประจุลบมากกว่า Hb F และ Hb A<sub>2</sub> จึงเคลื่อนที่เข้าใกล้ขั้วบวกมากกว่า Hb F และ Hb A<sub>2</sub> โดยมีลำดับการเรียงตัวของฮีโมโกลบินที่พบบ่อยในประเทศไทย ดังแสดงในรูปที่ 1 การรายงานชนิดฮีโมโกลบินที่แยกได้จึงเป็นการรายงานโดยเขียนเรียงลำดับจากขั้วลบไปยังขั้วบวก เช่น A<sub>2</sub>A, EA, EFA, EA Bart's, CS A<sub>2</sub>A Bart's H เป็นต้น

ในคนปกติที่มีอายุมากกว่า 1 ปี เมื่อสาย  $\beta$ -globin มีการแสดงออกได้อย่างสมบูรณ์แล้ว

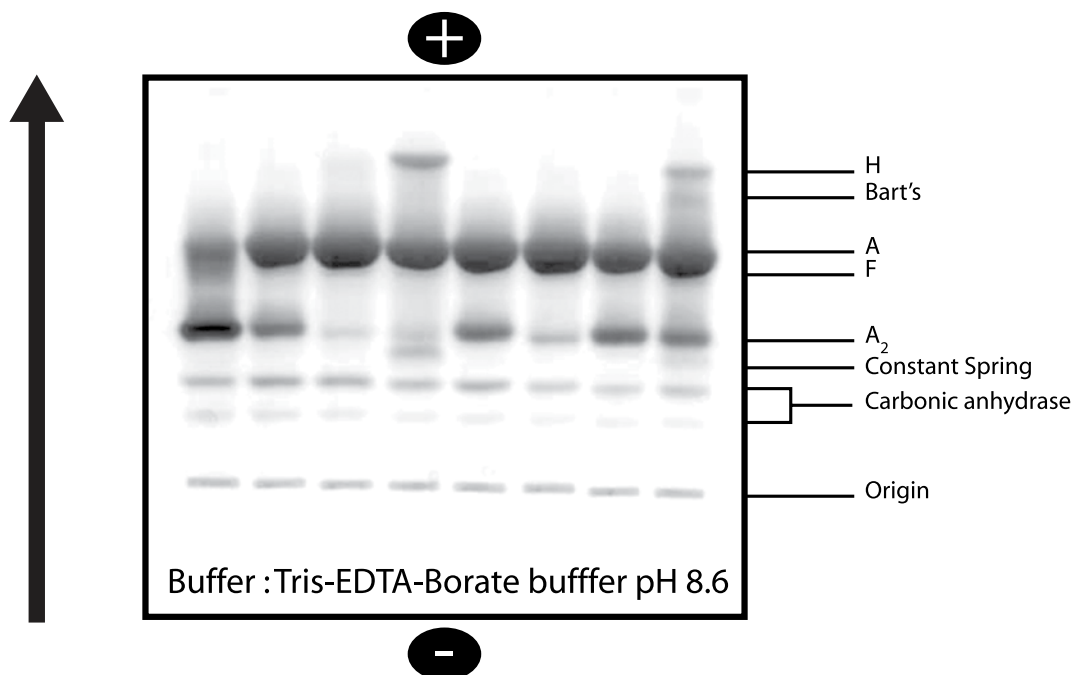
จะมีฮีโมโกลบิน 3 ชนิด คือ Hb A ( $\alpha_2\beta_2$ ) ประมาณร้อยละ 96, Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) ประมาณร้อยละ 2.5 (ไม่เกินร้อยละ 4) และ Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ) น้อยกว่าร้อยละ 1<sup>(13, 14)</sup> เมื่อนำไปแยกชนิดด้วยกระแสไฟฟ้า Hb F ซึ่งมีปริมาณน้อยมาก และมีประจุลบน้อยกว่า Hb A เพียงเล็กน้อย แถบของ Hb F จึงซ้อนอยู่กับ Hb A ในเลือดคนปกติเมื่อแยกด้วยกระแสไฟฟ้า จึงเห็นแถบของฮีโมโกลบินแยกกันอยู่ชัดเจน 2 แถบ คือ แถบของ Hb A<sub>2</sub> เป็นแถบบางอยู่ใกล้ขั้วลบ และ แถบของ Hb A ซึ่งเป็นแถบหนาอยู่ใกล้ขั้วบวก จึงรายงานผลว่า A<sub>2</sub>A การตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้างกล่าวนี้ ไม่สามารถระบุปริมาณฮีโมโกลบินแต่ละชนิดได้อย่างถูกต้อง จำเป็นต้องตรวจวัดปริมาณ Hb A<sub>2</sub> และ Hb F ด้วยวิธีอื่นต่อไป เพื่อประเมินว่ามีปริมาณเป็นปกติด้วยหรือไม่ ทำให้มีหลายขั้นตอนในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 เป็นต้นมา ประเทศไทยมีการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติที่สามารถแยกชนิดและตรวจวัดปริมาณของฮีโมโกลบินแต่ละชนิดได้พร้อมกัน โดยอาศัยหลักการโครมาโตกราฟีอัดแรงดัน (liquid chromatography) ซึ่งมีทั้งแบบแรงดันสูง (high pressure liquid chromatography

: HPLC)<sup>(15-20)</sup> และแบบแรงดันต่ำ (low pressure liquid chromatography : LPLC)<sup>(21, 22)</sup> และล่าสุดในปี พ.ศ. 2550 เป็นต้นมา มีการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ โดยอาศัยหลักการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าความต่างศักย์สูงในหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็ก (capillary electrophoresis)<sup>(23-25)</sup> ข้อดีของเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติเหล่านี้คือ ความสะดวก รวดเร็วในการปฏิบัติงาน รวมทั้งผลการตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้มีความถูกต้องแม่นยำสูงกว่าวิธีดั้งเดิม จึงได้รับความนิยมมากในปัจจุบัน

### การตรวจวิเคราะห์โดยวิธีโครมาโตกราฟีอัดแรงดัน

การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินโดยวิธีโครมาโตกราฟีอัดแรงดัน อาศัยหลักการคอลัมน์โครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออนชนิดบวก (cation exchange column chromatography) ส่วนคอลัมน์บรรจุอนุภาคขนาดเล็ก (spherical silica gel) เคลือบด้วยสารคาร์บอกซิล (carboxyl) ซึ่งมีประจุลบ ทำหน้าที่เป็น stationary phase จับกับประจุ



รูปที่ 1 แสดงการแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่น cellulose acetate

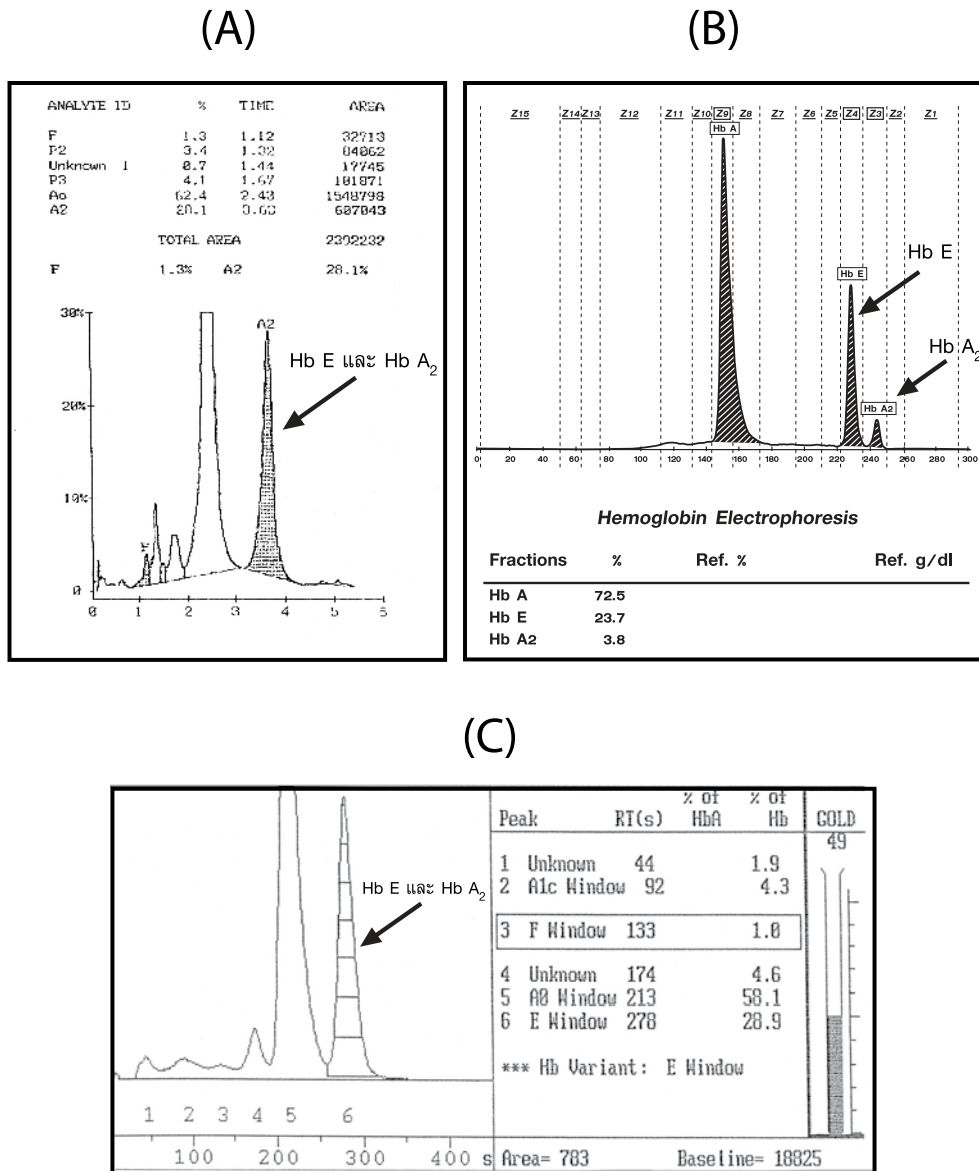
บวกของฮีโมโกลบินที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์ทางระบบส่งสารตัวอย่าง (sample injector) จากนั้นฮีโมโกลบินแต่ละชนิดจะถูกชะล้าง (elute) ออกจากคอลัมน์ด้วยบัฟเฟอร์ (mobile phase) ที่มีความแรงของประจุ (ionic strength) สูงกว่าความแรงของประจุของฮีโมโกลบินที่จับอยู่กับ stationary phase แต่เนื่องจากในตัวอย่างไม่เล็ดมีฮีโมโกลบินปนกันหลายชนิด แต่ละชนิดมี ionic strength ไม่เท่ากัน เครื่องอัตโนมัติเหล่านี้จึงต้องมีโปรแกรมควบคุมการผสมบัฟเฟอร์ 2 ชนิดที่มี ionic strength ต่างกัน เพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลงของ ionic strength ที่เหมาะสมสำหรับฮีโมโกลบินแต่ละชนิด ระยะเวลาที่ฮีโมโกลบินแต่ละชนิดคงอยู่ในคอลัมน์เรียกว่า retention time (RT) ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของแต่ละฮีโมโกลบิน จากนั้นฮีโมโกลบินที่ถูกชะออกมาจะถูกส่งไปยังเครื่องตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer detector) ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม แล้วส่งข้อมูลไปยังส่วนประมวลผลเพื่อวิเคราะห์ฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ อ้างอิงตาม RT ของฮีโมโกลบินมาตรฐาน และรายงานผลเป็น 2 ลักษณะ คือ รายงานโครมาโตแกรมแสดงการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินที่ถูกชะล้างผ่านคอลัมน์ออกมาในเวลาต่าง ๆ (หรือนิยมเรียกกันว่า peak) และรายงานปริมาณฮีโมโกลบินแต่ละชนิดตามพื้นที่ใต้กราฟในช่วงเวลาที่กำหนด

### การตรวจวิเคราะห์โดยการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าความต่างศักย์สูงในหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็ก (capillary electrophoresis)

การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินโดยวิธี capillary electrophoresis อาศัยการแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าความต่างศักย์สูง (10,000-30,000 volts) ผ่านตัวกลาง คือหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็กมาก (silica capillary) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 25-100 ไมโครเมตร โดยปลายทั้งสองข้างของหลอดแก้วจุ่มอยู่ในบัฟเฟอร์ที่เป็นด่าง (alkali buffer pH 9.4) เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าเข้าไป จะเกิดการเคลื่อนที่ของฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ ที่มีประจุ

สุทธิแตกต่างกันไปตามแรงขับเคลื่อนไฟฟ้า (electro osmotic flow) โดยตัวอย่างจะถูกปล่อยเข้าไปในหลอดแก้วทางด้านหัวบวก เคลื่อนที่ไปยังหัวลบผ่านเครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร และระบบแปลงสัญญาณ แล้วรายงานผล electrophoregram ซึ่งเทียบได้กับ chromatogram จากเครื่อง HPLC หรือ LPLC โดยก่อนการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างไม่เล็ดจะมีการปรับมาตรฐานตำแหน่งของฮีโมโกลบินให้ Hb A อยู่ตรงกลางของหน้าต่าง electrophoregram จากตัวอย่างควบคุมคุณภาพก่อน โดยฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ ที่มีในตัวอย่างไม่เล็ดจะถูกกำหนดเป็นโซนตั้งแต่ โซน 1 ถึงโซน 15 ใน electrophoregram ที่ปรากฏโดยอ้างอิงจาก Hb A และหรือ Hb A<sub>2</sub> ของตัวอย่างนั้น ในกรณีวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดที่ไม่มี Hb A และหรือ Hb A<sub>2</sub> เครื่องจะอ้างอิงชนิดฮีโมโกลบินจากตัวอย่างที่วิเคราะห์ก่อนหน้านี้ และจะไม่ปรากฏแถบโซนใน electrophoregram

แม้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์จะเป็นเครื่องอัตโนมัติ แต่ด้วยหลักการที่แตกต่างกัน อาจทำให้ฮีโมโกลบินชนิดเดียวกัน เคลื่อนที่ในตำแหน่งที่ต่างกัน ลักษณะการรายงานผล และลำดับการเรียงตัวของฮีโมโกลบินจากเครื่องมือแต่ละหลักการอาจแตกต่างกันได้ ดังตัวอย่างในรูปที่ 2 ซึ่งแสดงผลการวิเคราะห์ Hb E ในตัวอย่างเลือดของพาหะ Hb E เครื่อง HPLC จะรายงาน Hb E ในตำแหน่งเดียวกับ Hb A<sub>2</sub> (รูปที่ 2A) เครื่อง CE สามารถแยก Hb A<sub>2</sub> และ Hb E ออกจากกันได้ จึงรายงานชนิดและปริมาณของฮีโมโกลบินทั้ง 2 ชนิด แยกจากกัน (รูปที่ 2B) ส่วนเครื่อง LPLC สามารถแยกตำแหน่ง Hb A<sub>2</sub> และ Hb E ได้ แต่เนื่องจากตำแหน่งของฮีโมโกลบินทั้ง 2 ชนิด อยู่ใกล้กันมาก ปริมาณของ Hb A<sub>2</sub> และ Hb E จึงรายงานอยู่ร่วมกันในตำแหน่งของ Hb E (รูปที่ 2C) ดังนั้นการรายงานผลและแปลผล จึงต้องการผู้ชำนาญการในการอ่านและวิเคราะห์ผล ซึ่งนอกจากจะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้ความเข้าใจในหลักการของเครื่องเป็นอย่างดีแล้ว ยังต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติซึ่งมีความหลากหลายในประชากรไทยอีกด้วย



รูปที่ 2 Chromatogram ของพาหะ Hb E เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A), CE (B) และ LPLC (C)

## การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน

ในการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ผู้วิเคราะห์จะต้องรายงานทั้งชนิดและปริมาณของฮีโมโกลบินที่ตรวจพบ สำหรับค่าอ้างอิงของ Hb A<sub>2</sub>, Hb E และ Hb F จากการวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC และ LPLC ซึ่งอาศัยหลักการ cation exchange column chromatography เหมือนกัน ลักษณะ chromatogram ที่ปรากฏ มีความคล้ายคลึงกัน สามารถเทียบเคียงค่าอ้างอิงด้วยกันได้ สำหรับเครื่อง CE ซึ่งอาศัยหลักการต่าง

กันออกไป ลำดับชนิดฮีโมโกลบินที่แยกออกมาบน electrophoregram จะแตกต่างจาก chromatogram ของเครื่อง HPLC และ LPLC แต่จะไปคล้ายกับลำดับของฮีโมโกลบินที่แยกได้จากการทำ starch gel และ cellulose acetate electrophoresis โดยสามารถแยก Hb A<sub>2</sub> และ Hb E ออกจากกันได้ ดังนั้นค่าอ้างอิงของปริมาณ Hb E จึงไม่สามารถเทียบเคียงกับค่าที่ตรวจวัดได้จากเครื่อง HPLC และ LPLC เนื่องจากค่าที่ตรวจวัดได้ในกรณีของเครื่อง HPLC และ LPLC จะรวมเอาปริมาณ Hb A<sub>2</sub> ซึ่งไม่สามารถแยกออกจาก Hb E ได้ด้วย หากการแปลผลที่ได้จากเครื่อง CE จะใช้เกณฑ์เดียวกับเครื่อง HPLC และ LPLC ในกรณี

ของ Hb E ผู้แปลผลจะต้องรวมปริมาณ Hb A<sub>2</sub> และ Hb E ไว้ด้วยกัน<sup>(24)</sup> การมีความรู้ความเข้าใจในการแปลผลการตรวจจะช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถรายงานผลและใช้ผลการตรวจเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียได้อย่างถูกต้องมากขึ้น

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย จำแนกเป็นชนิดต่าง ๆ ได้ ดังนี้

**1. A<sub>2</sub>A** เป็นชนิดฮีโมโกลบินที่พบในคนปกติที่มีอายุมากกว่า 1 ปีขึ้นไป รวมทั้งผู้ที่ เป็นพาหะ  $\alpha$ -thalassemia และ  $\beta$ -thalassemia ดังนี้

1.1 กรณีที่มีปริมาณ Hb A<sub>2</sub> อยู่ใน ช่วงปกติ (Hb A<sub>2</sub> น้อยกว่าร้อยละ 4) ร่วมกับมีผลการตรวจคัดกรองด้วย OF และ DCIP เป็นลบ หรือ MCV มากกว่าหรือเท่ากับ 80 fL, MCH มากกว่าหรือเท่ากับ 27 pg จะแปลผลว่า **Normal or non-clinically significant thalassemia** เนื่องจากผู้ที่มียีนแฝง  $\alpha$ -thalassemia 2 ซึ่งเป็น  $\alpha$ -thalassemia ชนิดที่ไม่รุนแรงบางรายให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นลบเช่นเดียวกับคนปกติ<sup>(26, 27)</sup>

1.2 กรณีที่มีปริมาณ Hb A<sub>2</sub> อยู่ใน ช่วงปกติ (Hb A<sub>2</sub> น้อยกว่าร้อยละ 4) แต่ผลการตรวจคัดกรองด้วย OF เป็นบวก หรือ MCV น้อยกว่า 80 fL และ MCH น้อยกว่า 27 pg จะแปลผลว่า **Normal Hb typing, not rule out  $\alpha$ -thalassemia** โดยมีโอกาสเป็นได้ทั้งพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 1, พาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 และ homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 หรือภาวะเลือดจาง (Hb ต่ำ) จากสาเหตุอื่น เช่น ภาวะขาดธาตุเหล็ก เป็นต้น<sup>(26-29)</sup>

1.3 กรณีที่มีปริมาณ Hb A<sub>2</sub> ร้อยละ 4-8 (เลือดไม่เกิน 1 สปีดาร์หลังเจาะ) ร่วมกับการมีผลการตรวจคัดกรองด้วย OF เป็นบวกหรือ MCV น้อยกว่า 80 fL, MCH น้อยกว่า 27 pg จะแปลผลว่า  **$\beta$ -thalassemia trait with or without  $\alpha$ -thalassemia** โดยมีโอกาสเป็นได้ทั้ง  $\alpha$ -thalassemia 1 และ  $\alpha$ -thalassemia 2 เนื่องจากผู้ที่มียีนแฝง  $\beta$ -thalassemia ทั้งที่มีและไม่มียีนแฝง  $\alpha$ -thalassemia ร่วมด้วย มีข้อมูลทางโลหิตวิทยาคล้ายคลึงกัน ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้<sup>(30, 31)</sup> ถ้ามีความจำเป็นในการวินิจฉัยภาวะ  $\alpha$ -thalassemia สามารถทำได้โดยการตรวจดีเอ็นเอ

ผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคชนิดรุนแรง คือ  $\beta^0$ -thalassemia หรือ  $\alpha$ -thalassemia 1 มักจะไม่มีภาวะซีด มีค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง ได้แก่ MCV น้อยกว่า 80 fL และ/ หรือ MCH น้อยกว่า 27 pg มีผลการตรวจกรอง OF positive และ DCIP negative โดยทั่วไป Hb จะมากกว่า 10 g/dL และ Hct มากกว่าร้อยละ 30 (ถ้าไม่มีภาวะอื่นแทรกซ้อน) พาหะกลุ่มนี้มักจะมีจำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น (มากกว่า  $5 \times 10^{12}$  cells/L)<sup>(26, 27)</sup> การแปลผลในกรณี A<sub>2</sub>A จึงต้องให้ความสำคัญกับปริมาณ Hb A<sub>2</sub> และผลการตรวจคัดกรองด้วย

**2. EA** เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี พบได้ 2 กรณี ดังนี้

2.1 EA ที่มีปริมาณ Hb E มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 25 ซึ่งโอกาสจะมี  $\alpha$ -thalassemia 1 ร่วมน้อย<sup>(32, 33)</sup> แต่ก็มีจำนวนไม่น้อยที่มียีนแฝง  $\alpha$ -thalassemia 2 ร่วมด้วย<sup>(34)</sup> กรณีผลการตรวจเป็น EA ที่มี Hb E มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 25 จึงแปลผลเป็น **Hb E trait** ซึ่งแม้ว่าจะไม่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรค  $\alpha$ -thalassemia ชนิดรุนแรง (homozygous  $\alpha$ -thalassemia 1 หรือ Hb Bart's hydrops fetalis) แต่ก็มีโอกาสให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรค  $\alpha$ -thalassemia ชนิดอื่นที่มีอาการรุนแรงปานกลางได้ เช่น Hb H disease หรือ EA Bart's disease เป็นต้น

2.2 EA ที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25 อาจเป็นพาหะ Hb E ที่มียีนแฝง  $\alpha$ -thalassemia 1 ร่วมด้วย จึงแปลผลเป็น **Hb E trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**<sup>(34)</sup> ซึ่งแพทย์และพยาบาลที่ทำหน้าที่ให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมกับคู่เสี่ยงจะต้องให้ความสนใจเป็นพิเศษ เพราะเป็นคู่เสี่ยงที่มีโอกาสที่ให้กำเนิดบุตรเป็นได้ทั้งโรค  $\alpha$ -thalassemia และ  $\beta$ -thalassemia ชนิดรุนแรง

**3. EE** เป็น homozygous Hb E กรณีนี้มักตรวจพบปริมาณ Hb F สูงขึ้นเล็กน้อย ถ้าเป็นการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าจะพบแถบของ Hb F งามๆ เมื่อตรวจวัดปริมาณจะพบปริมาณ Hb F น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 และพบปริมาณ Hb E มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80<sup>(35)</sup> แต่ก็พบว่ามี homozygous Hb E บางรายที่มีปริมาณ Hb F สูงขึ้น ถึงประมาณร้อยละ 10 ทำให้ผู้วิเคราะห์เกิดความสับสนในการ

รายงานผล ในกรณีนี้อาจรายงานผลเป็น EE/ EF เพราะ 2 ชนิดนี้มีจีโนไทป์ที่ต่างกัน และมีความรุนแรงต่างกันด้วย

หากเป็น EE คือ homozygous Hb E จะไม่เป็นโรคธาลัสซีเมียที่รุนแรง ถ้าพิจารณาค่าทางโลหิตวิทยาอื่นๆ ประกอบด้วย จะพบว่าไม่มีภาวะซีด โดยทั่วไปมีค่า Hb มากกว่า 10 g/dL แต่จะมีค่า MCV และ MCH ต่ำ<sup>(35)</sup> ทั้งนี้ ผู้ที่มีผลการวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น EE ก็อาจมีแฝง  $\alpha$ -thalassemia ร่วมได้หลากหลายจีโนไทป์<sup>(35)</sup> ไม่สามารถวินิจฉัยแยกออกจากกันได้จากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินหรือ ผลการตรวจทางโลหิตวิทยาอื่นๆ ต้องทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเท่านั้น จึงจะให้การวินิจฉัยได้ ดังนั้นการตรวจพบ EE ที่มีปริมาณ Hb E มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 และมี Hb F น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 จึงแปลผลเป็น **homozygous Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia**

ส่วนกรณีของ EF จัดเป็นโรค  $\beta$ -thalassemia ซึ่งจะได้กล่าวถึงในข้อ 9 ต่อไป

**4. CS A<sub>2</sub>A** อาจเป็น Hb Constant Spring (CS) หรือ Hb Pakse' เนื่องจากฮีโมโกลบินผิดปกติ 2 ชนิดนี้ มีจำนวนกรดอะมิโนของสาย  $\alpha$ -globin มากกว่าปกติ 31 ตัวเท่ากัน และถึงแม้จะมีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 142 ต่างกัน โดยที่ Hb CS เป็นกลูตามีน (glutamine; Glu) ส่วน Hb Pakse' เป็นไทโรซีน (tyrosine; Tyr) แต่ทั้งสองชนิดมีประจจุสุทธิไม่ต่างกัน จึงตรวจพบในตำแหน่งเดียวกันทั้งจากการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าและการตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ HPLC หรือ LPLC<sup>(36)</sup> ในการรายงานผลจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินจะรายงานเป็น Hb CS เนื่องจาก Hb CS มีอัตราการตรวจพบมากกว่า Hb Pakse'<sup>(37)</sup> กรณีนี้จึงแปลผลเป็น **suspected Hb Constant Spring**

**5. CS A<sub>2</sub>A Bart's** เป็น homozygous Hb CS หรือ Hb Pakse' แปลผลเป็น **suspected homozygous Hb Constant Spring** ผู้ป่วยมักมีภาวะซีดคล้ายผู้ที่เป็นโรค Hb H ซึ่งจะได้กล่าวถึงต่อไป อย่างไรก็ตามอาจตรวจไม่พบ Hb Bart's ได้ เนื่องจากสาย  $\gamma$ -globin มีปริมาณน้อย<sup>(38)</sup>

**6. A<sub>2</sub>A H หรือ A<sub>2</sub>A Bart's H** เป็นโรค  $\alpha$ -thalassemia ชนิดหนึ่ง การตรวจพบ Hb H ( $\beta_4$ ) หรือ Hb Bart's ( $\gamma_4$ ) ในเลือด แสดงว่าสาย  $\alpha$ -globin มีปริมาณน้อยลงมาก สาย  $\beta$ -globin และสาย  $\gamma$ -globin จึงเหลืออยู่มากและจับกันเอง 4 สาย กลายเป็น Hb H ( $\beta_4$ ) และ Hb Bart's ( $\gamma_4$ ) จากการตรวจพบ Hb H ในเลือด จึงเรียกว่าโรค Hb H แต่อาจพบหรือไม่พบ Hb Bart's ก็ได้ เนื่องจากสาย  $\gamma$ -globin มีปริมาณน้อย

การลดลงของสาย  $\alpha$ -globin ในโรคนี้ จะลดลงมากกว่าในภาวะที่เป็นพาหะ  $\alpha$ -thalassemia เพราะในพาหะยังสามารถตรวจพบชนิดของฮีโมโกลบินเป็น A<sub>2</sub>A เหมือนคนปกติ เนื่องจากสาย  $\beta$ -globin และ  $\gamma$ -globin อีกระลอกทำลายไปได้หมดหรือเกือบหมด ทำให้ตรวจไม่พบ Hb H และ Hb Bart's ในเลือด ดังนั้นในกรณีที่พบ Hb H และ Hb Bart's จึงแสดงให้เห็นถึงความรุนแรงของโรคมากกว่าพาหะ กรณีที่มีผลการตรวจ Hb typing เป็น A<sub>2</sub>A H หรือ A<sub>2</sub>A Bart's H จึงแปลผลเป็น Hb H disease ( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha$ -thalassemia 2 หรือ  $\alpha^0$ -thalassemia/ $\alpha^+$ -thalassemia) โดยปริมาณ Hb A<sub>2</sub> ค่อนข้างต่ำกว่าปกติ ผู้ป่วยมีภาวะซีดปานกลาง ตับม้ามโตเล็กน้อย

**7. CS A<sub>2</sub>A H หรือ CS A<sub>2</sub>A Bart's H** เป็นโรค Hb H-CS disease ( $\alpha$ -thalassemia 1/ Hb CS หรือ  $\alpha^0$ -thalassemia/ Hb CS) จัดเป็นโรค Hb H อีกชนิดหนึ่ง ผู้ป่วยมีอาการต่างๆ คล้ายผู้ที่เป็นโรค Hb H ในข้อที่ 6 แต่มีหลักฐานยืนยันว่าอาการมักจะรุนแรงกว่าเนื่องจากมีความไม่เสถียรของ Hb H ร่วมกับ Hb CS<sup>(36, 39-44)</sup> และที่ควรระวัง คือ ความไม่เสถียรร่วมกับการมีปริมาณน้อยของ Hb CS ถ้าผู้ป่วยมีไข้ หรือเก็บเลือดไว้นานเกินไป อาจตรวจไม่พบ ทำให้แปลผลผิดพลาดได้

ในกรณีของโรค Hb H ทั้งข้อ 6 และ ข้อ 7 นี้ หากผู้อ่านผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติไม่ชำนาญ อาจรายงานผลผิดพลาดได้ ทั้งแบบไม่รายงาน Hb H หรือรายงาน Hb H ออกไปทั้งๆ ที่ไม่ใช่ Hb H แต่เป็นปัญหาเลือดเก่า จึงเกิด peak ที่ตำแหน่งเดียวกับ Hb H ดังนั้นในกรณีที่ไม่แน่ใจว่าเป็น Hb H หรือไม่ นอกจากการพิจารณาข้อมูลพารามิเตอร์ต่างๆ ของเม็ดเลือดแดง ร่วมกับอาการทางคลินิกแล้ว การย้อม Hb inclusion bodies<sup>(45, 46)</sup> ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง

จะช่วยควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการก่อน รายงานผล Hb typing ได้เป็นอย่างดี

**8. A<sub>2</sub>F** กรณีนี้ต้องตรวจสอบอายุของผู้ป่วย ถ้าเป็นเด็กทารกที่อายุยังไม่ถึง 1 ปี จะไม่สามารถให้การวินิจฉัยที่ถูกต้องได้ เนื่องจากปริมาณ Hb F ยังไม่คงที่ ต้องรอให้อายุมากกว่า 1 ปี หรือตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอร่วมกับการตรวจเลือดพ่อแม่ จึงจะแปลผลได้ แต่ถ้าพบในเด็กที่มีอายุมากกว่า 1 ปี ขึ้นไป และพบร่วมกับการที่เด็กมีอาการของโรคธาลัสซีเมียชัดเจน ซีด ตับม้ามโต จะแปลผลเป็น **homozygous  $\beta^0$ -thalassemia with or without  $\alpha$ -thalassemia** ซึ่งเป็นโรค  $\beta$ -thalassemia ชนิดรุนแรง ไม่สามารถตรวจพบ Hb A ได้เลย แสดงว่าผู้ป่วยสังเคราะห์สาย  $\beta$ -globin ไม่ได้ จึงมีการสังเคราะห์สาย  $\gamma$ -globin ขึ้นมาทดแทน ทำให้ตรวจพบ Hb F มีปริมาณสูงขึ้น ส่วนปริมาณ Hb A<sub>2</sub> อาจสูงขึ้นเล็กน้อยหรืออยู่ในเกณฑ์ปกติได้

**9. EF** เป็นโรค  $\beta$ -thalassemia อีกชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากมีอุบัติการณ์ของ Hb E สูง โดยจะแปลผลเป็น  $\beta^0$ -thalassemia/ Hb E ผู้ป่วยมีอาการของโรคธาลัสซีเมียชัดเจน คือ ซีด ตับม้ามโต คล้าย homozygous  $\beta^0$ -thalassemia หรืออาจมีอาการน้อยกว่า<sup>(47)</sup> และตามที่ได้กล่าวไปแล้วว่า ชนิดของ Hb typing ที่เป็น EF นี้ อาจทำให้สับสนกับผู้ที่ เป็น EE ได้ การแปลผลจึงต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ การตรวจตัวอย่างเลือดของครอบครัวผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพ่อแม่ของผู้ป่วย จะช่วยให้การแปลผลมีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

โดยทั่วไปมักตรวจพบปริมาณ Hb F อยู่ในช่วงร้อยละ 20-60<sup>(48)</sup> แต่ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาโดยการให้เลือดมาแล้ว ปริมาณ Hb E และ Hb F อาจเปลี่ยนแปลงไปจนทำให้การแปลผลผิดพลาดได้ ถ้าไม่ทราบประวัติการรับเลือดมาก่อน

**10. A<sub>2</sub>FA, EFA** กรณีนี้ต้องตรวจสอบอายุผู้ป่วยเช่นเดียวกับการตรวจพบ A<sub>2</sub>F การตรวจพบ A<sub>2</sub>FA ในผู้ที่มีอายุมากกว่า 1 ปี มีภาวะซีด และไม่มีประวัติการรับเลือดภายใน 3 เดือนก่อนทำการตรวจเลือดจะต้องคำนึงถึงการมีถิ่นแฝง  $\alpha$ -thalassemia ทั้งชนิด  $\alpha$ -thalassemia 1 และ  $\alpha$ -thalassemia 2<sup>(49)</sup>

ร่วมด้วย จึงควรแปลผลเป็น **suspected  $\beta^0$ -thalassemia/  $\beta^+$ -thalassemia or  $\beta^+$ -thalassemia/  $\beta^+$ -thalassemia with or without  $\alpha$ -thalassemia** และถ้าผลเป็น EFA จะแปลผลเป็น  $\beta^+$ -thalassemia/ Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia แต่เนื่องจากอุบัติการณ์ของยีน  $\beta^+$ -thalassemia (ที่ไม่ใช่ Hb E) ในประเทศไทยมีน้อย เมื่อเทียบกับอุบัติการณ์ของยีน  $\beta^0$ -thalassemia ดังนั้นการตรวจพบ A<sub>2</sub>FA และ EFA มักเป็น  $\beta^0$ -thalassemia/  $\beta^0$ -thalassemia และ  $\beta^0$ -thalassemia/ Hb E ที่มีประวัติการรับเลือดเป็นประจำแทบทั้งสิ้น

### ข้อควรระวังเมื่อตรวจพบ Hb F

การตรวจพบ Hb F ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ก่อนที่จะทำการวินิจฉัยใดๆ ต้องตรวจสอบอายุของผู้ป่วยก่อนเสมอ ถ้าอายุยังไม่ครบ 1 ปี จะยังไม่สามารถให้การวินิจฉัยที่ถูกต้องได้ เนื่องจากในช่วงแรกคลอดถึง 1 ปี ปริมาณ Hb F ยังสูงอยู่ การสลับกันของสาย  $\beta$ -globin กับสาย  $\gamma$ -globin (Hb Switching) ยังไม่สมบูรณ์

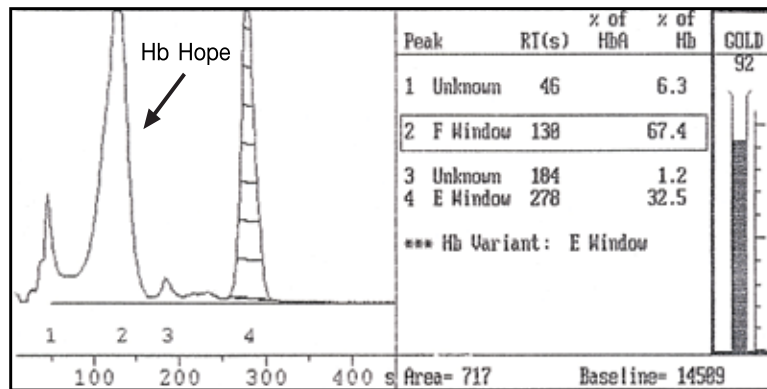
เมื่ออายุมากกว่า 1 ปี ไปแล้ว หากยังตรวจพบ Hb F ก็ต้องพิจารณาให้ดี เพราะไม่แน่เสมอไปว่าการตรวจพบ Hb F ที่สูงขึ้นจะเป็นโรค  $\beta$ -thalassemia ต้องดูอาการทางคลินิกประกอบด้วย ถ้าไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมียเลย และมีค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดงเป็นปกติทั้งหมด ก็อาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างเลือดรายนั้นเป็นภาวะ **hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH)**<sup>(49-52)</sup> ซึ่งเป็นภาวะที่ยีน  $\gamma$ -globin สร้างสาย  $\gamma$ -globin ได้ในปริมาณสูง โดยไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ

นอกจากนี้ การเพิ่มขึ้นของ Hb F อาจพบได้ในภาวะที่มี stress erythropoiesis จากสาเหตุอื่นๆ ที่ทำให้มีภาวะเลือดจาง เช่น การตั้งครรภ์ โรคโลหิตจางเรื้อรัง และมะเร็งเม็ดเลือดขาว<sup>(53)</sup> เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Hb F ในภาวะที่มี stress erythropoiesis นี้มักจะเพิ่มขึ้นไม่เกินร้อยละ 10 แต่ก็มีผลทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ ดังนั้นการตรวจพบปริมาณ Hb F สูงขึ้นแล้วจะสรุปว่าเป็นโรค  $\beta$ -thalassemia จึงต้องพิจารณาให้รอบคอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องทราบประวัติและ

อาการของผู้ป่วย และถ้ามีผลการตรวจเลือดของครอบครัวประกอบด้วย จะช่วยให้การวินิจฉัยมีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

ในการรายงานผล Hb F ควรมีการทดสอบยืนยันด้วยวิธีการอื่น เช่น การย้อม Hb F cell ด้วยวิธี acid elution ถือเป็น การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการก่อนการรายงานผลอีกชั้นหนึ่ง เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่อง

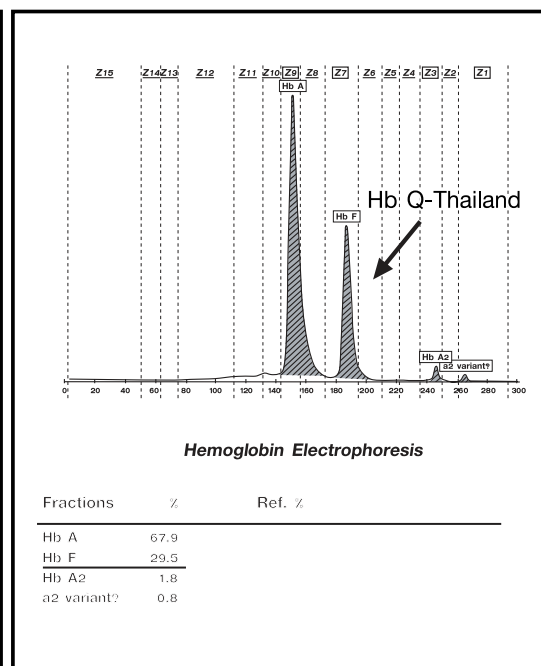
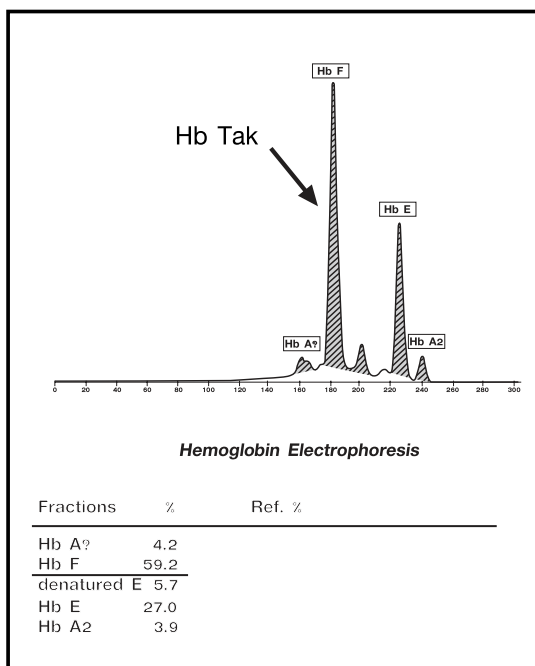
อัตโนมัติบางหลักการจะแสดงผลฮีโมโกลบินผิดปกติบางชนิดในตำแหน่งเดียวกับ Hb F เช่น Hb Hope<sup>(54)</sup> จะปรากฏอยู่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LPLC ในขณะที่ Hb Tak<sup>(55)</sup> หรือ Hb Q-Thailand<sup>(56)</sup> จะปรากฏอยู่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CE ดังแสดงใน **รูปที่ 3 และ 4**



รูปที่ 3 Chromatogram จากเครื่อง LPLC แสดงผลการตรวจ Hb Hope ซึ่งปรากฏอยู่ในตำแหน่งเดียวกับ Hb F แต่ผลการตรวจดีเอ็นเอ พบว่าเป็น Hb Hope

(A)

(B)



รูปที่ 4 Electrophoregram จากเครื่อง CE แสดงผลการตรวจ Hb Tak (A) และ Hb Q-Thailand (B) ซึ่งปรากฏอยู่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F แต่ผลการตรวจดีเอ็นเอพบว่าเป็น Hb Tak และ Hb Q-Thailand ตามลำดับ

**11. EA Bart's, EE Bart's, EFA Bart's, EF Bart's, CS EA Bart's, CS EE Bart's, CS EFA Bart's และ CS EF Bart's** ทั้งหมดนี้จัดเป็นกลุ่มโรคธาลัสซีเมียที่มีฟีโนไทป์และจีโนไทป์ซับซ้อน ซึ่งมีความผิดปกติร่วมระหว่าง  $\alpha$ -thalassemia และ  $\beta$ -thalassemia ชนิด Hb E<sup>(57-60)</sup> เนื่องจากสาย  $\alpha$ -globin มีปริมาณน้อยลงและสาย  $\alpha$ -globin จะจับกับสาย  $\beta$ -globin ปกติได้มากกว่าสาย  $\beta^E$ -globin จึงทำให้มีสาย  $\beta$ -globin ปกติเหลืออยู่น้อย ทำให้ตรวจไม่พบ Hb H แต่จะตรวจพบเฉพาะ Hb Bart's ซึ่งบ่งบอกถึงการมีโรค  $\alpha$ -thalassemia ร่วมด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าในตัวอย่างที่มีทั้ง Hb E และ Hb A จะตรวจพบปริมาณของ Hb E ลดลงด้วยเสมอ โดยจะพบปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 20

การแปลผลการตรวจของผู้ป่วยกลุ่มนี้ให้ถูกต้องตามจีโนไทป์ โดยเฉพาะในกรณีที่สูงสงสัยว่าเป็นคู่เสี่ยง จำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอและศึกษาครอบครัวเพิ่มเติม โดยตรวจทั้งยีน  $\alpha$ -thalassemia และ  $\beta$ -thalassemia<sup>(61, 62)</sup> จึงจะสามารถสรุปการ

ตารางที่ 1

สรุปการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินจากการวิเคราะห์ของเครื่องอัตโนมัติ ร่วมกับผลการตรวจคัดกรอง และพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง ในตัวอย่างเลือดของ คนปกติ พาหะ และผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดต่าง ๆ (ดัดแปลงและเพิ่มเติมข้อมูลจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 65 และ 66)

แปลผลเพื่อให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ของครอบครัวผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง

โดยสรุป การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย **ไม่ควร**แปลผลโดยตรงจากผลการวิเคราะห์ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ควรพิจารณาข้อมูลอื่นประกอบการแปลผล<sup>(63, 64)</sup> ดังนี้

1. อายุของผู้ที่เป็นเจ้าของตัวอย่างเลือด
2. ประวัติการรับเลือดหรือประวัติการรักษา
3. อาการทางคลินิก
4. ผลการตรวจคัดกรอง และพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง

ทั้งนี้ การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน จากการวิเคราะห์ของเครื่องอัตโนมัติ ร่วมกับผลการตรวจคัดกรอง และพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง ในตัวอย่างเลือดของคนปกติ พาหะ และผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดต่าง ๆ สรุปไว้ในตารางที่ 1<sup>(65, 66)</sup>

| ลำดับ | ผลการตรวจ Hb typing   | การแปลผล  | ผลการตรวจคัดกรอง     |          |                |                | ชนิดของธาลัสซีเมีย  |
|-------|---|---|----------------------|----------|----------------|----------------|---|
|       |   |   | OF                   | DCIP     | MCV (fL)       | MCH (pg)       |   |
| 1.    | A <sub>2</sub> A, Hb A <sub>2</sub> < 4%                                      | Normal or non clinically significant thalassemia  | negative             | negative | ≥ 80           | ≥ 27           | พาหะ $\alpha$ -thalassemia 2  |
| 2.    | A <sub>2</sub> A, Hb A <sub>2</sub> < 4%                                      | Normal Hb typing, not rule out $\alpha$ -thalassemia  | positive             | negative | < 80           | < 27           | พาหะ $\alpha$ -thalassemia 1<br>พาหะ $\alpha$ -thalassemia 2 หรือ<br>homozygous $\alpha$ -thalassemia 2 |
| 3.    | A <sub>2</sub> A, Hb A <sub>2</sub> 4-8%                                      | $\beta$ -thalassemia trait with or without $\alpha$ -thalassemia  | positive             | negative | < 80           | < 27           | $\beta$ -thalassemia trait with or without $\alpha$ -thalassemia  |
| 4.    | EA, Hb E ≥ 25%  | Hb E trait  | negative or positive | positive | < 80 or normal | < 27 or normal | Hb E trait  |
| 5.    | EA, Hb E < 25%  | Hb E trait with or without $\alpha$ -thalassemia  | positive             | positive | < 80           | < 27           | Hb E trait with or without $\alpha$ -thalassemia  |
| 6.    | EE, Hb E ≥ 80%,<br>Hb F ≤ 5%  | homozygous Hb E with or without $\alpha$ -thalassemia   | positive             | positive | < 80           | < 27           | homozygous Hb E with or without $\alpha$ -thalassemia   |
| 7.    | EE/ EF, E > 75%<br>Hb F > 5%<br>กรณีไม่แน่ใจว่า EE หรือ EF เนื่องจาก Hb F สูง | suspected homozygous Hb E or $\beta$ -thalassemia/ Hb E with or without $\alpha$ -thalassemia<br>กรุณาดูอาการทางคลินิก หรือทำ Family Study ประกอบการแปลผล | positive             | positive | < 80           | < 27           | suspected homozygous Hb E<br>ไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย  |
|       |   |   |                      |          |                |                | suspected $\beta$ -thalassemia/ Hb E<br>มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย  |

| ลำดับ | ผลการตรวจ Hb typing  | การแปลผล   | ผลการตรวจคัดกรอง                 |                            |                      |                      | ชนิดของธาลัสซีเมีย  |
|-------|--|--|----------------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|---|
|       |  |  | OF                               | DCIP                       | MCV(fL)              | MCH(pg)              |   |
| 8.    | CS A <sub>2</sub> A  | suspected Hb Constant Spring   | negative<br>or<br>positive       | negative                   | < 80<br>or<br>normal | < 27<br>or<br>normal | Hb Constant Spring trait  |
| 9.    | CS A <sub>2</sub> A Bart's                                 | suspected homozygous Hb Constant Spring  | positive                         | negative                   | < 80                 | < 27                 | homozygous Hb Constant Spring   |
| 10.   | A <sub>2</sub> A H หรือ<br>A <sub>2</sub> A Bart's H       | Hb H disease<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/<br>$\alpha$ -thalassemia 2)   | positive                         | negative<br>or<br>positive | < 80                 | < 27                 | Hb H disease<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha$ -thalassemia 2)   |
| 11.   | CS A <sub>2</sub> A H หรือ<br>CS A <sub>2</sub> A Bart's H | Hb H-CS disease<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/<br>Hb Constant Spring)   | positive                         | negative<br>or<br>positive | < 80                 | < 27                 | Hb H-CS disease<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ Hb Constant Spring)   |
| 12.   | A <sub>2</sub> F<br>ผู้ป่วยอายุมากกว่า 1 ปี                | Homozygous $\beta^0$ -thalassemia<br>with or without $\alpha$ -thalassemia   | positive                         | negative                   | < 80                 | < 27                 | homozygous $\beta^0$ -thalassemia<br>with or without $\alpha$ -thalassemia  |
| 13.   | EF,<br>Hb E 40-80%,<br>Hb F 20-60%                         | suspected $\beta^0$ -thalassemia/<br>Hb E or<br>HPFH/ Hb E with or without<br>$\alpha$ -thalassemia  | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | suspected $\beta^0$ -thalassemia/ Hb E with or<br>without $\alpha$ -thalassemia มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย  |
|       |  |  |                                  |                            |                      |                      | suspected HPFH/ Hb E with or without<br>$\alpha$ -thalassemia ไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย   |
| 14.   | A <sub>2</sub> FA, Hb F 10-30%                             | suspected $\beta^0$ -thalassemia/<br>$\beta^+$ -thalassemia or<br>$\beta^+$ -thalassemia/<br>$\beta^+$ -thalassemia or HPFH trait or<br>( $\delta\beta^0$ )-thalassemia trait with or<br>without $\alpha$ -thalassemia | positive                         | negative                   | < 80                 | < 27                 | suspected $\beta^0$ -thalassemia/ $\beta^+$ -thalassemia<br>or $\beta^+$ -thalassemia/ $\beta^+$ -thalassemia with or<br>without $\alpha$ -thalassemia มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย         |
|       |  |  |                                  |                            |                      |                      | suspected HPFH trait or<br>( $\delta\beta^0$ )-thalassemia trait with or without<br>$\alpha$ -thalassemia ไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย   |
| 15.   | EFA  | $\beta^+$ -thalassemia/ Hb E<br>with or without $\alpha$ -thalassemia  | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | $\beta^+$ -thalassemia/ Hb E<br>with or without $\alpha$ -thalassemia   |
| 16.   | EA Bart's  | EA Bart's disease  | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | Hb H disease with Hb E trait<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha$ -thalassemia 2 - $\beta^E/\beta^A$ )  |
| 17.   | EE Bart's or EF Bart's                                     | EF Bart's disease  | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | Hb H disease with $\beta^0$ -thalassemia/ Hb E or<br>Hb H disease with homozygous Hb E<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha$ -thalassemia 2 - $\beta^0/\beta^E$ or $\beta^E/\beta^E$ ) |
| 18.   | EFA Bart's   | EFA Bart's disease   | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | Hb H disease with $\beta^+$ -thalassemia/ Hb E<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha$ -thalassemia 2 - $\beta^+/\beta^E$ )  |
| 19.   | CS EA Bart's   | CS EA Bart's disease   | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | Hb H-CS with Hb E trait<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha^{CS}$ - $\beta^E/\beta^A$ )   |
| 20.   | CS EE Bart's หรือ<br>CS EF Bart's                          | CS EF Bart's disease   | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | Hb H-CS with $\beta^0$ -thalassemia/ Hb E or<br>Hb H-CS disease with homozygous Hb E<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha^{CS}$ - $\beta^0/\beta^E$ or $\beta^E/\beta^E$ )             |
| 21.   | CS EFA Bart's  | CS EFA Bart's disease  | positive                         | positive                   | < 80                 | < 27                 | Hb H-CS with $\beta^+$ -thalassemia/ Hb E<br>( $\alpha$ -thalassemia 1/ $\alpha^{CS}$ - $\beta^+/\beta^E$ )   |
| 22.   | rare abnormal Hb   | suspected abnormal Hb  | ขึ้นกับชนิดของ abnormal Hb ที่พบ |                            |                      |                      | suspected abnormal Hb   |

## เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. *Ann NY Acad Sci* 1980; 344: 352-63.
2. Wood WG. Hemoglobin analysis. In: Weatherall DJ. (ed.) *The Thalassemia*. New York: Churchill Livingstone, 1983; 31-53.
3. Wasi P. Laboratory methods for thalassemia and abnormal hemoglobin. Bangkok: The Division of Hematology, Department of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, 1985: 14-23.
4. มนต์วี อนุวัฒน์กุลชัย. ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ. ใน *วิลรัตน์ นุชประมุข, สุदारัตน์ มโนเชียวพินิจ, ทวีสุข กรวรรณล้วน (บรรณาธิการ)*. *อีเล็คโตรโฟรีซีสทางการแพทย์* 88. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2531: 80-114.
5. กุลนภา พู่เจริญ. การตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินโดยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า. ใน *กุลนภา พู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (บรรณาธิการ)*. *การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง*. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2546: 51-63.
6. International Committee for Standardization in Hematology. Recommendations for selected methods for quantitation of haemoglobin A<sub>2</sub>. *Br J Haematol* 1978; 38: 573-8.
7. Efremov DC, Huisman THJ, Bowman K, Wrightsone NR. Microchromatography of hemoglobin: a rapid method for determination of hemoglobin A<sub>2</sub>. *J Lab Clin Med* 1974; 83: 657-64.
8. Abraham EC, Reese A, Stallings M, Huisman THJ. Separation of human hemoglobin by DEAE cellulose chromatography using glycine KCN-NaCl developers. *Hemoglobin* 1977; 1: 27-44.
9. ณัฐยา แซ่อึ้ง, วุฒิชัย สุขสนิท, กรรณิการ์ ก้วหา, พิทยา ภาภิรมย์, สมัย ทาภา, กุลนภา พู่เจริญ. ค่าปกติของฮีโมโกลบินเอ 2 โดยวิธีดีอี-52-ไมโครคอลัมน์โครมาโตกราฟี. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2535; 4: 32-6.
10. ปราโมทย์ เตียวศิริ, พรรณี เซาห์เหนือ, ยุพา จีวิริยะวัฒน์ และคณะ. Simple determination of haemoglobin A<sub>2</sub> for detection of heterozygous  $\beta$ -thalassemia. *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่* 1977; 10: 17-24.
11. International Committee for Standardization in Hematology. Recommendation for fetal hemoglobin reference preparation and fetal hemoglobin determination by alkali denaturation method. *Br J Haematol* 1979; 42: 133-6.
12. Bain BJ. *Hemoglobinopathy diagnosis* 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.
13. Maniatis T. Molecular genetics and biosynthesis of hemoglobin. In: Bunn HF and Forget BG. *Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects*. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1986; 169-222.
14. Stamatoyannopoulos G, Grosfeld F. Hemoglobin switching. In Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter RM, Varmus H (eds.) *The molecular basis of blood diseases*. 3<sup>rd</sup> ed. London: W.B. Saunders Company, 2001; 135-82.
15. Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad Laboratories., USA). Instruction manual.
16. Primus Variant System (Primus Corporation., USA). Instruction manual.
17. ต๋อพงค์ สงวนเสริมศรี. *วิธีการตรวจรักษาและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงในเด็ก*. วัฒนาชัยการพิมพ์ กรุงเทพมหานคร, 2537.
18. Tatu T, Gategasem P, Hathirat P. Hemoglobin typing by high performance liquid chromatography. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28(2): 417-23.
19. Fucharoen S, Winichagoon P, Wisedpanichkij R, Sae-Ngow B, Sriphanich R, Oncoung W, et al. Prenatal and Postnatal diagnoses of thalassemias and hemoglobinopathies by

HPLC. Clin Chem 1998; 44: 740-8.

20. Sanguansermsri T, Thanarattanakorn P, Steger HF, Tongsong T, Chanprapaph P, Wanpirak C, Siriwatanapa P, Sirichotiyakul S, Flatz G. Prenatal diagnosis of beta-thalassemia major by high-performance liquid chromatography analysis of hemoglobins in fetal blood samples. Hemoglobin 2001; 25(1): 19-27.

21. Hb Gold Analyser (Drew Scientific Ltd., UK.). User's manual.

22. Sangkitpom S, Pung-amritt P, Sangkitpom SK, Sangnoi A, Tanphaichitr VS. The validation of automated liquid chromatography system for diagnosis of thalassemias and hemoglobinopathies. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2002; 33: 862-8.

23. Capillarys Hemoglobin(E) Ref.2007 (SEBIA, France). Sebia instructions.

24. Winichagoon P, Svasti S, Munkongdee T, Chaiya W, Boonmongkol P, Chantrakul N, Fucharoen S. Rapid diagnoses of thalassemias and other hemoglobinopathies by capillary electrophoresis system. Translational Research 2008; 152: 178-84.

25. Srivorakul H, Fucharoen G, Sae-Ung N, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Analysis of fetal blood using capillary electrophoresis system: a simple method for prenatal diagnosis of severe thalassemia diseases. Eur J Haematol 2009; 83(1): 57-65.

26. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364-72.

27. 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.

28. กุลนภา ฟูเจริญ, กันยารัตน์ แคนตะ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ, อุไรวรรณ ยิมประเสริฐ, แซ่ไซ ไพกะเพศ, และคณะ. ธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง OF test และ KCU-DCIP-Clear. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2542; 9: 111-8.

29. 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.

30. Fucharoen S, Winichagoon P, Thonglairoam V.  $\beta$ -thalassemia associated with  $\alpha$ -thalassemia in Thailand. Hemoglobin 1988; 12: 581-92.

31. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha0-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. Acta Haematol 2007; 117: 78-82.

32. Charoenkwan P, Wanpirak C, Thanarattanakorn P, Sekararithi R, Sae-Tung R, Sittipreechacham S, Sanguansermsri T. Hemoglobin E levels in double heterozygotes of hemoglobin E and SEA-type alpha-thalassemia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36(2): 467-70.

33. Sanchaisuriya K, Chirakul S, Srivorakun H, Fucharoen G, Fucharoen S, Changtrakul Y, et al. Effective screening for double heterozygosity of Hb E/ $\alpha^0$ -thalassemia. Ann Hematol 2008; 87: 911-4.

34. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. Ann Hematol 2003; 82: 612-6.

35. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee

- S, Yamsri S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya K, et al. Molecular and hematological profiles of hemoglobin EE disease with different forms of alpha-thalassemia. *Ann Hematol* 2006; 85: 450-4.
36. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Hb Pakse' [( $\alpha$ 2) codon 142 (TAA-TAT or Ter-Tyr)] in Thai patients with EABart's disease and Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 227-35.
37. Singsanan S, Fucharoen G, Savongsy O, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Molecular characterization and origins of Hb Constant Spring and Hb Pakse' in Southeast Asian populations. *Ann Hematol* 2007; 86: 665-9.
38. Pootrakul P, Winichagoon P, Fucharoen S, Pravatmuang P, Piankijagum A, Wasi P. Homozygous haemoglobin Constant Spring: a need for revision of concept. *Hum Genet.* 1981; 59(3): 250-5.
39. Fucharoen S, Winichagoon P, Pootrakul P, Piankijagum A, Wasi P. Differences between two types of HbH disease,  $\alpha$ -thalassemia1/ $\alpha$ -thalassemia2 and  $\alpha$ -thalassemia1/Hb Constant Spring. *Birth Defect* 1988; 23(5A): 309-15.
40. Wongchanchailert M, Laosombat V, Maipang M. Hemoglobin H disease in children. *J Med Assoc Thai* 1992; 75: 611-8.
41. Viprakasit V, Tanphaichitr VS, Pung-Amritt P, Petrarat S, Suwantol L, Fisher C, Higgs DR. Clinical phenotypes and molecular characterization of Hb H-Paksé disease. *Haematologica* 2002; 87(2): 117-25.
42. Charoenkwan P, Taweephon R, Sae-Tung R, Thanarattanakorn P, Sanguansersri T. Molecular and clinical features of Hb H disease in northern Thailand. *Hemoglobin* 2005; 29(2): 133-40.
43. Laosombat V, Viprakasit V, Chotsampancharoen T, Wongchanchailert M, Khodchawan S, Chinchang W, Sattayasevana B. Clinical features and molecular analysis in Thai patients with Hb H disease. *Ann Hematol* 2009; 88(12): 1185-92.
44. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009: 26-34.
45. Winichagoon P, Adirojnanon P, Wasi P. Levels of haemoglobin H and proportions of red cells with inclusion bodies in the two types of haemoglobin H disease. *Br J Haematol* 1980; 46: 507-8.
46. Sabath DE, Cross ST, Mamiya LY. An improved method for detecting red cell with Hb H inclusions that does not require glass capillary tubes. *Clin Lab Hematol* 2003; 25: 87-91.
47. Fucharoen S, Winichagoon P, Pootrakul P, Piankijagum A, Wasi P. Variable severity of Southeast Asian  $\beta^0$ -thalassemia/Hb E disease. *Birth Defects* 1988; 23: 241-8.
48. Nuntakarn L, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Jetsrisuparb A, Wiangnon S. Molecular, hematological and clinical aspects of thalassemia major and thalassemia intermedia associated with Hb E-beta-thalassemia in north-east Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2009; 42: 32-5.
49. Fucharoen S, Panyasai S, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Compound heterozygote state for  $G\gamma^A\gamma(\delta\beta)^0$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Am J Hematol* 2005; 80: 119-23.
50. Fucharoen S, Pengjam Y, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular and hematological characterization of HPFH-6/Indian deletion-inversion  $G\gamma(A\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia and  $G\gamma(A\gamma\delta\beta)^0$ /Hb E in Thai patients. *Am J Hematol* 2002; 71: 109-13.
51. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Surapot S. Molecular characterization of thalassemia intermedia associated with HPFH-6/beta-thalassemia

and HPFH-6/Hb E in Thai patients. *Acta Haematol* 2002; 108: 157-61.

52. Panyasai S, Fucharoen S, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular basis and hematologic characterization of  $\delta\beta$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin in Thailand. *Haematologica* 2004; 87: 777-81.

53. Wood WG. Increased Hb F in adult life. *Bailliere's Clin Haematol* 1993; 6: 177-213.

54. Chunpanich S, Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Kam-itsara K. Molecular and hematological characterization of hemoglobin Hope / hemoglobin E and hemoglobin Hope / alpha-thalassemia 2 in Thai patients. *Lab Hematol* 2004; 10: 215-20.

55. Fucharoen S, Fucharoen G, Sae-ung N, Sanchaisuriya K, Fukumaki Y. Molecular and hematological characterization of Hb Tak and Hb Pyrgos in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28(suppl 3): 110-4.

56. Sanchaisuriya K, Chunpanich S, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y. Association of Hb Q-Thailand with homozygous Hb E and heterozygous Hb Constant Spring in pregnancy. *Eur J Haematol* 2005; 74: 221-7.

57. Wasi P, Sookanek M, Pootrakul S, Na-Nakorn S, Suingdumrong A. Haemoglobin E and alpha-Thalassaemia. *Br Med J* 1967; 4: 29-32.

58. Fucharoen S, Winichagoon P, Thonglairoam V, Piankijagum A, Wasi P. EF Bart's disease: Interaction of the abnormal  $\alpha$ - and  $\beta$ -globin genes. *Eur J Haematol* 1988; 40: 75-8.

59. Thonglairoam V, Winichagoon P, Fucharoen S, Wasi P. The molecular basis of AE Bart's disease. *Hemoglobin* 1989; 13: 117-24.

60. Fucharoen S, Fucharoen G, Sae-ung N, Sanchaisuriya K. Thalassemia intermedia

associated with the Hb Constant Spring EE Bart's disease in pregnancy: a molecular and hematological analysis. *Blood Cells Mol Dis* 2007; 39(2): 195-8.

61. Siriratmanawong N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Simultaneous PCR detection of beta-thalassemia and alpha-thalassemia 1 (SEA type) in prenatal diagnosis of complex thalassemia syndrome. *Clin Biochem* 2001; 34: 377-80.

62. Boonsa S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Wiangnon S, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. The diverse molecular basis and hematological features of Hb H and AEBart's diseases in northeast Thailand. *Acta Haematol* 2004; 111: 149-54.

63. กุลนภา พู่เจริญ, สุพรรณ พู่เจริญ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2551; 20: 165-77.

64. กุลนภา พู่เจริญ. การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2552; 21: 212-25.

65. คณะกรรมการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงานการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติทางห้องปฏิบัติการ. คู่มือการปฏิบัติงานการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติทางห้องปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 1 นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2552.

66. กุลนภา พู่เจริญ. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. *ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 2552: 1-209.

---

**การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินชนิดปกติ  
ทางห้องปฏิบัติการ**

---

## บทที่ 2

# การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินผิดปกติ ทางห้องปฏิบัติการ

นับตั้งแต่มีการค้นพบฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดแรก คือ Hb S ที่ทำให้เกิดโรค sickle cell anemia ในปี ค.ศ. 1949 มีการค้นพบฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่าง ๆ เพิ่มขึ้นอีกมากมาย มีการตั้งชื่อฮีโมโกลบินผิดปกติเรียงตามลำดับตัวอักษร เช่น Hb C, Hb D, Hb E, Hb G และ Hb J หรือตั้งตามชื่อของเมืองที่พบผู้ป่วยครั้งแรก เช่น Hb Constant Spring (เมือง Constant Spring ในประเทศจามาอิก้า), Hb Queens (ในสหรัฐอเมริกา), Hb Beijing (ประเทศจีน), Hb Tak (ประเทศไทย) หรือ Hb Q-Thailand (ประเทศไทย) เป็นต้น

ปัจจุบันมีรายงานการตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติมากกว่า 850 ชนิด<sup>(1, 2)</sup> แยกเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติของสายโกลบินชนิดต่าง ๆ ทั้งชนิด  $\gamma$ -globin,  $\delta$ -globin,  $\beta$ -globin และ  $\alpha$ -globin แต่ที่พบได้บ่อยคือชนิดที่เกิดจากความผิดปกติของสาย  $\beta$ -globin และ  $\alpha$ -globin เนื่องจากมีปริมาณการตรวจพบในเลือดมากกว่า ส่วนชนิดที่เกิดจากสาย  $\gamma$ -globin จะตรวจพบได้เฉพาะในระยะทารกในครรภ์หรือแรกคลอดเท่านั้น เนื่องจากเป็นระยะที่ยังมีการแสดงออกของ  $\gamma$ -globin gene อยู่ จึงทำให้เกิดความผิดปกติของ Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ) เมื่อเติบโตขึ้นมีการแสดงออกของยีน  $\gamma$ -globin น้อยลง ฮีโมโกลบินผิดปกตินี้จะหายไปเนื่องจากสาย  $\gamma$ -globin ถูกทดแทนด้วยสาย  $\beta$ -globin ปกติ และ Hb F ถูกแทนที่ด้วย Hb A ( $\alpha_2\beta_2$ ) ทำให้ตรวจไม่พบฮีโมโกลบินผิดปกติอีกต่อไป ส่วนความผิดปกติบนสาย  $\delta$ -globin นั้น ทำให้เกิดความผิดปกติต่อ Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) ซึ่งมีปริมาณน้อยในเลือดอยู่แล้ว (ร้อยละ 2-3) จึงมักถูกมองข้ามและไม่ให้ความสำคัญมากนัก จึงมีรายงานการตรวจพบน้อยกว่าความผิดปกติบนสาย  $\alpha$ - และ  $\beta$ -globin<sup>(3)</sup>

ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าฮีโมโกลบินผิดปกติที่ตรวจพบในผู้ป่วย เกิดจากความผิดปกติของยีนใด หากพบฮีโมโกลบินผิดปกติเพียงชนิดเดียวในผู้ใหญ่และมีปริมาณค่อนข้างสูงถึงร้อยละ 50 ของฮีโมโกลบินทั้งหมดในเลือด มักหมายถึงภาวะความผิดปกติที่เกิดจากสาย  $\beta$ -globin และอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานหน้าที่ของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง เนื่องจากคนปกติมี  $\beta$ -globin gene เพียง 2 ยีน

ส่วนความผิดปกติของสาย  $\alpha$ -globin นั้น มักพบประมาณร้อยละ 25 ของฮีโมโกลบินทั้งหมดในเลือดและส่งผลกระทบต่อการทำงานที่น้อยกว่าความผิดปกติของสาย  $\beta$ -globin เนื่องจากในคนปกติจะมียีน  $\alpha$ -globin รวมทั้งสิ้น 4 ยีน คือ  $\alpha 2$ - และ  $\alpha 1$ -globin gene อย่างละ 2 ชุด และเนื่องจากยีน  $\alpha 2$ -globin แสดงออกได้มากกว่ายีน  $\alpha 1$ -globin ปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากความผิดปกติของยีน  $\alpha 2$ -globin จึงพบได้มากกว่าความผิดปกติที่เกิดจากยีน  $\alpha 1$ -globin ความรู้พื้นฐานเหล่านี้จะช่วยให้การศึกษาฮีโมโกลบินผิดปกติในระดับโมเลกุลทำได้ง่ายและตรงเป้าหมายขึ้น

นอกจากจะจำแนกฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ตามชนิดของสายโกลบินที่ผิดปกติเป็น  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - หรือ  $\delta$ -globin chain variant แล้ว อาจจำแนกชนิดตามลักษณะการก่อให้เกิดโรคได้เป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้<sup>(4)</sup>

1. กลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติที่ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพที่สำคัญ เช่น Hb S ในกลุ่มประชากรแอฟริกา
2. กลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติที่ไม่ก่อให้เกิดโรคโดยตัวเอง แต่เมื่อพบร่วมกับธาลัสซีเมียหรือฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่น อาจก่อให้เกิดโรคได้ เช่น Hb E,

Hb C, Hb O-Arab, Hb D-Punjab เป็นต้น

3. กลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติที่ก่อให้เกิดความผิดปกติทางโลหิตวิทยาต่างๆ เช่น chronic hemolytic anemia, high oxygen affinity ที่นำไปสู่ภาวะ polycythemia เช่น Hb Tak หรือ low oxygen affinity ที่นำไปสู่ภาวะ cyanosis เช่น Hb M

4. กลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติที่ไม่แสดงอาการใดๆ และเป็น polymorphism ที่ตรวจพบได้ในประชากรทั่วไป เช่น Hb Pyrgos, Hb Hope, Hb Hekinan เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีการจำแนกฮีโมโกลบินผิดปกติออกเป็นกลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติที่เป็นธาลัสซีเมีย (thalassemic hemoglobinopathy)<sup>(5)</sup> กล่าวคือนอกจากสังเคราะห์เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติออกมาแล้ว ปริมาณที่สังเคราะห์ยังน้อยกว่าปกติเหมือนกับ

ที่พบในธาลัสซีเมียด้วย ในกลุ่มนี้ที่พบได้บ่อยในคนไทย ได้แก่ Hb E, Hb Malay, Hb Constant Spring, Hb Pakse', Hb Q-Thailand และ Hb Quang Sze เป็นต้น อีกกลุ่มหนึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่ไม่ได้เป็นธาลัสซีเมีย กลุ่มนี้มีหลายชนิดที่พบในคนไทย เช่น Hb Hope, Hb Korle-Bu, Hb Pyrgos และ Hb Hekinan เป็นต้น การที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติหลายชนิด และมีทั้งที่ก่อให้เกิดและไม่ก่อให้เกิดอาการทางคลินิก การวินิจฉัยแยกชนิดของฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ จึงมีความสำคัญต่อการให้การดูแลรักษาและให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมแก่ผู้ป่วย

สำหรับประเทศไทยมีรายงานการตรวจฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ มากกว่า 30 ชนิด มีทั้งชนิดที่ไม่ก่อให้เกิดโรค และชนิดที่จัดเป็นธาลัสซีเมีย ดังแสดงในตารางที่ 1<sup>(6)</sup>

ตารางที่ 1 ฮีโมโกลบินผิดปกติที่มีรายงานตรวจพบในประชากรไทย (ดัดแปลงและเพิ่มเติมข้อมูลจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6)

| Hemoglobin                  | Mutation                   | Base Change | Laboratory Findings   |
|-----------------------------|----------------------------|-------------|-----------------------|
| Hb Anantharaj (Hb J Wuming) | $\alpha$ I Lys - Gln       | AAG - CAG   | Normal                |
| Hb Siam (Hb Ottawa)         | $\alpha$ 15 Gly - Arg      | GGT - CGT   | Normal                |
| Hb Hekinan                  | $\alpha$ 27 Glu - Asp      | GAG - GAT   | Normal                |
| Hb Queens (Hb Ogi)          | $\alpha$ 34 Leu - Arg      | CIG - CCG   | Normal                |
| Hb Thailand                 | $\alpha$ 56 Lys - Thr      | AAG - ACG   | Normal                |
| Hb J Buda                   | $\alpha$ 61 Lys - Asn      | AAG - AAC   | Normal                |
| Hb Q Thailand               | $\alpha$ 74 Asp - His      | GAC - CAC   | $\alpha$ -thalassemia |
| Hb Suan Dok                 | $\alpha$ 109 Leu - Arg     | CIG - CCG   | $\alpha$ -thalassemia |
| Hb Quong Sze                | $\alpha$ 125 Leu - Pro     | CIG - CCG   | $\alpha$ -thalassemia |
| Hb Pak Num Po               | $\alpha$ 131/132 insertion | + T         | $\alpha$ -thalassemia |
| Hb Constant Spring          | $\alpha$ C.t. / elongation | IAA - CAA   | $\alpha$ -thalassemia |
| Hb Pakse'                   | $\alpha$ C.t. / elongation | TAA - TAT   | $\alpha$ -thalassemia |
| Hb C                        | $\beta$ 6 Glu - Lys        | GAG - AAG   | Target cells          |
| Hb S                        | $\beta$ 6 Glu - Val        | GAG - GTG   | Sickle cell anemia    |
| Hb G-Makassar               | $\beta$ 6 Glu - Ala        | GAG - GCG   | Normal                |

| Hemoglobin                    | Mutation                        | Base Change | Laboratory Findings                           |
|-------------------------------|---------------------------------|-------------|---|
| Hb Siriraj                    | $\beta$ 7 Glu - Lys             | GAG - AAG   | Normal  |
| Hb Malay                      | $\beta$ 19 Asn - Ser            | AAC - AGC   | $\beta$ -thalassemia                          |
| Hb G Couthatta                | $\beta$ 22 Glu - Ala            | GAA - GCA   | Normal  |
| Hb E                          | $\beta$ 26 Glu - Lys            | GAG - AAG   | $\beta$ -thalassemia                          |
| Hb J Bangkok                  | $\beta$ 56 Gly - Asp            | GGC - GAC   | Normal  |
| Hb Korle-Bu                   | $\beta$ 73 Asp - Asn            | GAT - AAT   | Normal  |
| Hb Pyrgos                     | $\beta$ 83 Gly - Asp            | GGC - GAC   | Normal  |
| Hb New York                   | $\beta$ 113 Val - Glu           | GIG - GAG   | Normal  |
| Hb D Punjab                   | $\beta$ 121 Glu - Gln           | GAA - CAA   | Normal  |
| Hb Khon Kaen                  | $\beta$ 123-125 (-8 bp)         | - ACCCCACC  | $\beta$ -thalassemia                          |
| Hb Dhonburi                   | $\beta$ 126 Val - Gly           | GIG - GGG   | $\beta$ -thalassemia                          |
| Hb Cook                       | $\beta$ 132 Lys - Thr           | AAA - ACA   | Unstable                                      |
| Hb Hope                       | $\beta$ 136 Gly - Asp           | GGT - GAT   | Normal  |
| Hb Kodaira II                 | $\beta$ 146 His - Gln           | CAC - CAG   | Inc. O <sub>2</sub> affinity /<br>polycytemia |
| Hb Tak                        | $\beta$ C.t. / elongation       | + AC        | Inc. O <sub>2</sub> affinity /<br>polycytemia |
| Hb Lepore Washington - Boston | $\delta$ 87- $\beta$ 116 fusion | Deletion    | $\delta\beta$ -thalassemia                    |
| Hb Lepore-Hollandia           | $\delta$ 22- $\beta$ 50 fusion  | Deletion    | $\delta\beta$ -thalassemia                    |

## ฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยใน ประชากรไทย

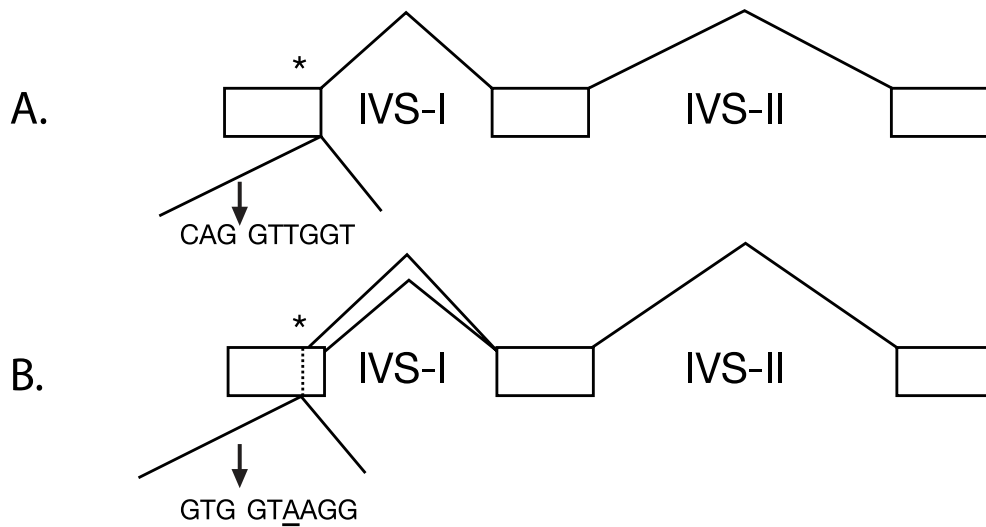
ฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประชากรไทยมี 2 ชนิด คือ Hb E และ Hb CS

### 1. Hb E

Hb E เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบทั่วประเทศไทย และพบมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ Hb E เกิดจากความผิดปกติที่ codon ตำแหน่งที่ 26 บน exon 1 ของ  $\beta$ -globin gene มีการเปลี่ยนแปลงของเบสจาก G เป็น A ทำให้รหัสของเบสเปลี่ยนจาก GAG เป็น AAG หรือ codon 26 (G-A) ทำให้เกิดการ splicing ผิดปกติบน exon 1 ตรงตำแหน่ง codon ที่ 25 ร่วมกับการ splicing ที่เกิด

ตามปกติ และทำให้การสร้างสายเบตต่ำลดลงเหลือประมาณร้อยละ 70 ของการสร้างสายเบตปกติ เกิดเป็น  $\beta^+$ -thalassemia การเปลี่ยนแปลงของเบสใน codon ตำแหน่งที่ 26 ทำให้ mRNA มีโครงสร้างต่างไปจากปกติ และสร้างสายเบตที่ผิดปกติ เกิดเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติ คือ Hb E ซึ่งมีกรดอะมิโนในตำแหน่งที่ 26 ของสายเบตเปลี่ยนจาก glutamic acid เป็น lysine (รูปที่ 1)

เนื่องจาก Hb E ก่อให้เกิดความผิดปกติเหมือน  $\beta^+$ -thalassemia ภาวะที่เป็น heterozygote และ homozygote ของ Hb E จึงไม่ทำให้เกิดโรค แต่เมื่อมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกับ  $\beta$ -thalassemia จะทำให้เกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้<sup>(7, 8)</sup>



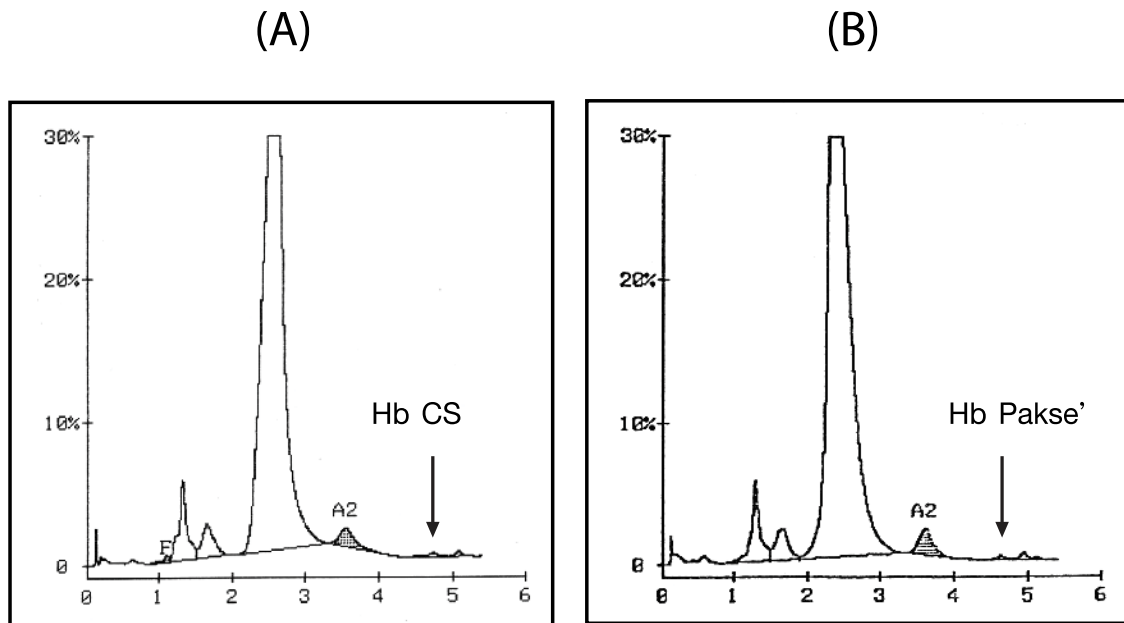
รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งของ Intron (IVS I และ IVS II) ที่ถูกตัดออกไปโดยกระบวนการ RNA splicing ใน  $\beta^E$  เปรียบเทียบระหว่าง  $\beta^E$  ที่มี normal splicing (A) กับ  $\beta^E$  ที่มี abnormal splicing ที่ตำแหน่ง codon 25 ซึ่งไม่สามารถสร้าง  $\beta^E$ -globin ได้ (B) โดยเครื่องหมาย \* แสดงตำแหน่ง codon 26, GAG-->AAG

## 2. Hb Constant Spring (Hb CS)

Hb CS เป็นที่รู้จักกันดีในคนไทย เนื่องจากเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุสำคัญของ  $\alpha$ -thalassemia เกิดจากความผิดปกติที่ตำแหน่ง termination codon ของยีน  $\alpha 2$ -globin (TAA-CAA) เป็นผลให้มีการสังเคราะห์สาย  $\alpha$ -globin ที่ยาวผิดปกติ ประกอบด้วยกรดอะมิโนถึง 172 ตัว จึงไม่เสถียรและพบได้น้อยในเลือด ต่อมามีการค้นพบมิวเตชัน ณ ตำแหน่งเดียวกันอีกชนิดหนึ่ง คือ  $\alpha 2$ -globin (TAA-TAT) ก่อให้เกิดการสังเคราะห์สายโกลบินที่ยาวผิดปกติเช่นเดียวกันแต่เรียกชื่อว่า Hb Pakse' เนื่องจากค้นพบครั้งแรกในคนลาว แต่ต่อมาพบว่าพบได้บ่อยทั้งในคนไทยและกัมพูชาด้วย Hb Pakse' ไม่สามารถแยกออกจาก Hb CS ได้โดยการตรวจวิเคราะห์ Hb typing ดังแสดงในรูปที่ 2 ต้องใช้การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเท่านั้น<sup>(9, 10)</sup> จากการศึกษาลักษณะ DNA Polymorphism ที่สัมพันธ์กับยีนฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดนี้ในคนไทยลาว และกัมพูชา ทำให้พบว่า Hb CS มีหลายแหล่ง

กำเนิด ในประชากรกลุ่มนี้ ส่วน Hb Pakse' พบเป็นแหล่งกำเนิดเดียวกันทั้งหมด จึงมีความชุกน้อยกว่าเมื่อเทียบกับ Hb CS<sup>(11, 12)</sup> พาหะฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดนี้ไม่แสดงอาการใดๆ แต่หากพบร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 จะทำให้เกิดโรค Hb H, EA Bart's และ EF Bart's ที่มีอาการรุนแรงและมีค่าทางโลหิตวิทยาคล้ายคลึงกัน<sup>(13)</sup> จึงจัดเป็น non deletional  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ

การตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดนี้เมื่อทำ Hb typing จำเป็นต้องรายงานทุกครั้ง แต่เนื่องจากการตรวจ Hb typing ในงานประจำวัน ไม่ว่าจะใช้วิธี HPLC, LPLC หรือ CE ไม่สามารถแยก Hb CS และ Hb Pakse' ออกจากกันได้ เมื่อตรวจพบจึงแนะนำให้รายงานเป็น Hb CS เนื่องจากพบได้บ่อยกว่า Hb Pakse' ข้อควรระวังทางห้องปฏิบัติการ สำหรับฮีโมโกลบินผิดปกติ 2 ชนิดนี้คือ ความไม่เสถียร และการมีปริมาณน้อย หากเก็บเลือดไว้นานเกินไปอาจตรวจไม่พบ ทำให้การแปลผลผิดพลาดได้



รูปที่ 2 Chromatogram ของ Hb CS (A) และ Hb Pakse' (B) เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC

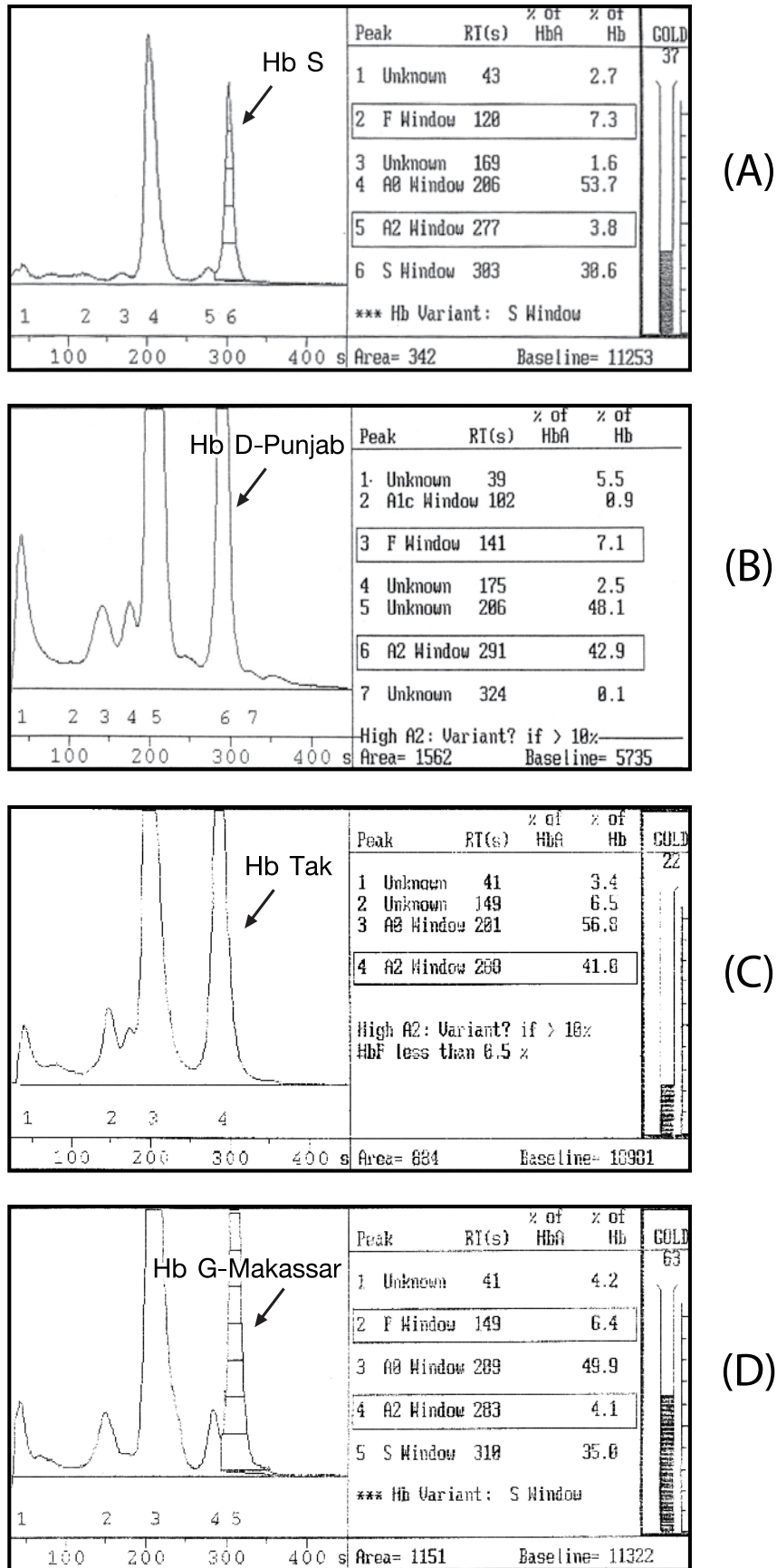
## ฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย

### 1. กลุ่มฮีโมโกลบินผิดปกติที่อยู่ในตำแหน่งใกล้เคียงกับ Hb S โดยหลักการ HPLC และ LPLC

#### 1.1 กลุ่ม $\beta$ -chain variant (Hb D-Punjab, Hb Tak, Hb Korle-Bu และ Hb G-Makassar)

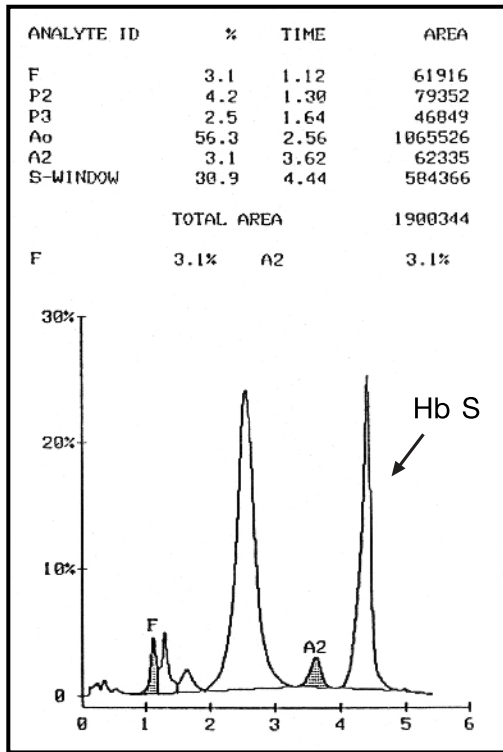
ฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มนี้ ได้แก่ Hb S, Hb D-Punjab, Hb Tak, Hb Korle-Bu และ Hb G-Makassar เป็น  $\beta$ -chain variant ทั้งหมดเกิดจากความผิดปกติที่แตกต่างกัน คือ Hb S [ $\beta 6(A3)$  Glu-Val], Hb D-Punjab [ $\beta 121(\text{GH}4)$  Glu-Gln], Hb Tak [ $\beta 147(\text{Term-thr})$ ], Hb Korle-Bu [ $\beta 73(\text{E}17)$  Asp-Asn] และ Hb G-Makassar [ $\beta 6(\text{A}3)$  Glu-Ala] แต่ที่นำมารวมไว้ในกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากมีลักษณะผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการคล้ายกันมาก หากตรวจด้วยเครื่อง LPLC อาจถูกแยกออกมาที่ตำแหน่ง S-window หรือ  $A_2$  window ก็ได้ ดังแสดงในรูปที่ 3 ส่วนใน HPLC ก็มี retention time ใกล้เคียงกันมาก จึงไม่สามารถแยกชนิดได้ ฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ อาจ

ถูกแยกออกมาที่ตำแหน่ง S-window หรือ D-window ดังแสดงในรูปที่ 4 โครมาโตแกรมจะแสดง abnormal peak เพียง 1 peak เนื่องจากเป็น  $\beta$ -chain variant จึงพบปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติอยู่ประมาณร้อยละ 35-45 และมีผลการตรวจทางโลหิตวิทยาอื่นๆ อยู่ในเกณฑ์ปกติ หากต้องการวินิจฉัยแยกชนิด อาจทำการตรวจเบื้องต้นด้วยวิธี sickling test ถ้ามี fresh specimen ซึ่งใช้ตรวจหา Hb S หากได้ผลลบจึงตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอต่อไป อาจตรวจหา Hb S และ Hb D-Punjab mutations ด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ Mst II<sup>(14)</sup> และ EcoR I<sup>(15)</sup> ตามลำดับ และสามารถใช้นิเทศ multiplex PCR ในการตรวจจำแนกฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้่ออกจากกันในงานประจำวัน<sup>(16)</sup> ซึ่งทำได้ง่ายกว่า จากการศึกษพบว่า ในคนไทยทั่วไปพบเป็น Hb Tak และ Hb D-Punjab ได้บ่อยกว่า Hb S สำหรับ Hb G-Makassar มีรายงานครั้งแรกในประเทศอินโดนีเซีย ต่อมาพบว่า มีรายงานทางภาคใต้ของประเทศไทย<sup>(17, 18)</sup>

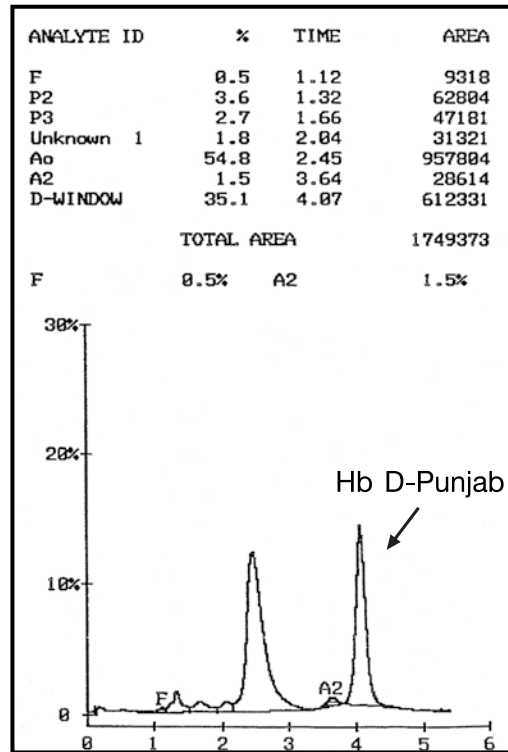


รูปที่ 3 Chromatogram ของ Hb S (A), Hb D-Punjab (B), Hb Tak (C) และ Hb G-Makassar (D) เมื่อแยกด้วยวิธี LPLC

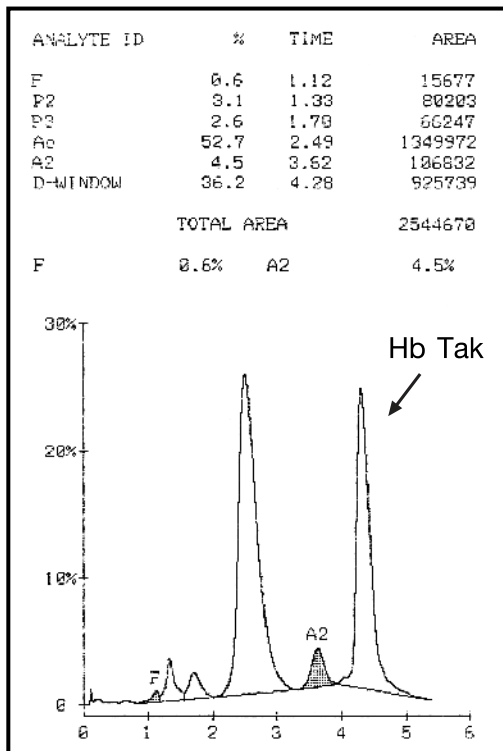
(A)



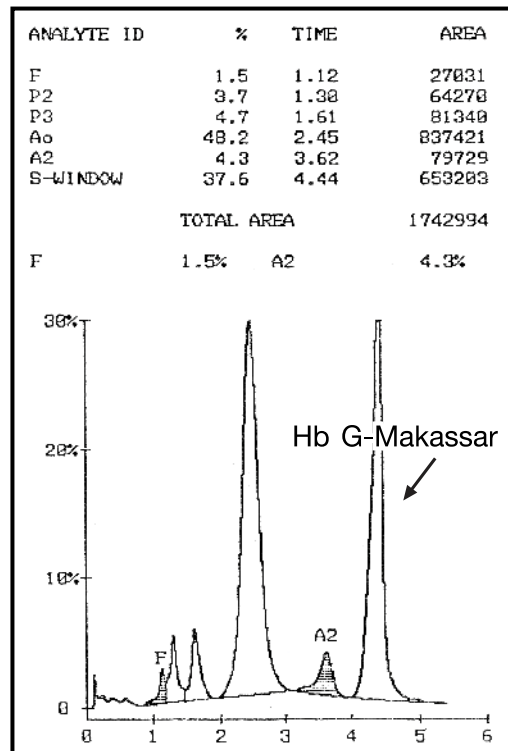
(B)



(C)



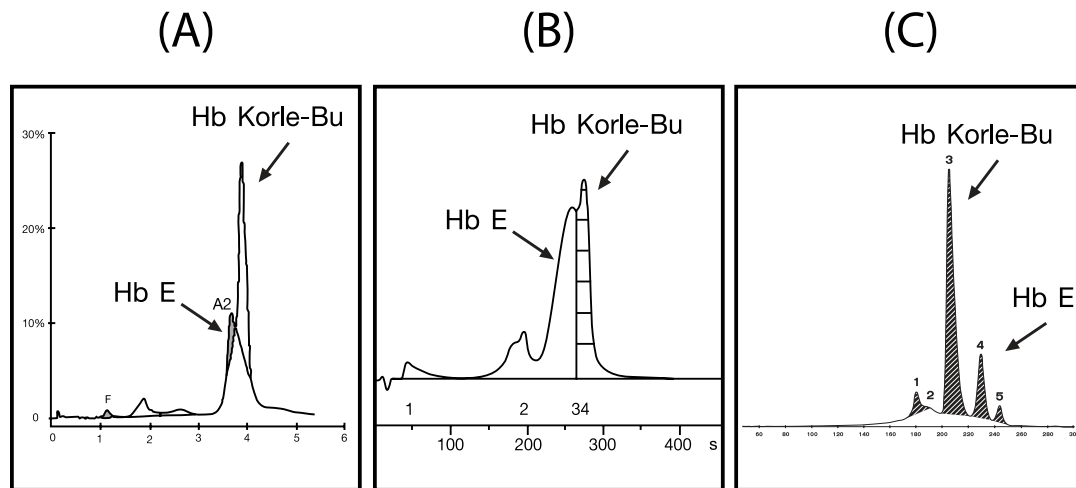
(D)



รูปที่ 4 Chromatogram ของ Hb S (A), Hb D-Punjab (B), Hb Tak (C) และ Hb G-Makassar (D) เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC

ส่วน Hb Korle-Bu เป็น  $\beta$ -chain variant อีกชนิดหนึ่ง พบครั้งแรกในแถบแอฟริกา แต่มีรายงานตรวจพบในคนไทยจากจังหวัดนครสวรรค์ และสุพรรณบุรี โดยพบร่วมกับพาหะ Hb E,  $\alpha$ -thalassemia 2 และ  $\alpha$ -thalassemia 1 ฮีโมโกลบินชนิดนี้แยกได้ไม่ชัดเจนจาก Hb A<sub>2</sub> และ Hb E

เมื่อใช้เทคนิค HPLC หรือ LPLC แต่เมื่อใช้เทคนิค CE จะสามารถแยก Hb Korle-Bu, Hb E และ Hb A<sub>2</sub> ออกจากกันได้อย่างชัดเจน (รูปที่ 5) อย่างไรก็ตามยังต้องการการตรวจยืนยันด้วยวิธี PCR เช่นกัน<sup>(19, 20)</sup>

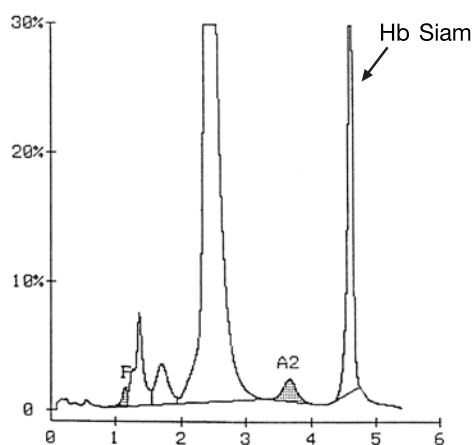


รูปที่ 5 Chromatogram ของ Hb Korle-Bu ที่พบร่วมกับ Hb E เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A), LPLC (B), และ CE (C)

| ANALYTE ID | %    | TIME | AREA    |
|------------|------|------|---------|
| F          | 0.8  | 1.14 | 17301   |
| P2         | 5.3  | 1.36 | 117799  |
| P3         | 3.6  | 1.69 | 80239   |
| Ao         | 78.6 | 2.41 | 1565398 |
| A2         | 2.6  | 3.65 | 50780   |
| Unknown 1  | 17.0 | 4.62 | 377530  |

TOTAL AREA 2289047

F 0.8% A2 2.6%



รูปที่ 6 Chromatogram ของ Hb Siam เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC

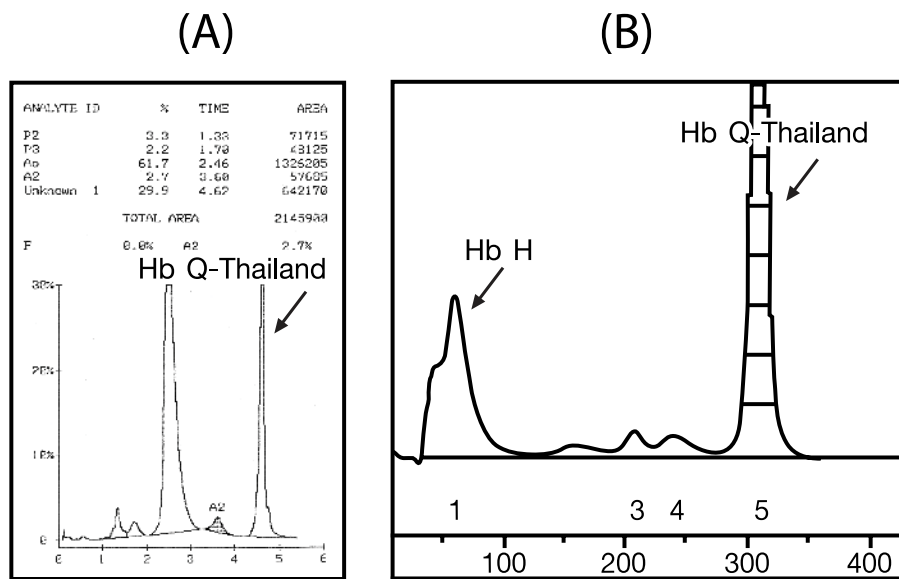
## 1.2 กลุ่ม $\alpha$ -chain variant (Hb Siam, Hb Queens และ Hb Q-Thailand)

ฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มนี้ ประกอบด้วย Hb Siam [ $\alpha$ 15(A13)Gly-Arg], Hb Queens [ $\alpha$ 34(B15)Leu-Arg] และ Hb Q-Thailand [ $\alpha$ 74(EF3)Asp-His] โดย Hb Siam และ Hb Queens เกิดจากมิวเตชันบน  $\alpha$ 1-globin gene จึงพบปริมาณ Hb variant ได้ในช่วงประมาณร้อยละ 15-20 เท่านั้น มีลักษณะของ peak ถูกแยกออกมาในตำแหน่งเดียวกันกับ Hb S, Hb D-Punjab, Hb Tak, Hb G-Makassar และ Hb Korle-Bu ดังแสดงในรูปที่ 6 แต่มีปริมาณน้อยกว่า ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็น  $\alpha$ -chain variant ฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มนี้ตรวจพบได้ไม่บ่อยเหมือนกลุ่มที่ 1.1 แต่เมื่อตรวจพบแล้วจำเป็นต้องตรวจยืนยันโดยการตรวจวิเคราะห์หัตถ์เอ็นเอเช่นกัน<sup>(21-23)</sup>

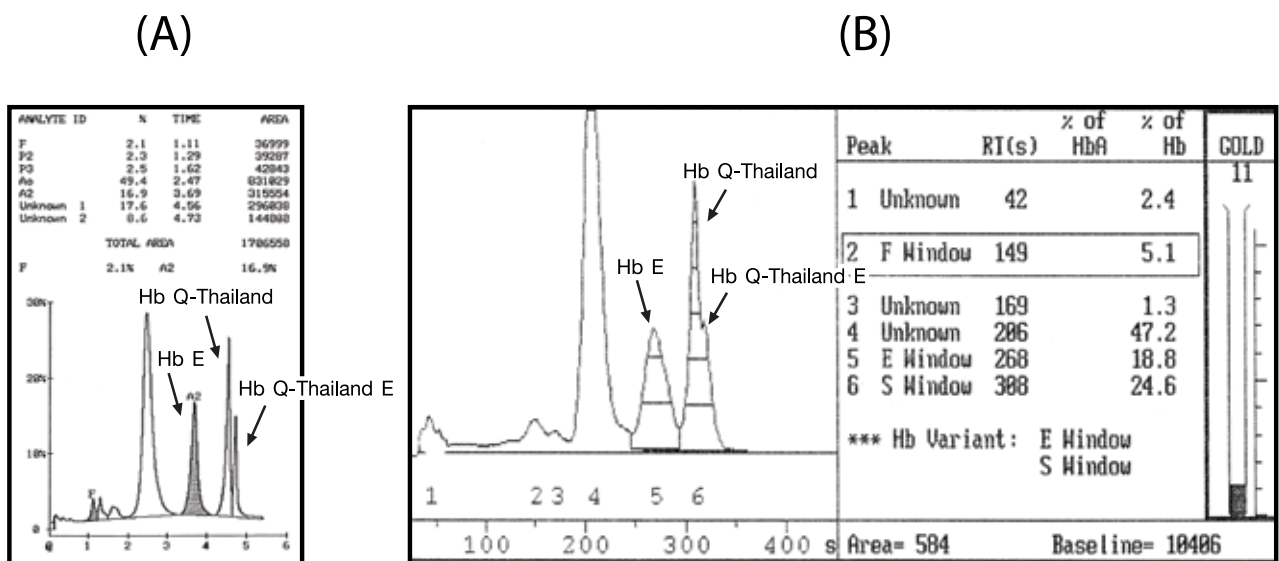
สำหรับ Hb Q-Thailand จัดเป็น  $\alpha$ -thalassemia ชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยในคนไทย เกิดจากความผิดปกติของยีน  $\alpha 1$ -globin ที่ตำแหน่ง codon 74 Asp-Asn ความผิดปกตินี้จะเชื่อมต่อกับ  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 4.2 kb deletion บนโครโมโซมข้างเดียวกันเสมอ ผู้ที่เป็นพาหะ Hb Q-Thailand ทุกคนจึงเป็นพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 4.2 kb deletion ด้วย เมื่อพบร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 จึงทำให้เกิดโรค Hb H ได้ โดยเรียกชื่อว่า QH disease ดังแสดงในรูปที่ 7 ซึ่งนอกจากจะต้องตรวจพบมิวเตชันที่ codon 74 แล้ว ยังต้องตรวจพบ  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 4.2 kb deletion

ด้วย จึงจะถือว่าตรวจได้ถูกต้อง การใช้วิธี multiplex PCR ตรวจหาความผิดปกติทั้งสองอย่างนี้พร้อมกัน ช่วยให้การงานสะดวกมากขึ้น<sup>(24)</sup>

เนื่องจาก Hb Q-Thailand เป็นความผิดปกติของสาย  $\alpha$ -globin chain ที่พบได้บ่อยในคนไทยซึ่งมีความชุกของ Hb E สูงด้วย จึงอาจพบผู้ที่เป็นพาหะของ Hb Q-Thailand ร่วมกับ Hb E ได้ ทำให้ตรวจพบฮีโมโกลบินได้หลายชนิดในเลือด ประกอบด้วย Hb A ( $\alpha^A_2 \beta^A_2$ ), Hb E ( $\alpha^A_2 \beta^E_2$ ), Hb Q-Thailand ( $\alpha^Q_2 \beta^A_2$ ) และ Hb Q-Thailand E ( $\alpha^Q_2 \beta^E_2$ ) ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 7 Chromatogram ของ Hb Q-Thailand เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A) และ Hb QH disease เมื่อแยกด้วยวิธี LPLC (B)



รูปที่ 8 Chromatogram ของ Hb Q-Thailand และ Hb Q-Thailand E เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A) และ LPLC (B)

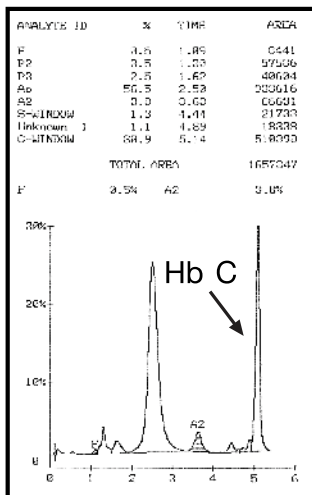
## 2. กลุ่ม $\beta$ -chain variant อื่นๆ (Hb C, Hb Pyrgos, Hb Hope และ Hb J-Bangkok)

ฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มนี้เกิดจากความผิดปกติของสาย  $\beta$ -globin ที่ไม่ก่อให้เกิดอาการทางคลินิกที่รุนแรง และมีปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติที่สังเคราะห์สูงในระดับเทียบเท่า Hb A ประกอบด้วย Hb C [ $\beta 6(A3)Glu-Lys$ ], Hb Pyrgos [ $\beta 83(EF7)Gly-Asp$ ], Hb J-Bangkok [ $\beta 56(D7)Gly-Asp$ ] และ Hb Hope [ $\beta 136(H14)Gly-Asp$ ]

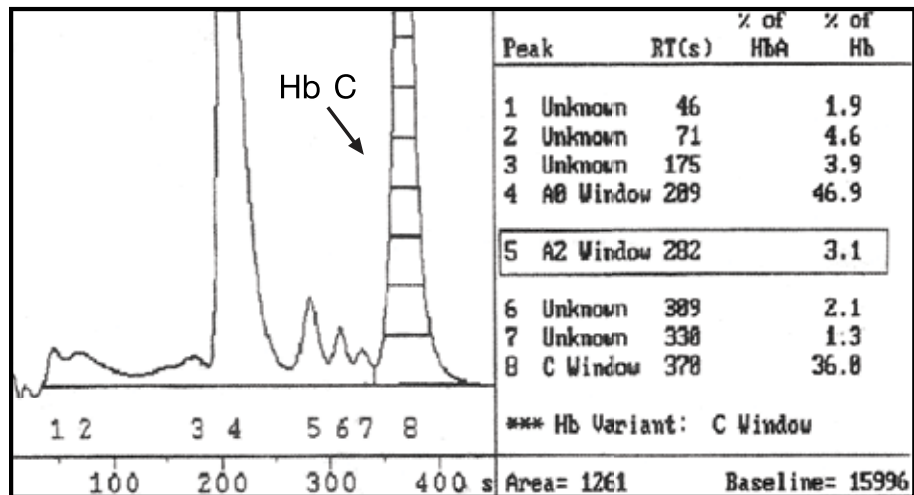
สำหรับ Hb C แต่เดิมเชื่อว่าตรวจพบเฉพาะในกลุ่มคนเชื้อสายแอฟริกัน ไม่มีรายงานการตรวจพบในคนไทย เนื่องจากการตรวจ Hb typing ขณะนั้นส่วนใหญ่ใช้วิธี alkaline electrophoresis ซึ่งไม่สามารถแยก Hb C ออกจาก Hb E ได้ จึงถูกรายงาน

เป็น Hb E ทั้งหมด แต่มีปริมาณ Hb C สูงกว่าผู้ที่ เป็นพาหะ Hb E ทั่วไปอย่างชัดเจน และให้ผลลบต่อการตรวจกรองด้วย DCIP ต้องใช้เทคนิคการตรวจ ดีเอ็นเอช่วยวินิจฉัยแยก<sup>(25, 26)</sup> ต่อมามีการใช้เทคนิค HPLC, LPLC หรือ CE ซึ่งสามารถแยก Hb C ออกจาก Hb E ได้อย่างชัดเจนในการทำ Hb typing ดังแสดงในรูปที่ 9 จึงมีการตรวจพบ Hb C มากขึ้น และพบว่ามี ความชุกสูงพอสมควรในคนไทย ในทางปฏิบัติ ไม่จำเป็นต้องตรวจดีเอ็นเอเพื่อยืนยันซ้ำ เว้นแต่ในรายที่มีความผิดปกติอย่างอื่นร่วมด้วย เช่น ในรายที่เป็น homozygote หรือ พบร่วมกับ Hb S หรือ Hb Korle-Bu เพราะทำให้เกิด microcytic anemia และเกิด Hb crystal formation ของ Hb C ในเม็ดเลือดแดงมากขึ้น อาจเกิดปัญหาทางคลินิกได้<sup>(27)</sup>

(A)



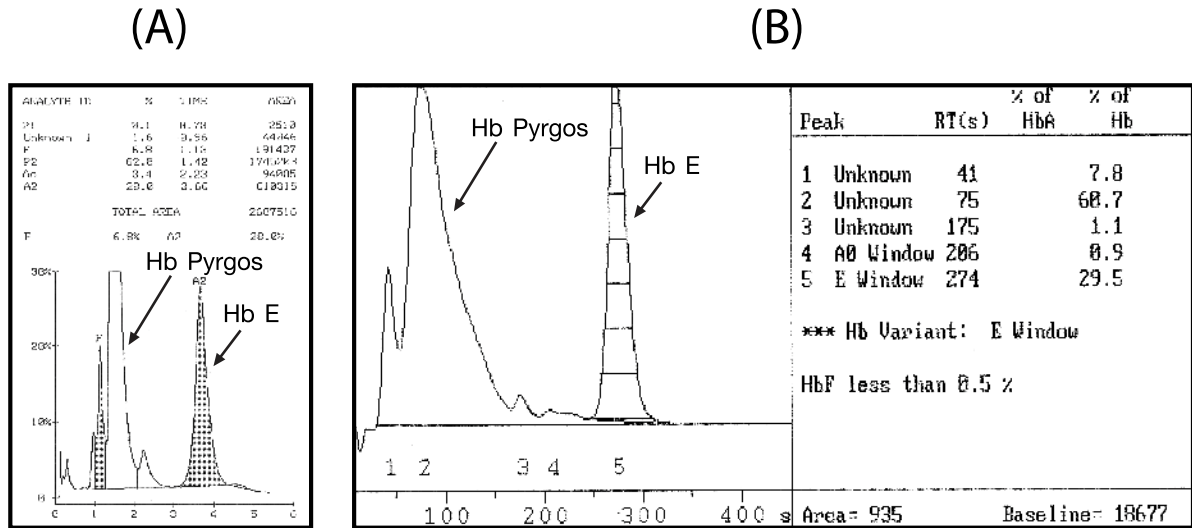
(B)



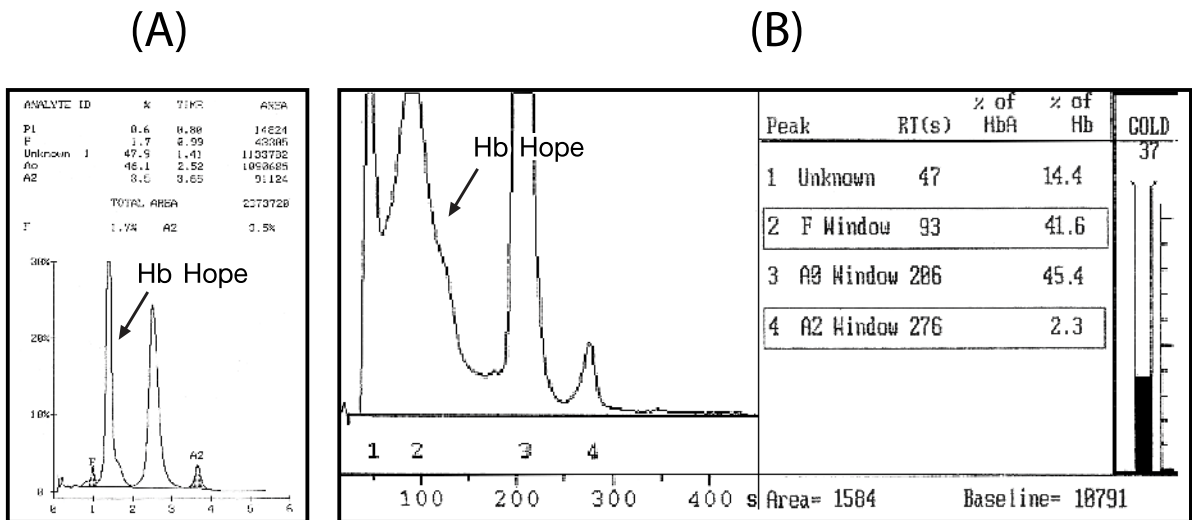
รูปที่ 9 Chromatogram ของ Hb C เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A) และ LPLC (B)

สำหรับ Hb Pyrgos, Hb Hope และ Hb J Bangkok เป็น nonpathological  $\beta$ -chain variant ทั้งหมดมีลักษณะการแยกด้วย HPLC และ LPLC คล้ายกัน (รูปที่ 10-12) Hb Pyrgos และ Hb Hope แยกออกจาก Hb A และ Hb E ชัดเจน จึงตรวจพบได้ง่าย ส่วน Hb J-Bangkok จะปรากฏ peak ตำแหน่ง

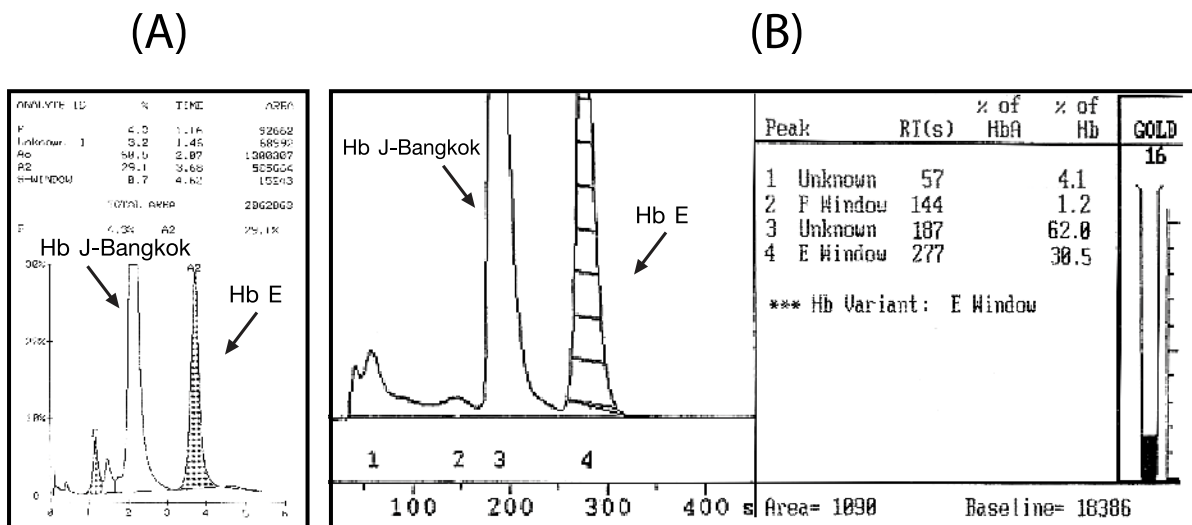
ซ้อนทับกับ Hb A เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ด้วย เครื่อง HPLC และจะปรากฏ peak ใกล้เคียงกันกับ Hb A เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LPLC อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยที่แน่นอนต้องอาศัยการ ตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ<sup>(28-31)</sup>



รูปที่ 10 Chromatogram ของ Hb Pyrgos/Hb E เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A) และ LPLC (B)



รูปที่ 11 Chromatogram ของ Hb Hope เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A) และ LPLC (B)



รูปที่ 12 Chromatogram ของ Hb J-Bangkok/HbE เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC (A) และ LPLC (B)

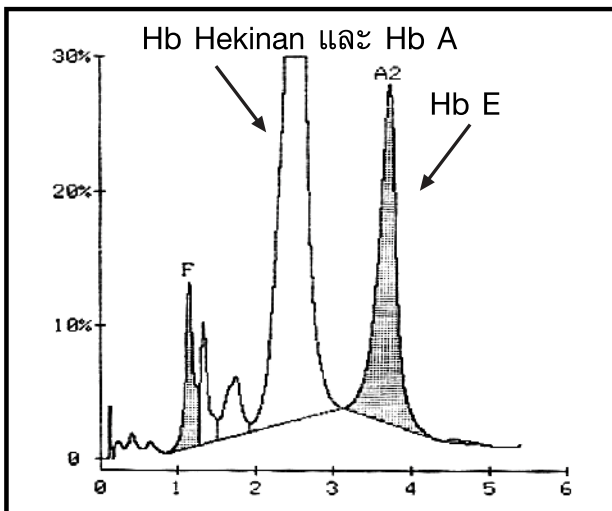
### 3. กลุ่ม $\alpha$ -chain variant อื่น ๆ (Hb Hekinan และ Hb Beijing)

Hb Hekinan [ $\alpha$ 27(B8) Glu-Asp] และ Hb Beijing [ $\alpha$ 16(A14) Lys-Asn] เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่ม  $\alpha$ -chain variant ที่ตรวจพบร่วมกับฮีโมโกลบินผิดปกติหรือธาลัสซีเมียชนิดอื่นในคนไทย

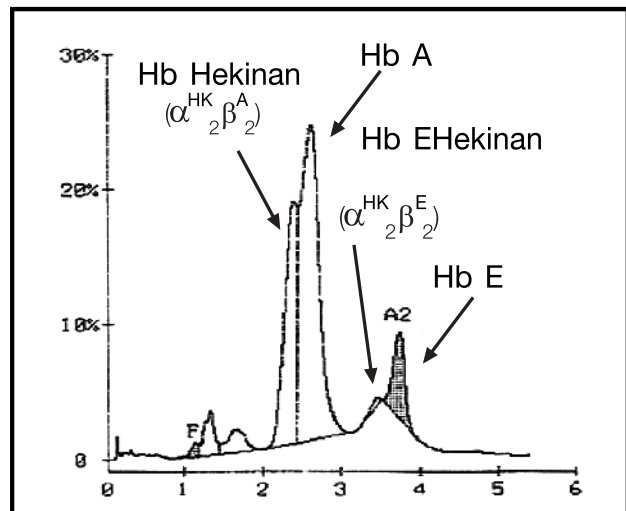
Hb Hekinan เป็น nonpathological  $\alpha$ -variant ที่พบมากในกลุ่มคนญี่ปุ่นและจีน เกิดจากมิวเตชันบนยีน  $\alpha$ 1-globin ปริมาณที่สังเคราะห์ได้จึงน้อยกว่าฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่นที่เกิดจากมิวเตชันบนยีน  $\alpha$ 2-globin ประกอบกับตำแหน่งของ Hb Hekinan และ Hb A จากการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC/ LPLC ใกล้เคียงกันมาก จึงทำให้มีโอกาสวินิจฉัยผิดพลาดได้ การพบ Hb Hekinan ร่วมกับ Hb E ในคนไทยนับว่า

น่าสนใจ<sup>(32-34)</sup> หากผู้ป่วยมี Hb Hekinan ร่วมกับ Hb E โดยไม่มีความผิดปกติของ  $\alpha$ -thalassemia ร่วมด้วย ปริมาณ Hb Hekinan ซึ่งมีน้อยมาก จะรวมอยู่กับ Hb A ทำให้เห็นฮีโมโกลบินผิดปกติเพียงชนิดเดียว คือ Hb E ดังแสดงในรูปที่ 13A แต่หากพบ Hb Hekinan ร่วมกับ Hb E และภาวะ  $\alpha$ -thalassemia อย่างอื่นด้วย จะทำให้  $\alpha$ -globin chain ปกติลดลง ทำให้พบ abnormal peak อีก 2 peak คือ Hb Hekinan ( $\alpha^{\text{HK}}_2\beta^{\text{A}}_2$ ) และ Hb EHekinan ( $\alpha^{\text{HK}}_2\beta^{\text{E}}_2$ ) ซึ่งแยกออกจาก Hb A และ Hb E อย่างชัดเจน ดังตัวอย่างในรูปที่ 13B ช่วยให้การวินิจฉัยเบื้องต้นง่ายขึ้น อย่างไรก็ตาม การตรวจวินิจฉัยที่แน่นอนต้องอาศัยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอของยีน  $\alpha$ 1-globin<sup>(32)</sup>

(A)



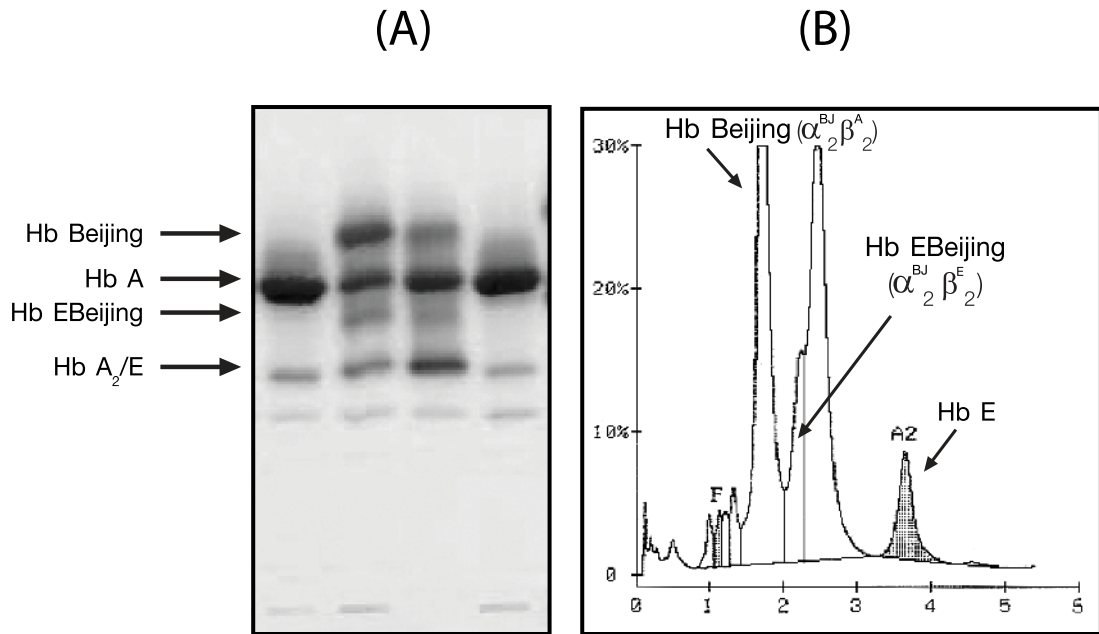
(B)



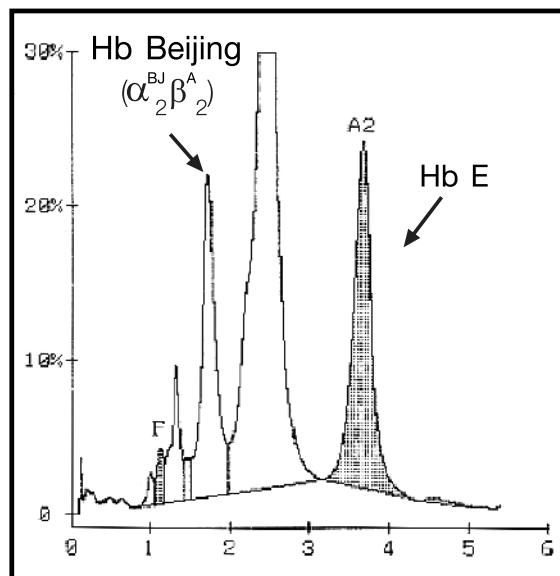
รูปที่ 13 Chromatogram ของ Hb Hekinan ที่พบร่วมกับ Hb E (A) และ Chromatogram ของ Hb Hekinan ที่พบร่วมกับ Hb E และ  $\alpha$ -thalassemia 1 (B) เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC

สำหรับ Hb Beijing พบครั้งแรกในประเทศจีนและพบได้ไม่บ่อยนัก ที่มีรายงานในประเทศไทยเป็นการตรวจพบในคนไทยทางภาคเหนือ โดยพบร่วมกับ Hb E และ  $\alpha$ -thalassemia 1 ผู้ป่วยมีภาวะซีดและมีลักษณะของ thalassemia intermedia ที่ต้องรับการรักษา<sup>(35)</sup> จึงมีความสำคัญ พบ abnormal peak 3

ชนิดคือ Hb Beijing ( $\alpha^{\text{BJ}}_2\beta^{\text{A}}_2$ ), Hb EBeijing ( $\alpha^{\text{BJ}}_2\beta^{\text{E}}_2$ ) และ Hb E ดังแสดงในรูปที่ 14 อย่างไรก็ตามหากพบ Hb Beijing ร่วมกับ Hb E โดยไม่มีภาวะ  $\alpha$ -thalassemia ร่วมด้วย จะพบ abnormal peak 2 ชนิด คือ Hb Beijing ร่วมกับ Hb E ดังแสดงในรูปที่ 15



รูปที่ 14 Hb Beijing, Hb EBeijing และ Hb E ที่พบในผู้ที่มีความผิดปกติของ Hb Beijing ร่วมกับ Hb E และ  $\alpha$ -thalassemia 1 เมื่อแยกด้วยวิธี alkaline cellulose electrophoresis (A) และ HPLC (B)

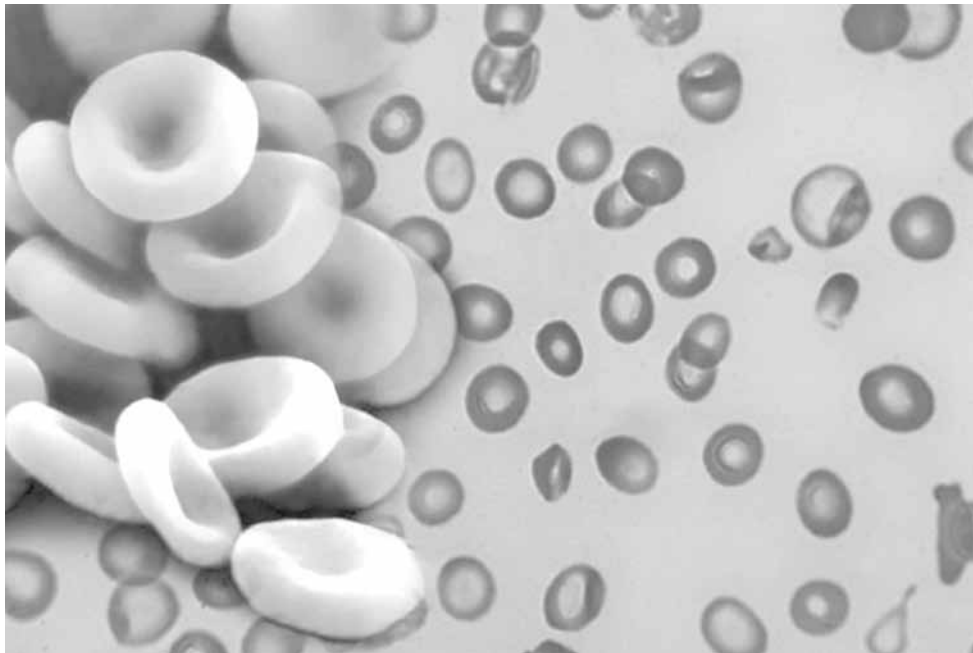


รูปที่ 15 Chromatogram ของ Hb Beijing ที่พบร่วมกับ Hb E เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC

โดยสรุปจะเห็นว่าฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในคนไทยมีเป็นจำนวนมากและเชื่อว่าจะมีการตรวจพบมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากมีการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินในงานประจำวันมากขึ้นตามโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียที่ดำเนินการอยู่ทั่วประเทศ ถึงแม้ส่วนใหญ่ของฮีโมโกลบินผิดปกติ

เหล่านี้จะไม่ทำให้เกิดโรคหรืออาการทางคลินิกใดๆ แต่มีโอกาสพบร่วมกับฮีโมโกลบินผิดปกติและธาลัสซีเมียที่เป็นปัญหาสำคัญในคนไทย จึงจำเป็นต้องให้การวินิจฉัยแยกให้ได้ เพื่อประโยชน์ในการดูแลรักษาและการให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมแก่ผู้ป่วยและครอบครัว

ในกรณีตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติที่นอกเหนือจาก Hb E และ Hb CS จัดเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อย (rare abnormal Hb) ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในงานประจำวันมีข้อจำกัดและส่วนใหญ่ไม่สามารถให้การวินิจฉัยที่แน่นอนได้ มักต้องอาศัยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอช่วยยืนยันด้วยเสมอ ดังนั้นเมื่อตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยเหล่านี้ในงานประจำวันจึงควรรายงานเพียงว่าได้ตรวจพบ **Abnormal Hb เท่านั้น (suspected abnormal Hb)** ไม่ควรระบุชนิดของ abnormal Hb ลงไปโดยไม่ผ่านการตรวจยืนยันด้วยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ และควรส่งตัวอย่างดังกล่าวพร้อมตัวอย่างเลือดของสมาชิกในครอบครัวไปขอรับการตรวจยืนยันที่ห้องปฏิบัติการอื่นที่มีความพร้อมต่อไป เนื่องจากการศึกษาให้ได้ข้อมูลเชิงลึกสำหรับฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้จะช่วยให้การดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของประเทศมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น<sup>(36)</sup>



## เอกสารอ้างอิง

1. Honig GR, Adams JG. Human hemoglobin genetics. Springer-Verlag, New York, 1986.
2. Huisman THJ. Globin gene server: Hb Var database [on line] 1996. Available from: <http://globin.cse.psu.edu>
3. Huisman THJ. The structure and function of normal and abnormal hemoglobins. *Bailliere's Clin Haematol* 1993; 6: 1-30.
4. Wajcman H, Pre'hu C, Bardakdjian-Michau J, Prome'D, Riou J, Godart C, et al. Abnormal hemoglobins: laboratory methods. *Hemoglobin* 2001; 25: 169-81.
5. Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford, Blackwell Scientific Publication, 1981.
6. Svasti J, Srisomsap C, Winichagoon P, Fucharoen S. Detection and structural analysis of abnormal hemoglobins found in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30(supp 2): 88-93.
7. วิชัย เหล่าสมบัติ. วัลด์สซีเมีย. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์, 2541: 71-124.
8. สุทัศน์ ฟูเจริญ, ปราณีย์ ฟูเจริญ. การประชุมเชิงปฏิบัติการ (Workshop) Thalassemia: From Molecular Biology To Clinical Medicine 9-20 มีนาคม 2541. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี: มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขต ศาลายา; 2541.
9. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Hb Pakse' [( $\alpha$ 2) codon 142 (TAA-TAT or Term-Tyr)] in Thai patients with EABart's disease and Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 227-35.
10. 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: 1092-8.
11. Laig M, Pape M, Hundrieser J, Flatz G, Sanguanserm Sri T, Das BM, Deka R, Yongvanit P, Mularlee N. The distribution of the Hb constant spring gene in Southeast Asian populations. *Hum Genet* 1990; 84(2): 188-90.
12. Singsanan S, Fucharoen G, Savongsy O, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Molecular characterization and origins of Hb Constant Spring and Hb Pakse' in Southeast Asian populations. *Ann Hematol* 2007; 86: 665-9.
13. Boonsa S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Wiangnon S, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. The diverse molecular basis and hematologic features of Hb H and AEBart's diseases in northeast Thailand. *Acta Haematol* 2004; 111: 149-54.
14. Steinberg MH. DNA diagnosis for the detection of sickle hemoglobinopathies. *Am J hematol* 1993; 43: 110-5.
15. Fucharoen S, Changtrakun Y, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular characterization of Hb D-Punjab [ $\beta$ 121(GH4)Glu-Gln] in Thailand. *Hemoglobin* 2002; 26: 261-9.
16. Sanchaisuriya K, Chunpanich S, Fucharoen G, Fucharoen S. Multiplex allele specific PCR assay for differential diagnosis of Hb S, Hb D-Punjab and Hb Tak. *Clin Chim Acta* 2004; 343: 129-34.
17. Sangkitporn S, Rerkamnuaychoke B, Sangkitporn S, Mitrakul C, Sutivigit Y. Hb G Makassar (beta 6 : Glu - Ala) in Thai Family. *J Med Assoc Thai* 2002; 85: 577-82.
18. Viprakasit V, Wiriyaateinkul A, Sattayasevana B, Miles KL, Laosombat V. Hb G-Makassar [ $\beta$ 6(A3)Glu-->Ala; codon 6 (GAG-->GCG)]: molecular characterization, clinical, and hematological effects. *Hemoglobin* 2002; 26(3): 245-53.
19. Changtrakun Y, Fucharoen S, Ayukarn K, Siriratmanawong N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Compound heterozygosity for

Hb Korle-Bu ( $\beta$ 73; Asp - Asn) and Hb E ( $\beta$ 26; Glu - Lys) with a 3.7 kb deletional ( $\alpha$ -thalassemia in Thai patients. *Ann Hematol* 2002; 81: 389-93.

20. Siriratmanawong N, Chansri W, Singsanan S, Fucharoen G, Fucharoen S. Complex interaction of Hb E [ $\beta$ 26(B8)Glu-Lys], Hb Korle-Bu [ $\beta$ 73(E17)Asp-Asn] and a deletional  $\beta$ -thalassemia 1 in pregnancy. *Hemoglobin* 2009; 33: 1-8.

21. Turbpaiboon C, Svasti S, Sawangareetakul P, Winichagoon P, Srisomsap C, Siritanaratkul N, Fucharoen S, Wilairat P, Svasti J. Hb Siam [ $\alpha$ 15(A13)Gly-->Arg ( $\alpha$ 1) (GGT-->CGT)] is a typical alpha chain hemoglobinopathy without an alpha-thalassaemic effect. *Hemoglobin* 2002; 26(1): 77-81.

22. Yodsowan B, Svast J, Srisomsap C, Winichagoon P, Fucharoen S. Hb Siam [ $\alpha$ 15(A13)Gly-->Arg] is a GGT-->CGT mutation in the alpha1-globin gene. *Hemoglobin* 2000; 24(1): 71-5.

23. Fucharoen S, Singsanan S, Hama A, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Rapid molecular characterization of Hb Queens and Hb Siam: two variants easily misidentified as sickle Hb. *Clin Biochem* 2007; 40: 137-40.

24. Sanchaisuriya K, Chunpanich S, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y. Association of Hb Q-Thailand with homozygous Hb E and heterozygous Hb Constant Spring in pregnancy. *Eur J Haematol* 2005; 74: 221-7.

25. Siriboon W, Srisomsap C, Winichagoon P, Fucharoen S, Svasti J. Identification of Hb C [ $\beta$ 6(A3)Glu-Lys] in a Thai male. *Hemoglobin* 1993; 17: 419-25.

26. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Siriratmanawong N, Surapot S, Fucharoen S. Molecular characterization of hemoglobin C in Thailand. *Am J Hematol* 2001; 67: 189-93.

27. Nagel RL, Lin MJ, Witkowska E, Fabry ME, Bestak M, Hirsch E. Compound heterozygosity for hemoglobins C and Korle-Bu: moderate microcytic anemia and acceleration of crystal formation. *Blood* 1993; 82: 1907-12.

28. Fucharoen S, Ayukarn K, Sanchaisuriya K, Fucharoen G. A typical hemoglobin H disease in a Thai patient resulting from a combination of  $\alpha$ -thalassemia 1 and hemoglobin Constant Spring with hemoglobin J Bangkok heterozygosity. *Eur J Haematol* 2001; 66: 312-6.

29. Chunpanich S, Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Kam-itsara K. Molecular and hematological characterization of hemoglobin Hope/hemoglobin E and hemoglobin Hope /  $\alpha$ -thalassemia 2 in Thai patients. *Lab Hematol* 2004; 10: 215-20.

30. Fucharoen S, Singsanan S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G. Molecular and haematological characterization of compound Hb E/Hb Pyrgos and Hb E/Hb J Bangkok in Thai patients. *Clin Lab Haematol* 2005; 27: 184-9.

31. Sura T, Busabaratanana M, Youngcharoen S, Wisedpanichkij R, Viprakasit V, Trachoo O. Haemoglobin Hope in a northern Thai family: first identification of homozygous haemoglobin Hope associated with haemoglobin H disease. *Eur J Haematol* 2007; 79(3): 251-4.

32. Fucharoen S, Changtrakun Y, Ratanasiri T, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Complex interaction of Hb Hekinan [ $\alpha$ 27(B8) Glu-Asp] and Hb E [ $\beta$ 26(B8) Glu-Lys] with a deletional  $\alpha$ - thalassaemia 1 in a Thai family. *Eur J Haematol* 2003; 70: 304-9.

33. Chunpanich S, Ayukarn K, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Laboratory diagnosis of a compound heterozygosity for Hb Hekinan [(27(B8) Glu-Asp] and a deletional  $\alpha$ -thalassaemia 2 in Thailand. *Clin Lab Haematol* 2004; 26: 355-8.

34. Ngiwsara L, Srisomsap C, Winichagoon P, Fucharoen S, Svasti J. Two cases of compound heterozygosity for Hb Hekinan [ $\alpha$ 27(B8)Glu-->Asp ( $\alpha$ 1)] and alpha-thalassemia in Thailand. Hemoglobin 2004; 28(2): 145-50.

35. Fucharoen S, Chunpanich S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Kunyanone N. Thalassemia intermedia associated with complex interaction of Hb Beijing [ $\alpha$ 16(A14)Lys-Asn] and Hb E [ $\beta$ 26(B8)Glu-Lys] with a deletional  $\alpha$ -thalassemia 1 in a Thai family. Hemoglobin 2005; 29: 77-88.

36. สุพรรณ ฟุ่เจริญ, กุลนภา ฟุ่เจริญ. ฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในคนไทยและการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2553; 22: 103-17.





---

**การแปลผลการตรวจวินิจฉัย  
ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ  
ทางห้องปฏิบัติการ**

---

## บทที่ 3

# การแปลผลการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติทางห้องปฏิบัติการ

ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ เป็นภาวะที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนด้อย ผู้ที่เป็นพาหะ จึงไม่มีอาการผิดปกติใด ๆ ส่วนผู้ที่เป็นโรคจะต้องได้รับยีนธาลัสซีเมียมาจากทั้งบิดาและมารดา โดยยีนทั้งสองมีปฏิสัมพันธ์กันแล้วทำให้เกิดโรค

ผู้ที่มียีนธาลัสซีเมียมีได้หลายแบบ ดังนี้

**Heterozygote :** มียีนผิดปกติ 1 ยีน (หรือ 1 ชุด) ส่วนยีนที่คู่กัน (ตำแหน่งเดียวกัน) ปกติ เรียกว่าเป็นพาหะ (trait หรือ carrier) ไม่มีอาการผิดปกติ แต่มีพันธุกรรมธาลัสซีเมียแฝงอยู่

**Homozygote :** มียีนที่คู่กัน (ตำแหน่งเดียวกัน) ผิดปกติเหมือนกัน ความรุนแรงของโรคหลากหลาย ขึ้นกับชนิดของยีนที่ผิดปกติ บางชนิดอาจไม่มีอาการผิดปกติเลยก็ได้

**Compound heterozygote :** มียีนผิดปกติที่คู่กัน (ตำแหน่งเดียวกัน) ไม่เหมือนกันแต่เป็นกลุ่มเดียวกัน คือเป็น  $\alpha$ -thalassemia ด้วยกัน หรือเป็น  $\beta$ -thalassemia ด้วยกัน

**Double heterozygote :** เป็น heterozygote ของ 2 ภาวะ คือ เป็นพาหะของทั้ง  $\alpha$ - และ  $\beta$ -thalassemia

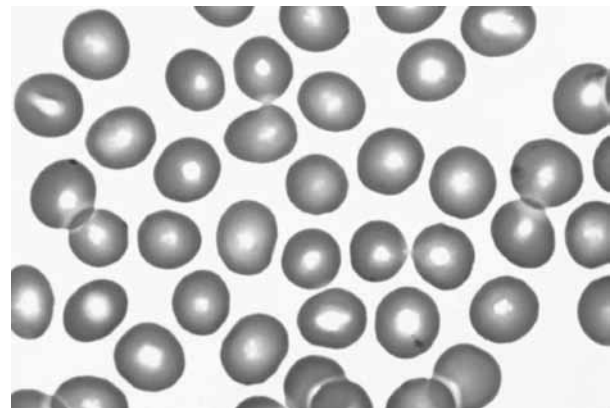
**Complex condition :** มีภาวะ homozygote หรือ compound heterozygote ของ  $\alpha$ - หรือ  $\beta$ -thalassemia ร่วมกับ thalassemia อีกชนิดหนึ่ง

จากการคำนวณพบว่า ปฏิสัมพันธ์ของยีนธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทยมีมากกว่า 60 แบบ<sup>(1)</sup> การแปลผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจึงมีความซับซ้อนและต้องอาศัยข้อมูลหลายอย่างประกอบการพิจารณา ได้แก่ อายุผู้ป่วย ประวัติการรับเลือด พารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง ผลการตรวจคัดกรอง ผลการตรวจ Hb typing และ บางครั้งต้องอาศัยผลการตรวจหาความผิดปกติของยีนร่วมด้วย จึงจะสามารถวินิจฉัยได้อย่างถูกต้อง<sup>(2)</sup>

## การแปลผลการตรวจวินิจฉัยคนปกติพาหะธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อย

### 1. คนปกติ<sup>(2-6)</sup>

- ผลการตรวจ Hb typing : A<sub>2</sub>A, Hb A<sub>2</sub> น้อยกว่าร้อยละ 4
- Hb มากกว่า 10 g/dL
- MCV มากกว่าหรือเท่ากับ 80 fL
- OF negative
- DCIP negative
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงปกติทั้งขนาดและรูปร่าง (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 Blood smear ของคนปกติพบเม็ดเลือดแดงปกติทั้งขนาดและรูปร่าง

## ตัวอย่างที่ 1

## Normal or non-clinically significant thalassemia

Age.....22.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....negative.....

DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...4.62...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...15.1...g/dL, Hct = ...43.3...%, MCV = ...93.7... fL,

MCH = ...32.7... pg, MCHC = ...34.9... g/dL, RDW-CV = ...13.0...%

Hb-analysis.....HPLC.....

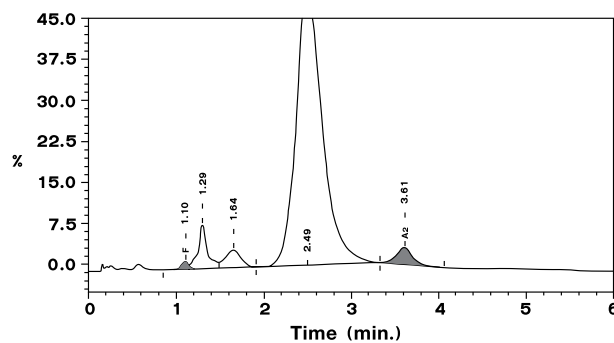
| Peak Name | Calibrated Area% | Area% | Retention Time (min.) | Peak Area |
|-----------|------------------|-------|-----------------------|-----------|
| F         | 0.7              | ---   | 1.10                  | 16558     |
| P2        | ---              | 5.0   | 1.29                  | 117008    |
| P3        | ---              | 3.3   | 1.64                  | 76646     |
| A0        | ---              | 87.7  | 2.49                  | 2061472   |
| A2        | 3.1              | ---   | 3.61                  | 79484     |

Total Area : 2,351,169

F Concentration = 0.7%

A2 Concentration = 3.1%

Analysis comments:

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A .....

Hb A2 = .....3.1.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....0.7.....%

Other Hb = .....-.....

Interpretation .....Normal or non-clinically significant thalassemia\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 2

## Normal or non-clinically significant thalassemia

Age.....22.....years

Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....negative.....

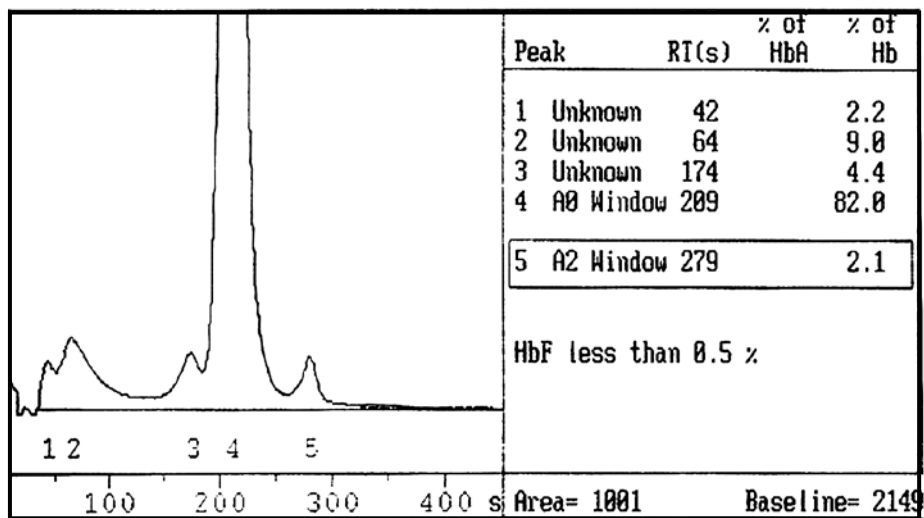
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...4.62...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...15.1...g/dL, Hct = ...43.3...%, MCV = ...93.7... fL,

MCH = ...32.7... pg, MCHC = ...34.9... g/dL, RDW-CV = ...13.0...%

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A .....

Hb A2 = .....2.1.....%

Hb E = .....-.....%

Hb F = .....&lt; 0.5.....%

Other Hb = .....-.....

Interpretation .....Normal or non-clinically significant thalassemia\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## 2. พาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อย

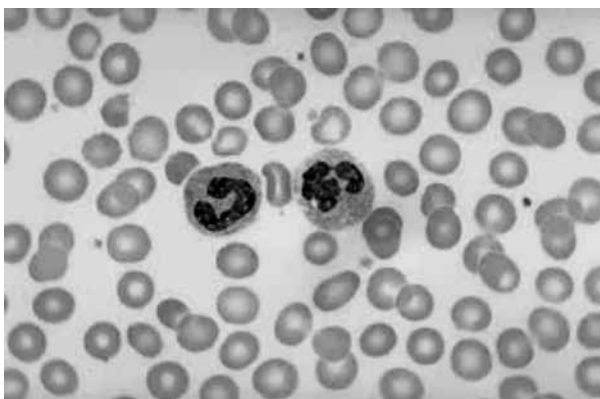
ผู้ที่ เป็นพาหะธาลัสซีเมียไม่มีภาวะซีด ตับ และม้ามไม่โต รูปร่างหน้าตาเหมือนคนปกติทั่วไป ต้องอาศัยการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการเท่านั้น จึงจะวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียได้

การตรวจ Hb typing สามารถวินิจฉัยพาหะ  $\beta$ -thalassemia และพาหะ Hb E ได้ แต่ไม่สามารถวินิจฉัยพาหะ  $\alpha$ -thalassemia ได้ การวินิจฉัยพาหะ  $\alpha$ -thalassemia ทั้ง  $\alpha$ -thalassemia 1 และ  $\alpha$ -thalassemia 2 ต้องอาศัยการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของยีนเท่านั้น

พาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย มีดังนี้

### 2.1 พาหะ $\alpha$ -thalassemia 2 ( $\alpha$ -thalassemia 2 trait)<sup>(2-6)</sup>

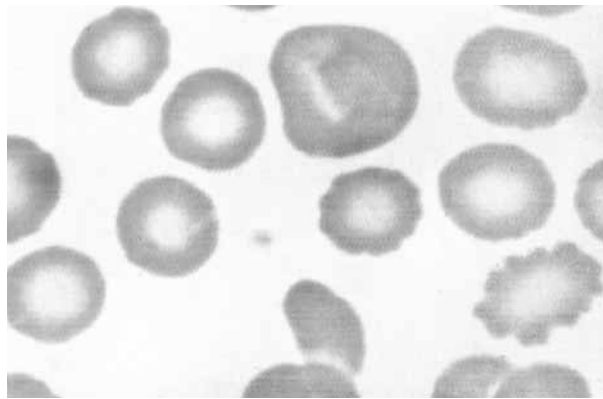
- ผลการตรวจ Hb typing :  $A_2A$ , Hb  $A_2$  น้อยกว่าร้อยละ 4
- Hb ~ 12 - 14 g/dL
- MCV ~ 78 - 85 fL
- OF ให้ผลได้ทั้ง positive และ negative
- DCIP negative
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงปกติทั้งขนาดและรูปร่าง (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 Blood smear ของผู้ที่เป็นพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 พบเม็ดเลือดแดงปกติทั้งขนาดและรูปร่าง

### 2.2 พาหะ $\alpha$ -thalassemia 1 ( $\alpha$ -thalassemia 1 trait)<sup>(2-6)</sup>

- ผลการตรวจ Hb typing :  $A_2A$ , Hb  $A_2$  น้อยกว่าร้อยละ 4
- Hb ~ 10 - 14 g/dL
- MCV ~ 70 - 75 fL
- OF positive
- DCIP negative
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงมีการเปลี่ยนแปลงแบบ hypochromia และ microcytosis (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 Blood smear ของผู้ที่เป็นพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 1 พบ hypochromic และ microcytosis



## ตัวอย่างที่ 4

Normal Hb typing, not rule out  $\alpha$ -thalassemia

Age.....25..... years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

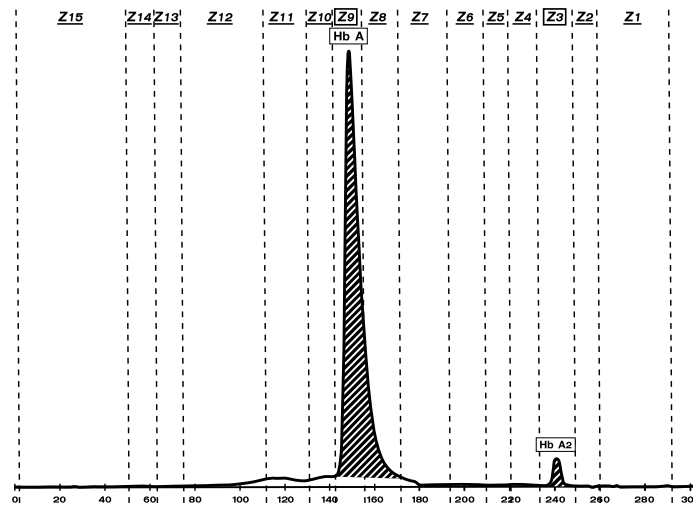
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...5.73...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...11.5...g/dL, Hct = ...36.1...%, MCV = ...63.0... fL,

MCH = ...20.1... pg, MCHC = ...31.9... g/dL, RDW-CV = ...16.5...%

Hb-analysis.....CE.....



Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. %      |
|-------------------|------|-------------|
| Hb A              | 97.5 | 96.8 - 97.8 |
| Hb A <sub>2</sub> | 2.5  | 2.2 - 3.5   |

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A .....Hb A<sub>2</sub> = .....2.5.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....-.....%

Other Hb = .....-.....

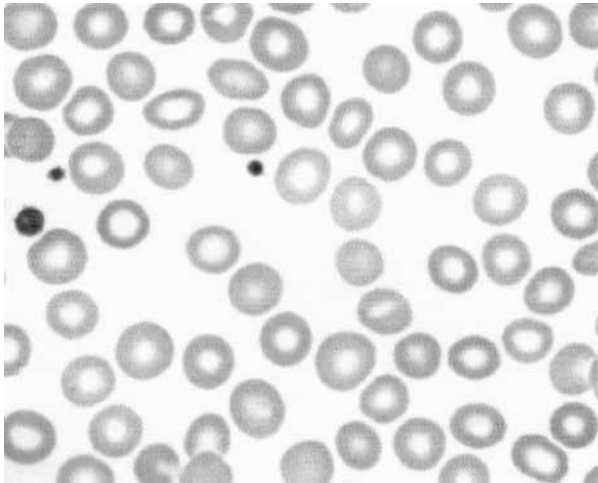
Interpretation .....Normal Hb typing, not rule out  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

### 2.3 พาหะ $\beta$ -thalassemia ( $\beta$ -thalassemia trait)<sup>(2-6)</sup>

- ผลการตรวจ Hb typing : A<sub>2</sub>A, Hb A<sub>2</sub> ร้อยละ 4-8
- Hb ~ 10 - 14 g/dL
- MCV ~ 60 - 75 fL
- OF positive
- DCIP negative
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงผิดปกติ มีลักษณะ hypochromia, microcytosis อาจพบ target cell บ้างเล็กน้อย (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 Blood smear ของผู้ที่เป็นพาหะ  $\beta$ -thalassemia พบ hypochromic, microcytosis และ target cell

## ตัวอย่างที่ 5

 **$\beta$ -thalassemia trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....30.....years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...5.05...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...10.2... g/dL, Hct = ...31.5...%, MCV = ...62.4... fL,

MCH = ...20.2... pg, MCHC = ...32.4... g/dL, RDW-CV = ...20.1...%

Hb-analysis.....HPLC.....

| Peak Name | Calibrated Area% | Area% | Retention Time (min.) | Peak Area |
|-----------|------------------|-------|-----------------------|-----------|
| F         | 4.4*             | ---   | 1.12                  | 92270     |
| P2        | ---              | 5.1   | 1.29                  | 109991    |
| P3        | ---              | 4.2   | 1.66                  | 91772     |
| A0        | ---              | 80.7  | 2.50                  | 1753859   |
| A2        | 5.4*             | ---   | 3.63                  | 126199    |

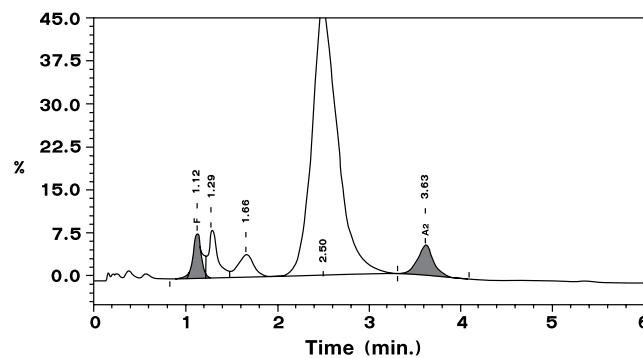
Total Area : 2,174,091

F Concentration = 4.4\* %

A2 Concentration = 5.4\* %

Analysis comments:

\*Values outside of expected ranges

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A .....

Hb A2 = .....5.4.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....4.4.....%

Other Hb = .....-.....

Interpretation ..... $\beta$ -thalassemia trait\*\*\* with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

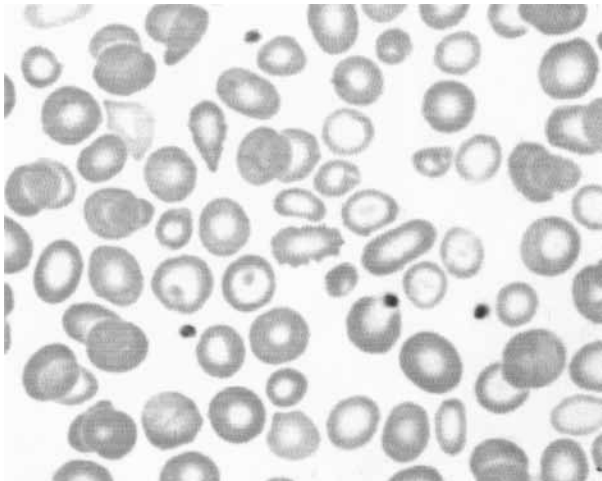
Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal



## 2.4 พาหะ Hb E (Hb E trait)<sup>(2-6)</sup>

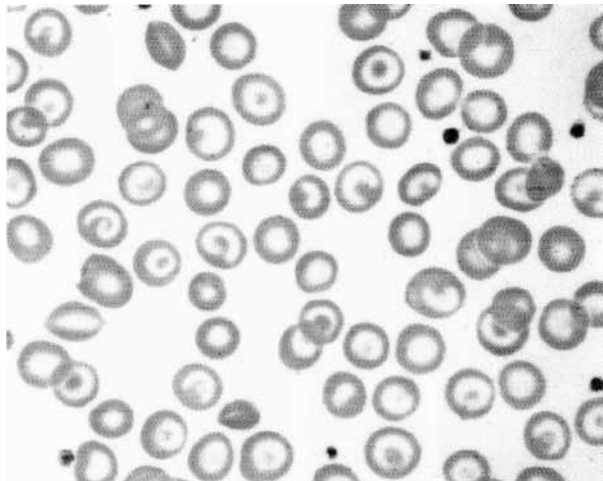
- ผลการตรวจ Hb typing : EA
- หาก Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25 แสดงว่ามียีน  $\alpha$ -thalassemia 1 ร่วมด้วย
- Hb ~ 12 - 14 g/dL
- MCV ~ 75 - 85 fL
- OF พบได้ทั้ง positive และ negative
- DCIP positive
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงลักษณะ mild hypochromia และ microcytosis เล็กน้อย อาจพบ target cell ประมาณร้อยละ 1-10 ของเม็ดเลือดแดง (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 Blood smear ของผู้ที่เป็นพาหะ Hb E พบ hypochromic, microcytosis และ target cell

## 2.5 Homozygous Hb E<sup>(2-6)</sup> ถึงแม้จะเป็น Homozygote แต่ไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย

- ผลการตรวจ Hb typing : EE
- Hb ~ 10 - 13 g/dL
- MCV ~ 65 - 75 fL
- OF positive
- DCIP positive
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงมีลักษณะ hypochromia และ anisopoikilocytosis เล็กน้อย เม็ดเลือดแดงที่พบส่วนใหญ่เป็น target cell จำนวนมากกว่าร้อยละ 80 ของเม็ดเลือดแดง อาจพบ basophilic stippling ในเม็ดเลือดแดงได้ (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 Blood smear ของผู้ที่เป็นพาหะ Homozygous Hb E พบ hypochromic, anisopoikilocytosis และ target cell

## 2.6 พาหะ Hb CS<sup>(2-6)</sup>

- ผลการตรวจ Hb typing : CS A<sub>2</sub>A
- Hb ~ 11 - 13 g/dL
- MCV ~ 80 - 90 fL
- OF ให้ผลทั้ง positive และ negative
- DCIP negative



## ตัวอย่างที่ 8

## Hb E trait

Age.....26.....years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....negative.....

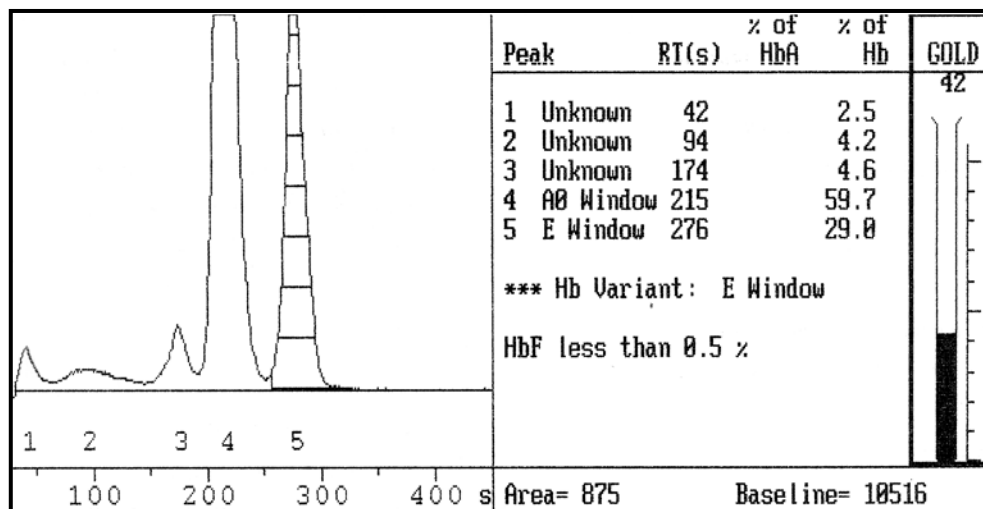
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.85...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...12.6... g/dL, Hct = ...38.2...%, MCV = ...78.8... fL,

MCH = ...26.0... pg, MCHC = ...33.0... g/dL, RDW-CV = ...13.6...%

Hb-analysis.....LPLC.....



Hb-type : ..... EA .....

Hb A<sub>2</sub> = .....-% Hb E = .....29.0.....%

Hb F = .....&lt; 0.5.....%

Other Hb = .....-%.....

Interpretation .....Hb E trait\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 9

## Hb E trait

Age.....26.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....negative.....

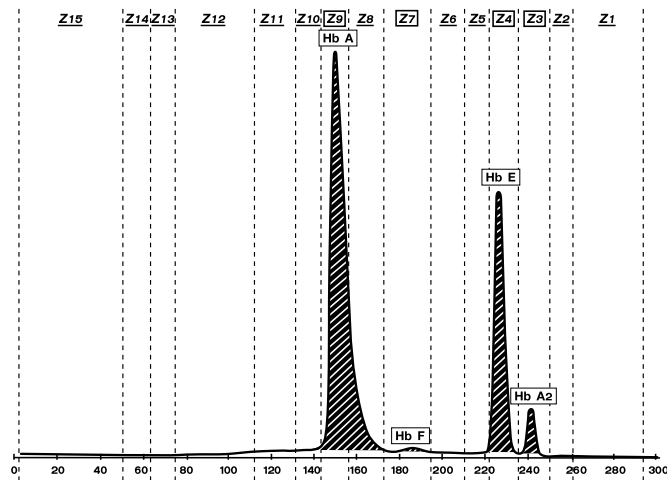
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.85...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...12.6... g/dL, Hct = ...38.2...%, MCV = ...78.8... fL,

MCH = ...26.0... pg, MCHC = ...33.0... g/dL, RDW-CV = ...13.6...%

Hb-analysis.....CE.....



## Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb A              | 70.0 |        |
| Hb F              | 0.5  |        |
| Hb E              | 25.6 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 3.9  |        |

Hb-type : ..... EA.....

Hb A<sub>2</sub> = ...3.9...% Hb E = ...25.6...% [ Hb A<sub>2</sub> + Hb E = ...29.5...%]

Hb F = ...0.5...%

Other Hb = .....-.....

Interpretation .....Hb E trait\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 10

Hb E trait with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....27..... years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...7.52...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...15.0... g/dL, Hct = ...47.4...%, MCV = ...63.0... fL,

MCH = ...19.9... pg, MCHC = ...31.6... g/dL, RDW-CV = ...17.1...%

Hb-analysis.....HPLC.....

| Peak Name | Calibrated Area% | Area% | Retention Time (min.) | Peak Area |
|-----------|------------------|-------|-----------------------|-----------|
| P2        | ---              | 5.4   | 1.29                  | 96492     |
| P3        | ---              | 4.0   | 1.64                  | 72383     |
| A0        | ---              | 71.1  | 2.52                  | 1277296   |
| A2        | 18.1*            | ---   | 3.70                  | 349953    |

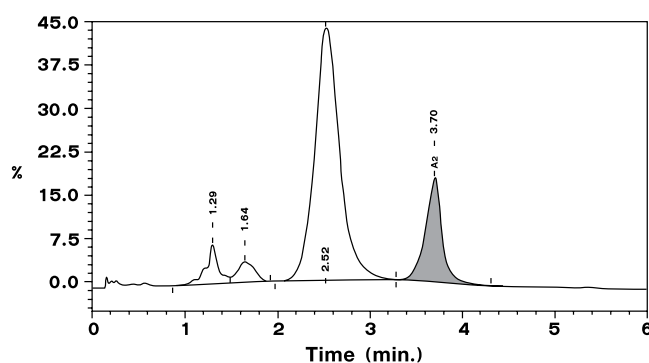
Total Area : 1,796,125

F Concentration = %

A2 Concentration = 18.1\* %

Analysis comments:

\*Values outside of expected ranges



Hb-type : ..... EA .....

Hb A<sub>2</sub> = .....-% ..... % Hb E = .....18.1.....%

Hb F = .....-% .....%

Other Hb = .....-% .....

Interpretation .....Hb E trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal



## ตัวอย่างที่ 12

Homozygous Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....20.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

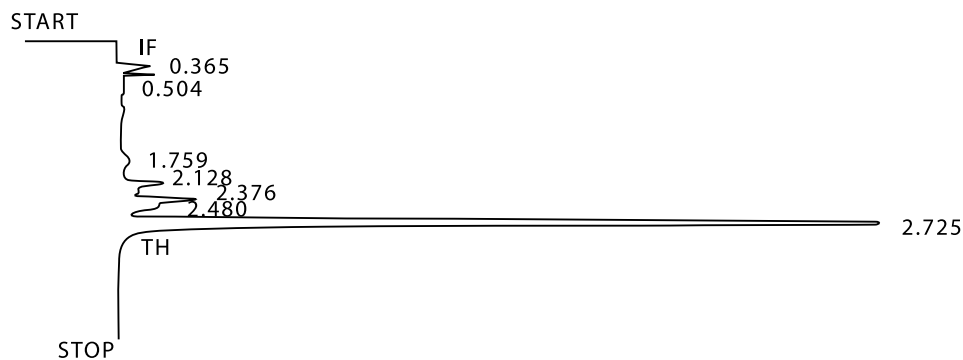
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.52...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...9.5... g/dL, Hct = ...27.9...%, MCV = ...61.7... fL,

MCH = ...21.0... pg, MCHC = ...34.1 g/dL, RDW-CV = ...16.4...%

Hb-analysis.....HPLC.....



| Closing NUM | signal RT | file REL | M-SIGNAL RT | .BNC WIDTH | AREA % | COMMENT   |
|-------------|-----------|----------|-------------|------------|--------|-----------|
| 1           | .365      | RT F     | .204        | .067       | 2.0    |           |
| 2           | .504      | RT F     | .282        | .010       | .6     |           |
| 3           | 1.759     | RT F     | .985        | .166       | 1.2    | F Peak    |
| 4           | 2.128     | RT F     | 1.192       | .114       | 4.3    |           |
| 5           | 2.376     | RT F     | .949        | .073       | 4.9    |           |
| 6           | 2.480     | RT F     | .990        | .091       | 3.3    | A0 Peak 2 |
| 7           | 2.725     | RT F     | 1.088       | .086       | 83.7   | 3         |

Hb-type : ..... EE .....

Hb A<sub>2</sub> = .....-% Hb E = .....83.7.....%

Hb F = .....1.2.....%

Other Hb = .....-%.....

Interpretation .....Homozygous Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 13

**Homozygous Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....20.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

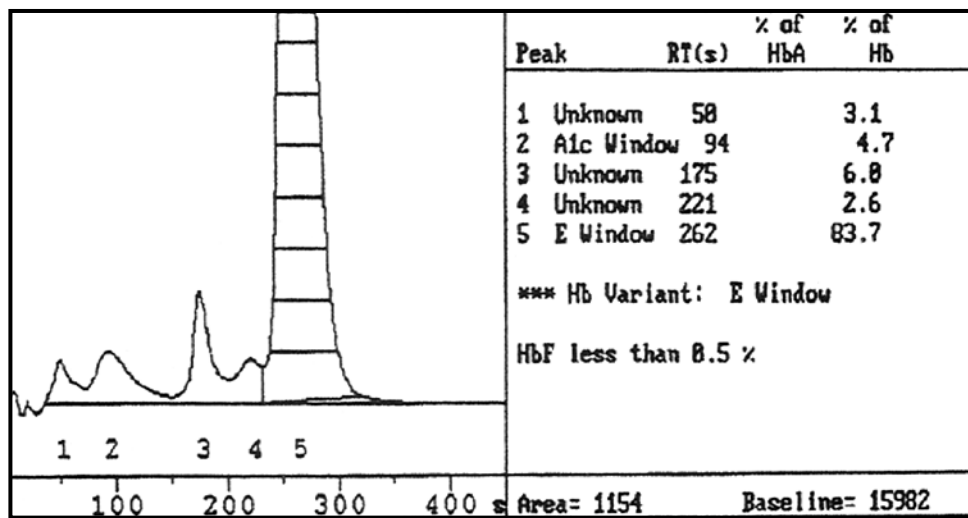
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.52...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...9.5... g/dL, Hct = ...27.9...%, MCV = ...61.7... fL,

MCH = ...21.0... pg, MCHC = ...34.1 g/dL, RDW-CV = ...16.4...%

Hb-analysis.....LPLC.....



Hb-type : ..... EE .....

Hb A<sub>2</sub> = .....-%      Hb E = .....83.7.....%

Hb F = .....&lt; 0.5.....%

Other Hb = .....-% .....

Interpretation .....Homozygous Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 14

## Hb Constant Spring trait

Age.....13.....years

Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

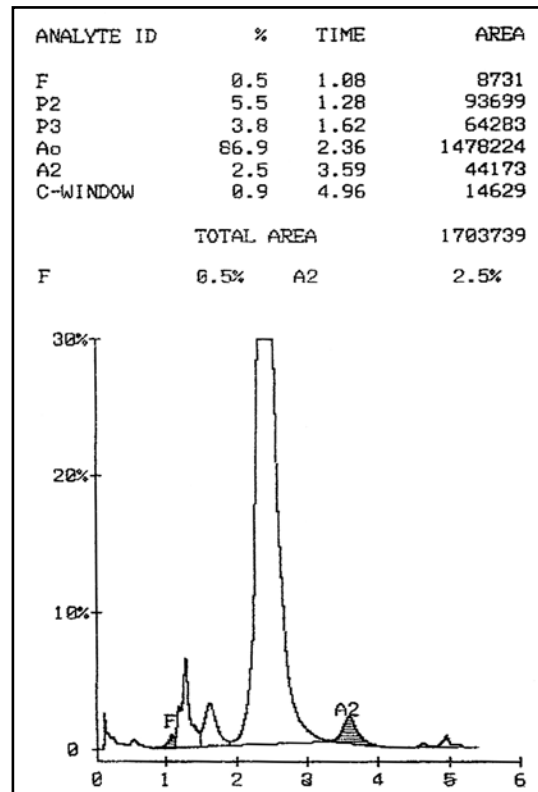
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...5.67...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...13.5... g/dL, Hct = ...41.7...%, MCV = ...74... fL,

MCH = ...23.8... pg, MCHC = ...32.4.. g/dL, RDW-CV = ...14.5...%

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... CS A<sub>2</sub>A .....  
<sub>2</sub>Hb A<sub>2</sub> = .....2.5.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....0.5.....%

Other Hb = .....Hb CS = 0.9%.....

Interpretation .....Hb CS trait \*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## การแปลผลการตรวจวินิจฉัย ผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

โดยทั่วไปผู้ป่วยธาลัสซีเมียจะมีอาการซีด ผลการตรวจ blood smear พบ hypochromia, microcytosis, anisopoikilocytosis, target cell, basophilic stippling, polychromasia, spherocyte และอาจพบ nucleated red cell ได้

โรคธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย ได้แก่

### 1. Hb Bart's hydrops fetalis (homozygous $\alpha$ -thalassemia 1)<sup>(2-6)</sup>

เป็นโรคธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรงที่สุด

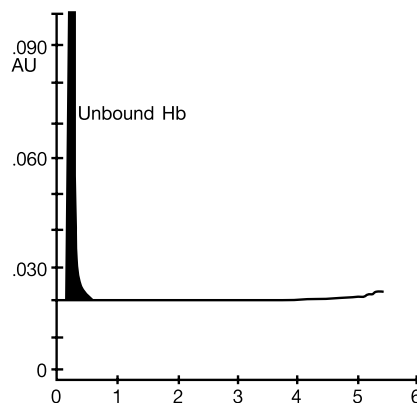
ทารกเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือหลังคลอดเล็กน้อย ทารกมีอาการซีด บวม รกใหญ่ ตับและม้ามโต ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีดังนี้

- ผลการตรวจ Hb typing พบเฉพาะ Hb Portland และ Hb Bart's ไม่พบ Hb F และ Hb A เนื่องจากผู้ป่วยไม่สามารถสร้าง  $\alpha$ -globin chain ได้ (รูปที่ 7 และ 8)

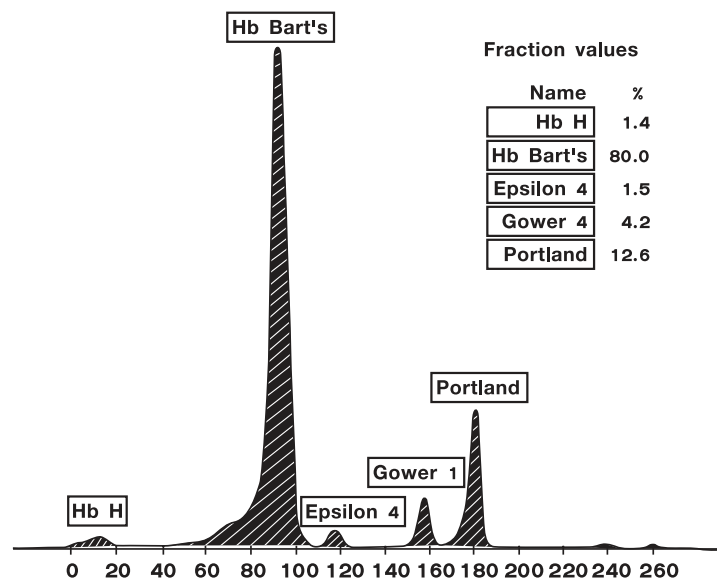
- MCV ~ 110-190 fL<sup>(4)</sup>

- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติทั้งขนาดและรูปร่าง โดยมีลักษณะ hypochromic, macrocytosis, พบ target cell และ anisopoikilocytosis พบเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนหลายระยะ ทั้ง orthochromatic, polychromatic และ basophilic normoblast เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 9)

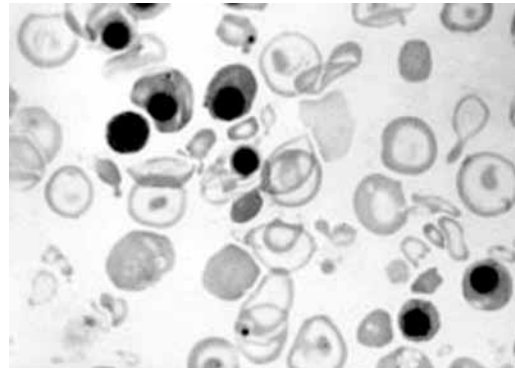
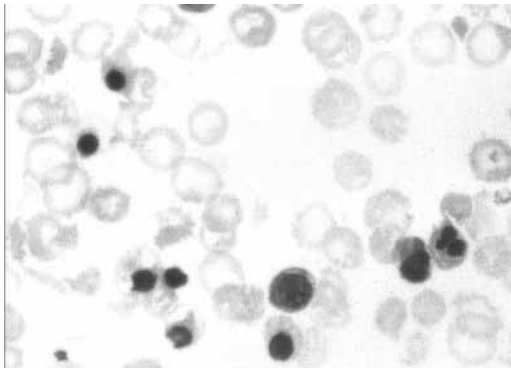
| ANALYTE ID | %          | TIME | AREA |
|------------|------------|------|------|
|            | TOTAL AREA |      | 0    |
| F          | 0.0%       | A2   | 0.0% |



รูปที่ 7 Chromatogram ของ Hb Bart's hydrops fetalis เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC<sup>(6)</sup>



รูปที่ 8 Chromatogram ของ Hb Bart's hydrops fetalis เมื่อแยกด้วยวิธี CE<sup>(7)</sup>



รูปที่ 9 Blood smear ของเด็กที่เป็น Hb Bart's hydrops fetalis พบ hypochromic, macrocytic, anisopoikilocytosis และ erythroblastosis<sup>(8, 9)</sup>

## 2. Hb H disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 / $\alpha$ -thalassemia 2)<sup>(2-6)</sup>

ผู้ป่วยกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ซีดเล็กน้อย ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของกระดูกใบหน้า ม้ามไม่โตหรือโตเพียงเล็กน้อย ผู้ป่วยส่วนใหญ่ร้อยละ 80 ระดับ Hb มากกว่า 7 g/dL ที่เหลือส่วนใหญ่มีอาการปานกลาง และส่วนน้อยมีอาการรุนแรงจนได้รับเลือดบ่อยๆ

- ผลการตรวจ Hb typing พบ  $A_2A$  Bart's H หรือ  $A_2A$  H โดยมี Hb  $A_2$  ต่ำกว่าปกติ

- Hb ~ 9 - 11 g/dL

- MCV ~ 60 - 70 fL

- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงมีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาด และรูปร่าง โดยมีลักษณะ hypochromic, microcytosis, anisopoikilocytosis, พบ target cell และ fragmented red cell (รูปที่ 10)

- ตรวจพบเม็ดเลือดแดงที่มี inclusion body ร้อยละ 30 - 90

## 3. Hb H-CS disease ( $\alpha$ -thalassemia 1/ Hb CS)<sup>(2-6)</sup>

ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอาการคล้าย Hb H disease แต่รุนแรงกว่า ผู้ป่วยบางรายมีอาการรุนแรงมากคล้าย  $\beta$ -thalassemia major คือ ซีดมากเรื้อรัง ต้องรับเลือดบ่อยและม้ามโต

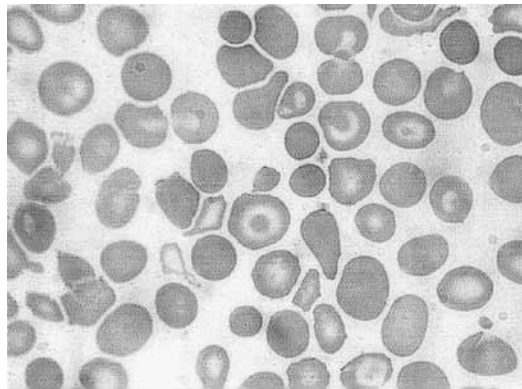
- ผลการตรวจ Hb typing : CS  $A_2A$  Bart's H

- Hb ~ 8 - 10 g/dL

- MCV ~ 70 - 80 fL

- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงมีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง โดยพบความผิดปกติมากกว่ากลุ่ม Hb H disease

- ตรวจพบเม็ดเลือดแดงที่มี inclusion body ร้อยละ 30 - 90



รูปที่ 10 Blood smear ของผู้ป่วย Hb H disease พบ hypochromic, microcytosis, anisopoikilocytosis, target cell และ fragmented red cell

## ตัวอย่างที่ 15

**Hb H disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 /  $\alpha$ -thalassemia 2)**

Age.....27.....years

Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...5.72...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...9.7... g/dL, Hct = ...31.6...%, MCV = ...55.2... fL,

MCH = ...17.0... pg, MCHC = ...30.7... g/dL, RDW-CV = ...25.0...%

Hb-analysis.....HPLC.....

| Peak Name | Calibrated Area% | Area% | Retention Time (min.) | Peak Area |
|-----------|------------------|-------|-----------------------|-----------|
| F         | 0.9              | ---   | 1.10                  | 19585     |
| Unknow    | ---              | 1.0   | 1.20                  | 23476     |
| P2        | ---              | 3.0   | 1.29                  | 70975     |
| P3        | ---              | 2.6   | 1.65                  | 62523     |
| A0        | ---              | 90.1  | 2.45                  | 2131270   |
| A2        | 1.8*             | ---   | 3.62                  | 47530     |
| C-window  | ---              | 0.4   | 4.94                  | 9715      |

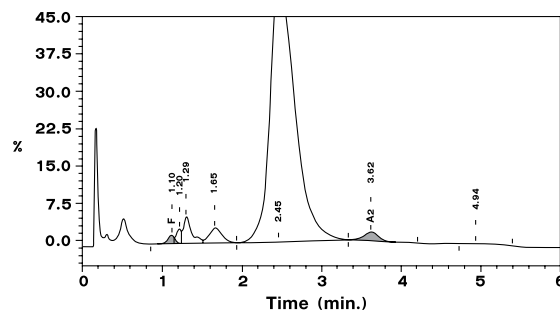
Total Area : 2,365,074

F Concentration = 0.9 %

A2 Concentration = 1.8\* %

Analysis comments:

\*Values outside of expected ranges

Hb-type : .....  $A_2A$  Bart's H .....Hb  $A_2$  = .....1.8.....%      Hb E = .....-..... %

Hb F = .....0.9.....%

Other Hb = .....-.....

Interpretation ..... Hb H disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 /  $\alpha$ -thalassemia 2) .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 16

**Hb H-CS disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 / Hb Constant Spring)**

Age.....16.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

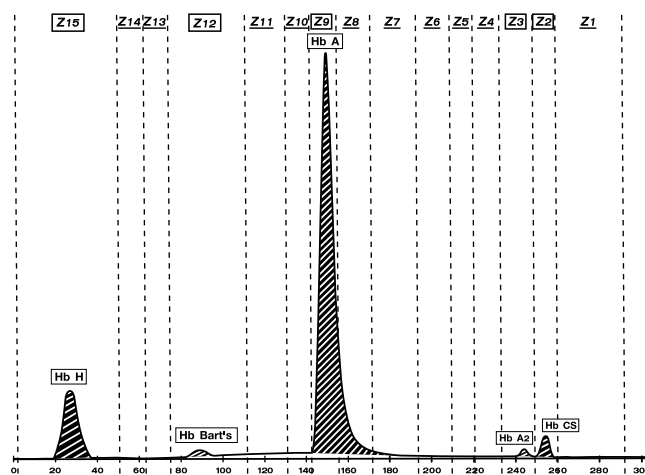
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...5.27...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...10.4... g/dL, Hct = ...39.0... %, MCV = ...74.0... fL,

MCH = ...19.7... pg, MCHC = ...26.7...g/dL, RDW-CV = ...20.7...%

Hb-analysis.....CE.....

**Hemoglobin Electrophoresis**

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb H              | 14.0 |        |
| Hb Bart's         | 1.5  |        |
| Hb A              | 81.8 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 0.6  |        |
| Hb CS             | 2.1  |        |

Hb-type : ..... Constant Spring A<sub>2</sub>A Bart's H.....Hb A<sub>2</sub> = .....0.6.....%      Hb E = .....-.....%

Hb F = .....-.....%

Other Hb = .....Hb CS = 2.1 %, Hb Bart's = 1.5 %, Hb H = 14.0 %.....

Interpretation .....Hb H-CS disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 / Hb Constant Spring).....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

#### 4. EA Bart's disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 / $\alpha$ -thalassemia 2 with Hb E trait)<sup>(2-6)</sup>

ผู้ป่วยกลุ่มนี้อาการไม่รุนแรงมาก ซีดเล็กน้อย ตาเหลือง คล้ายผู้ป่วย Hb H disease

- ผลการตรวจ Hb typing : EA Bart's
- Hb E ~ ร้อยละ 13 - 17
- Hb Bart's ~ ร้อยละ 2 - 6
- Hb ~ 6 - 9 g/dL
- MCV ~ 60 - 70 fL
- OF positive
- DCLP positive
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดง มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง คล้ายผู้ป่วย Hb H disease
- พบเม็ดเลือดแดงที่มี inclusion body ร้อยละ 5 - 6

#### 5. CS EA Bart's disease ( $\alpha$ -thalassemia 1 / Hb CS with Hb E trait)<sup>(2-6)</sup>

ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอาการคล้าย EA Bart's disease แต่รุนแรงกว่า

- ผลการตรวจ Hb typing : CS EA Bart's
- Hb ~ 6 - 8 g/dL
- MCV ~ 60 - 75 fL
- OF positive / DCIP positive
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดง มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง คล้ายผู้ป่วย Hb H disease
- พบเม็ดเลือดแดงที่มี inclusion body ร้อยละ 5 - 6



## ตัวอย่างที่ 17

## EA Bart's disease

Age.....30.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

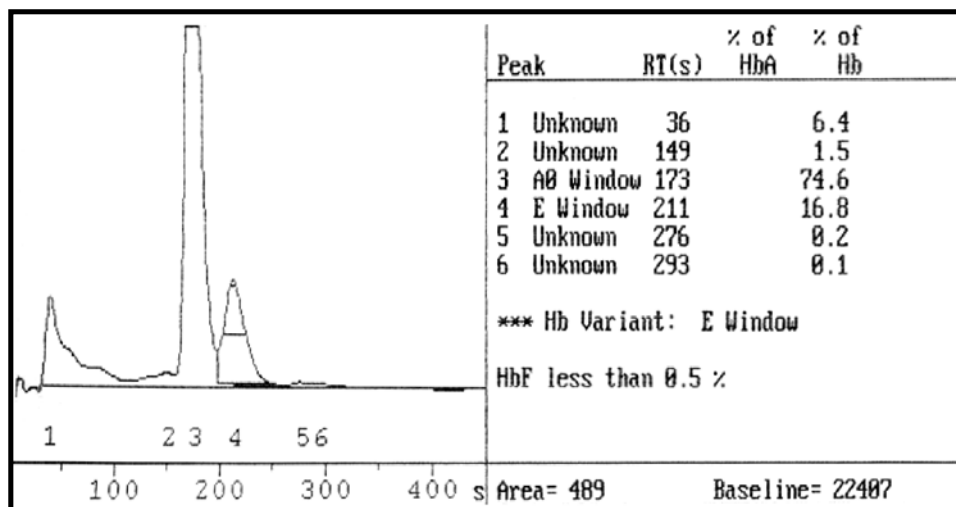
DCIP-test : .....weakly positive.....

RBC parameters

RBC = ...6.23...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...9.4... g/dL, Hct = ...29.2... %, MCV = ...46.9... fL,

MCH = ...15.1... pg, MCHC = ...32.2...g/dL, RDW-CV = ...22.7...%

Hb-analysis.....LPLC.....



Hb-type : ..... EA Bart's .....

Hb A<sub>2</sub> = .....-% Hb E = .....16.8.....%

Hb F = .....&lt; 0.5.....%

Other Hb = .....Hb Bart's = 6.4 %.....

Interpretation .....EA Bart's disease.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 18

## CS EA Bart's disease

Age.....16.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

DCIP-test : .....weakly positive.....

RBC parameters

RBC = ...5.5...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...8.8... g/dL, Hct = ...29.9... %, MCV = ...54.4... fL,

MCH = ...16.0... pg, MCHC = ...29.4...g/dL, RDW-CV = ...21.9... %

Hb-analysis.....HPLC.....

| Peak Name | Calibrated Area% | Area% | Retention Time (min.) | Peak Area |
|-----------|------------------|-------|-----------------------|-----------|
| F         | 5.1              | ---   | 1.12                  | 99407     |
| P2        | ---              | 2.9   | 1.28                  | 58736     |
| P3        | ---              | 3.1   | 1.62                  | 63613     |
| A0        | ---              | 72.0  | 2.49                  | 1468646   |
| A2        | 14.4*            | ---   | 3.67                  | 308902    |
| Unknow    | ---              | 0.4   | 4.61                  | 8944      |
| C-window  | ---              | 1.2   | 4.93                  | 23530     |
| Unknow    | ---              | 0.4   | 5.11                  | 8691      |

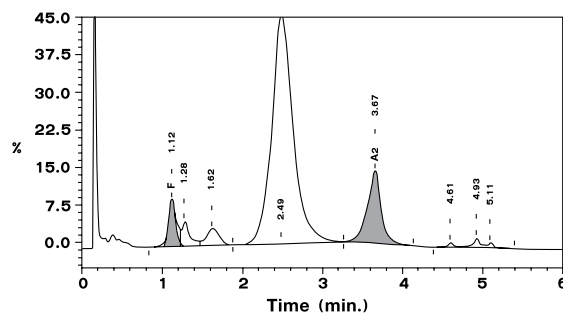
Total Area : 2,040,468

F Concentration = 5.1\* %

A2 Concentration = 14.4\* %

Analysis comments:

\*Values outside of expected ranges



Hb-type : ..... Constant Spring EA Bart's .....

Hb A<sub>2</sub> = .....-% Hb E = .....14.4.....%

Hb F = .....5.1.....%

Other Hb = .....-

Interpretation ..... CS EA Bart's disease .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 19

## CS EA Bart's disease

Age.....27.....years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

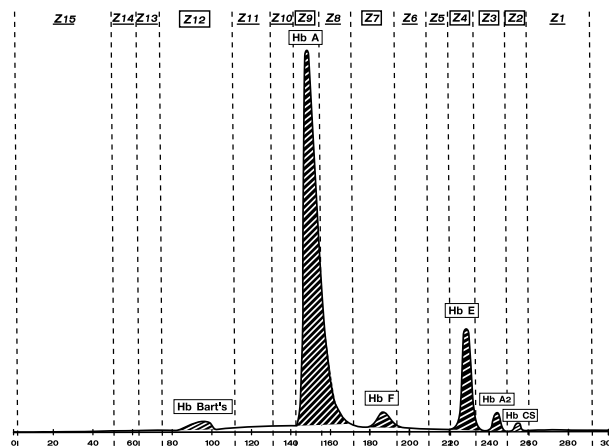
DCIP-test : .....weakly positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.57...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...8.0... g/dL, Hct = ...27.1...%, MCV = ...59.3... fL,

MCH = ...17.5... pg, MCHC = ...29.5...g/dL, RDW-CV = ...24.5...%

Hb-analysis.....CE.....



Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb Bart's         | 3.1  |        |
| Hb A              | 77.7 |        |
| Hb F              | 3.4  |        |
| Hb E              | 12.4 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 2.2  |        |
| Hb CS             | 1.2  |        |

Hb-type : ..... Constant Spring EA Bart's.....

Hb A<sub>2</sub> = ...2.2...% Hb E = ...12.4...% [Hb A<sub>2</sub> + Hb E = ...14.6...%]

Hb F = ...3.4...%

Other Hb = .....Hb CS = 1.2 %, Hb Bart's = 3.1 %.....

Interpretation .....CS EA Bart's disease.....

Note

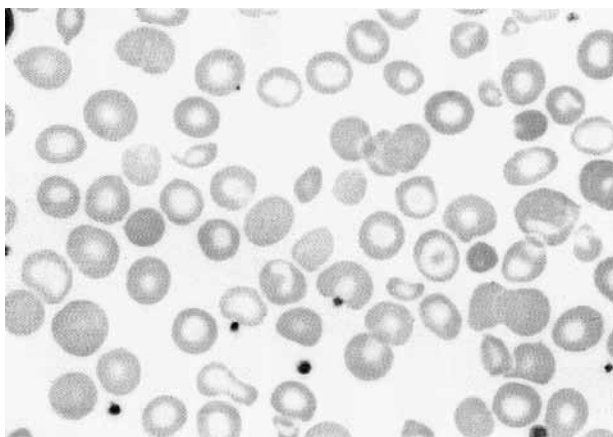
\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## 6. Homozygous $\beta^0$ -thalassemia disease<sup>(2-6)</sup>

ผู้ป่วยกลุ่มนี้ส่วนใหญ่อาการรุนแรงมาก โดยจะเริ่มมีอาการตั้งแต่วัยทารกในขวบปีแรก ผู้ป่วยจะซีดมาก ต้องรับเลือดเป็นประจำ ตาเหลือง ตับและม้ามโต หน้าผากสูง ตาห่าง โหนกแก้มสูง

- เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยกลุ่มนี้ไม่สามารถสร้าง Hb A ได้เลย
- ผลการตรวจ Hb typing : A<sub>2</sub>F, ไม่พบ Hb A เลย
- Hb A<sub>2</sub> ~ ร้อยละ 2 - 6
- Hb F ~ ร้อยละ 70 - 90
- Hb 3 - 6 g/dL
- MCV 55 - 65 fL
- OF positive
- DCIP negative

- ผลการตรวจ blood smear พบว่าเม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลงต่างจากของคนปกติมาก ทั้งขนาดและรูปร่าง มี hypochromia มาก มักพบเม็ดเลือดแดงหลายรูปร่างทั้ง microspherocyte, target cell, tear drop, ovalocyte รวมถึงรูปร่างอื่นๆ และเศษของเม็ดเลือดแดงพบเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนมีจำนวนเพิ่มขึ้น และพบ basophilic stippling ในเม็ดเลือดแดง (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 Blood smear ของผู้ป่วย Homozygous  $\beta^0$ -thalassemia ที่ยังไม่ตัดม้าม

ผู้ป่วยที่ตัดม้ามแล้วเม็ดเลือดแดงจะมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้น มีจำนวนเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนมากขึ้น พบเม็ดเลือดแดงที่มีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 12)

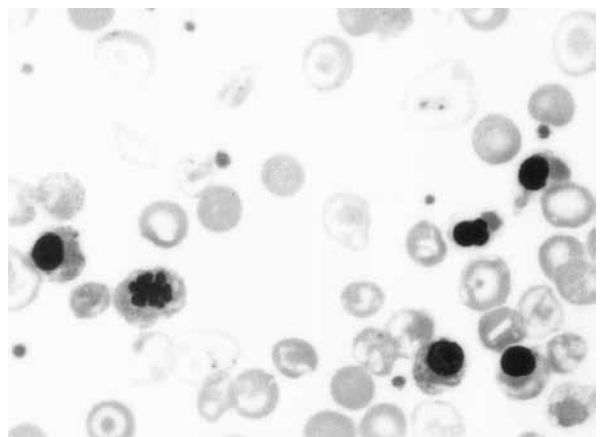
## 7. Homozygous $\beta^+$ -thalassemia หรือ $\beta^0$ -thalassemia/ $\beta^+$ -thalassemia<sup>(2-6)</sup>

เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยกลุ่มนี้สามารถสร้าง Hb A ได้บ้าง ผู้ป่วยจึงมีอาการรุนแรงน้อยกว่า Homozygous  $\beta^0$ -thalassemia

- ผลการตรวจ Hb typing : A<sub>2</sub>FA
- Hb A<sub>2</sub> ~ ร้อยละ 2 - 6
- Hb F ~ ร้อยละ 20 - 70
- Hb A เล็กน้อย
- Hb 6 - 8 g/dL
- MCV ~ 60 - 65 fL
- OF positive / DCIP negative

- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดงมีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง ตรวจพบเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน (nucleated red cell) โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ตัดม้ามจะพบเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนมาก

- ไม่พบ inclusion body ในเม็ดเลือดแดง



รูปที่ 12 Blood smear ของผู้ป่วย Homozygous  $\beta^+$ -thalassemia ที่ได้รับการตัดม้ามแล้ว

## ตัวอย่างที่ 20

**Homozygous  $\beta$ -thalassemia with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....20.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

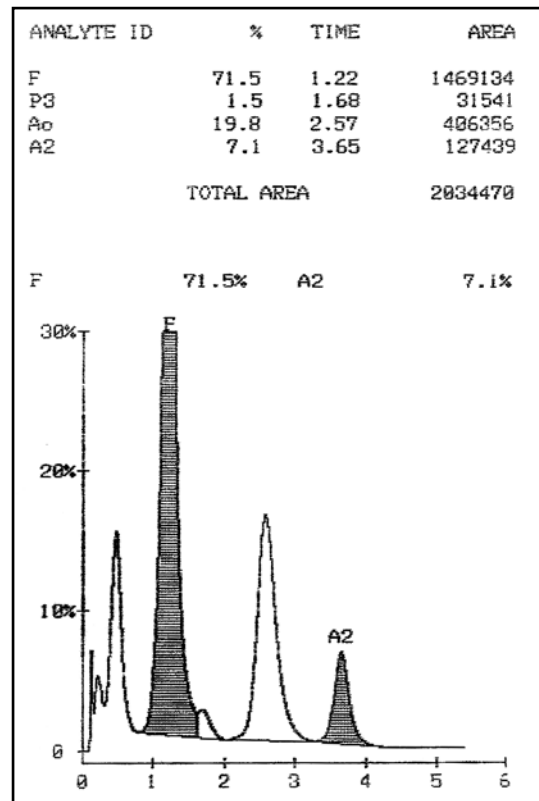
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

Hb = .....12..... g/dL, Hct = ...36...%, MCV = ...56... fL,

MCH = ...18.7... pg, MCHC = ...33.1... g/dL

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>FA.....Hb A<sub>2</sub> = .....7.1..... % Hb E = .....-.....%

Hb F = .....71.5..... %

Other Hb = .....-.....

Interpretation .....Homozygous  $\beta$ -thalassemia \*\*\* with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

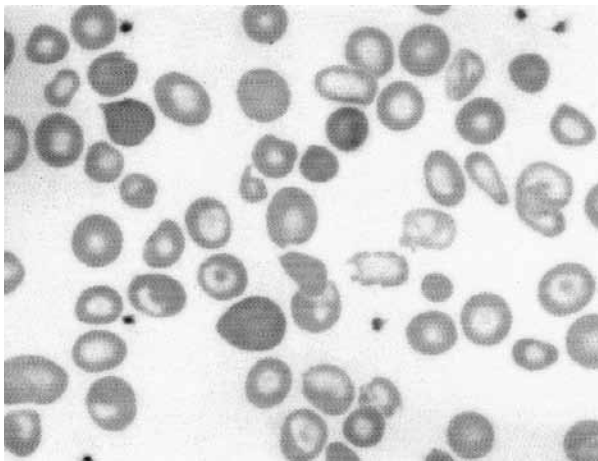
Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

### 8. $\beta^0$ -thalassemia / Hb E<sup>(2-6)</sup>

เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยกลุ่มนี้ไม่สามารถสร้าง Hb A ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินปกติได้เลย ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอาการรุนแรง ต้องรับเลือดเป็นประจำ ตาเหลือง ตับและม้ามโต โครงร่างของใบหน้าและกระดูกศีรษะเปลี่ยนแปลง กระดูกเปราะบาง หักง่าย เจริญเติบโตไม่สมอายุ

- ผลการตรวจ Hb typing : EF, ไม่พบ Hb A
  - Hb E ~ ร้อยละ 40 - 80
  - Hb F ~ ร้อยละ 20 - 60
  - Hb 4 - 10 g/dL
  - MCV 60 - 75 fL
  - OF positive
  - DCIP positive
  - ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดง มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง คล้ายกับที่พบในผู้ป่วย Homozygous  $\beta^0$ -thalassemia โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ตัดม้ามแล้วจะพบเม็ดเลือดแดงรูปร่างแปลก ๆ เพิ่มขึ้น พบเม็ดเลือดแดงที่มีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้น และพบเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนมาก
- (รูปที่13)



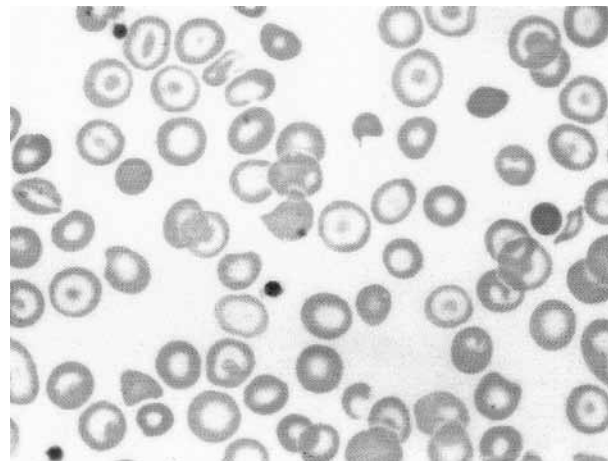
รูปที่ 13 Blood smear ของผู้ป่วย  $\beta^0$ -thalassemia / Hb E พบ hypochromic และ anisopoikilocytosis

### 9. $\beta^+$ -thalassemia / Hb E<sup>(2-6)</sup>

เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยกลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์ Hb A ได้บ้าง ผู้ป่วยจึงมีอาการรุนแรงน้อยกว่า  $\beta^0$ -thalassemia / Hb E

- ผลการตรวจ Hb typing : EFA, พบ Hb A เล็กน้อย
- Hb 8 - 11 g/dL
- MCV 60 - 75 fL
- OF positive
- DCIP positive
- ผลการตรวจ blood smear พบเม็ดเลือดแดง มีการเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง คล้ายกับผู้ป่วย  $\beta^0$ -thalassemia / Hb E แต่มีความผิดปกติน้อยกว่า

(รูปที่14)



รูปที่ 14 Blood smear ของผู้ป่วย  $\beta^+$ -thalassemia / Hb E พบ hypochromic และ anisopoikilocytosis

## ตัวอย่างที่ 21

 $\beta^0$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....5.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...3.28...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...6.1... g/dL, Hct = ...19.9...%, MCV = ...60.7... fL,

MCH = ...18.6... pg, MCHC = ...30.7... g/dL, RDW-CV = ...32.3...%

Hb-analysis.....HPLC.....

| Peak Name | Calibrated Area% | Area% | Retention Time (min.) | Peak Area |
|-----------|------------------|-------|-----------------------|-----------|
| F         | 41.0*            | ---   | 1.19                  | 721366    |
| P3        | ---              | 1.9   | 1.72                  | 35221     |
| A0        | ---              | 1.5   | 2.21                  | 27802     |
| A2        | 53.3*            | ---   | 3.76                  | 1053452   |

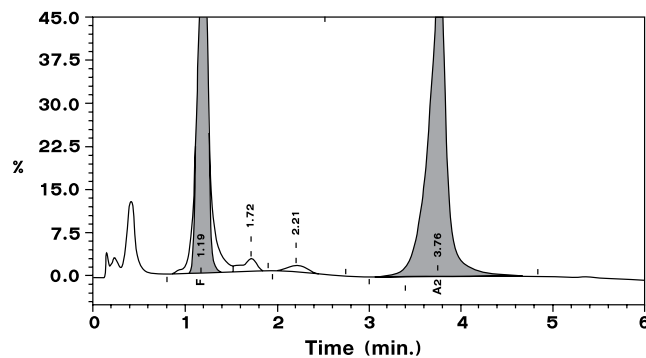
Total Area : 1,837,841

F Concentration = 41.0\* %

A2 Concentration = 53.3\* %

Analysis comments:

\*Values outside of expected ranges



Hb-type : ..... EF .....

Hb A<sub>2</sub> = .....% Hb E = ...53.3...%

Hb F = ...41.0...%

Other Hb = .....-.....

Interpretation ..... $\beta^0$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 22

### $\beta^0$ -thalassemia / Hb E with or without $\alpha$ -thalassemia

Age.....20.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

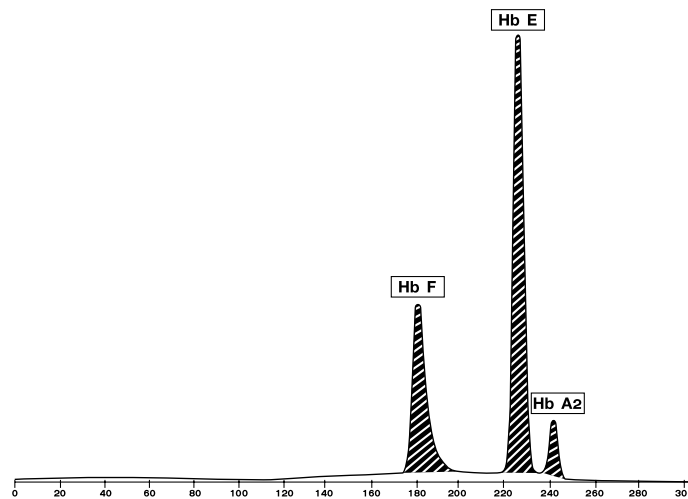
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.42...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...9.2... g/dL, Hct = ...30.2...%, MCV = ...68.4... fL,

MCH = ...20.9... pg, MCHC = ...30.6... g/dL, RDW-CV = ...30.5...%

Hb-analysis.....CE.....



**Hemoglobin Electrophoresis**

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb F              | 31.9 |        |
| Hb E              | 61.3 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 6.8  |        |

Hb-type : ..... EF .....

Hb A<sub>2</sub> = ...6.8..... %    Hb E = ...61.3...% [ Hb A<sub>2</sub> + Hb E = ...68.1...% ]

Hb F = ...31.9.... %

Other Hb = ..... - .....

Interpretation ..... $\beta^0$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 23

 $\beta^+$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....10.....years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : ..... positive.....

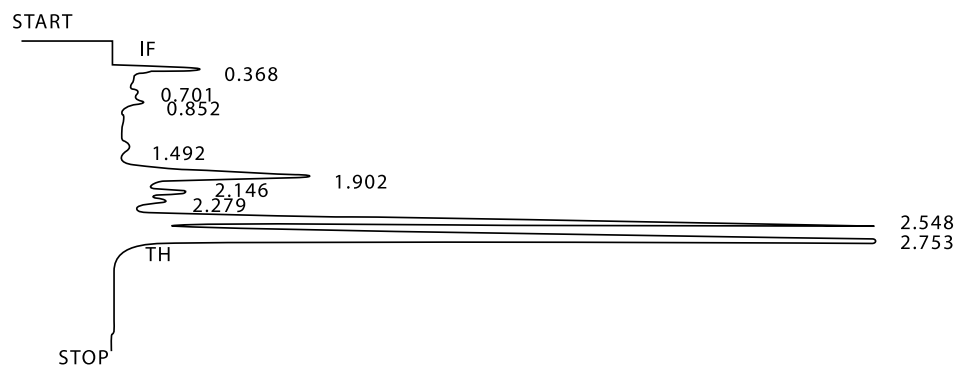
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...5.19...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...10.1... g/dL, Hct = ...31.1...%, MCV = ...60.0... fL,

MCH = ...19.5... pg, MCHC = ...32.6...g/dL, RDW-CV = ...23.8....%

Hb-analysis.....HPLC.....



| Closing NUM | signal RT | file | M-SIGNAL REL | RT    | .BNC WIDTH | FFE : | C I MEN   |
|-------------|-----------|------|--------------|-------|------------|-------|-----------|
| 1           | .368      | RT   | F            | .198  | .072       | 2     |           |
| 2           | .701      | RT   | F            | .377  | .102       | .5    |           |
| 3           | .852      | RT   | F            | .458  | .096       | .8    |           |
| 4           | 1.492     | RT   | F            | .803  | .163       | .7    |           |
| 5           | 1.902     | RT   | F            | 1.023 | .144       | 11.9  | F Peak    |
| 6           | 2.146     | RT   | F            | 1.154 | .103       | 3.0   |           |
| 7           | 2.279     | RT   | F            | .909  | .100       | 2.3   |           |
| 8           | 2.548     | RT   | F            | 1.017 | .078       | 25.5  | A0 Peak 2 |
| 9           | 2.753     | RT   | F            | 1.099 | .096       | 52.8  | 3         |

Hb-type : ..... EFA .....

Hb A<sub>2</sub> = .....% Hb E = ...52.8...%

Hb F = ...11.9....%

Other Hb = .....%

Interpretation ..... $\beta^+$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\* .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 24

 $\beta^+$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....25.....years

Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

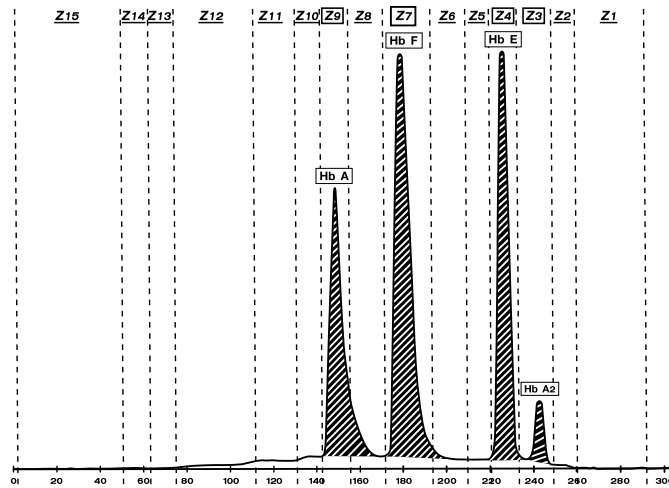
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...7.16...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...13.1... g/dL, Hct = ...42.4... %, MCV = ...59.2... fL,

MCH = ...18.3... pg, MCHC = ...30.9...g/dL, RDW-CV = ...18.8...%

Hb-analysis.....CE.....



## Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb A              | 27.1 |        |
| Hb F              | 41.7 |        |
| Hb E              | 27.6 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 3.7  |        |

Hb-type : ..... EFA .....

Hb A<sub>2</sub> = ...3.7.....% Hb E = ...27.6... % [ Hb A<sub>2</sub> + Hb E = ...31.3...%]

Hb F = ...41.7.....%

Other Hb = ...-.....

Interpretation ..... $\beta^+$ -thalassemia / Hb E with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## การแปลผลการตรวจวินิจฉัย ฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบไม่บ่อย ในคนไทย

กรณีพบฮีโมโกลบินผิดปกติที่นอกเหนือจาก Hb E และ Hb CS ไม่ควรรายงานชนิดของฮีโมโกลบิน เนื่องจากฮีโมโกลบินผิดปกติหลายชนิดมีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน ไม่สามารถวินิจฉัยแยกกันได้ โดยการตรวจ Hb Typing ไม่ว่าจะเป็นเครื่อง HPLC, LPLC หรือ CE ดังนั้นเมื่อตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบไม่บ่อยจึงควรรายงานเพียงว่าได้ตรวจพบ Abnormal Hb เท่านั้น (suspected abnormal Hb) หากต้องการทราบชนิดของความผิดปกติจะต้องตรวจยืนยันโดยการวิเคราะห์ DNA<sup>(10)</sup>



## ตัวอย่างที่ 25

**Hb S trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....44.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

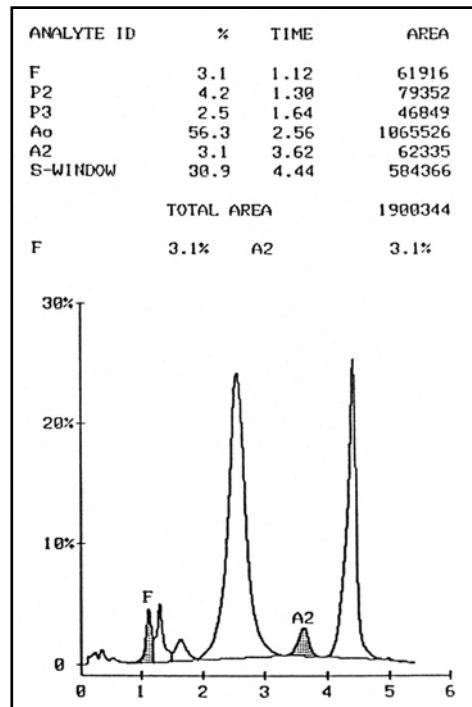
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = .....2.9....  $\times 10^{12}/L$ , Hb = .....7..... g/dL, Hct = .....21.....%, MCV = ....72... fL,

MCH = .....23.... pg, MCHC = ...32... g/dL, RDW-CV = .....16.....%

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at S window .....Hb A<sub>2</sub> = .....3.1.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....3.1.....%

Other Hb = .....abnormal Hb at S window = 30.9 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis: positive for Hb S

Interpretation ..... Hb S trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\* .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 26

Hb S trait with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....44.....years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

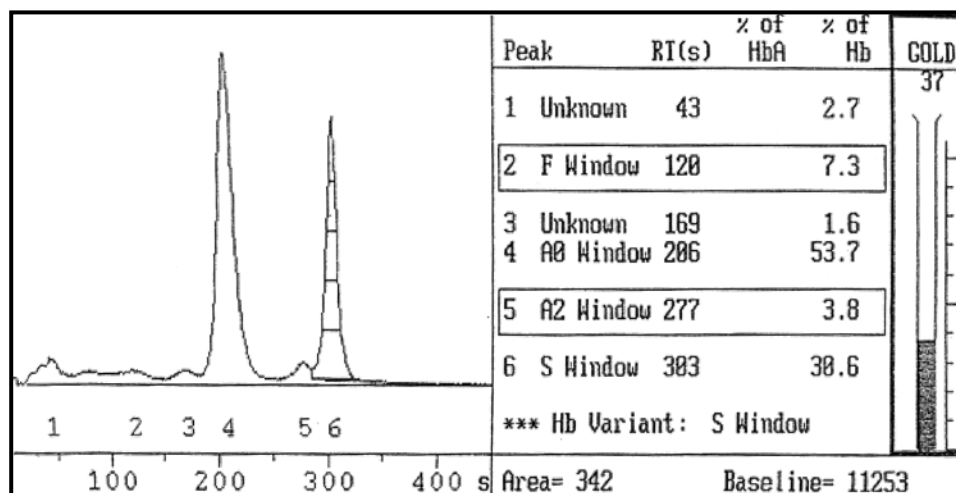
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = .....2.9....  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ....7... g/dL, Hct = ....21...%, MCV = ....72... fL,

MCH = .....23.... pg, MCHC = ...32... g/dL, RDW-CV = .....16.....%

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : .....  $A_2A$  with abnormal Hb at S window .....Hb  $A_2$  = .....3.8.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....7.3.....%

Other Hb = .....abnormal Hb at S window = 30.6 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis: positive for Hb S

Interpretation ..... Hb S trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 27

**Hb G-Makassar trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....19.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

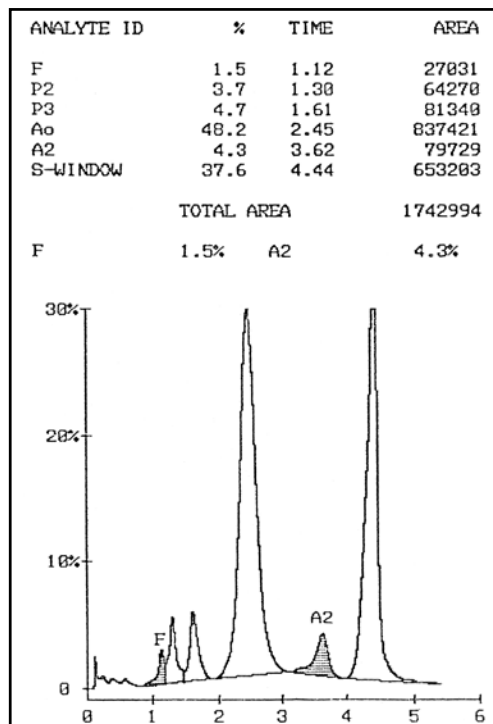
DCIP-test : .....negative.....

RB parameters

RBC = .....4.2....  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...10.7... g/dL, Hct = ...32.4...%, MCV = ....76... fL,

MCH = .....25.1.... pg, MCHC = ...33.2... g/dL, RDW-CV = .....14.2.....%

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at S window .....Hb A<sub>2</sub> = .....4.3.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....1.5.....%

Other Hb = .....abnormal Hb at S window = 37.6 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis: positive for Hb G-Makassar

Interpretation ..... Hb G-Makassar trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 28

Hb G-Makassar trait with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....19.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

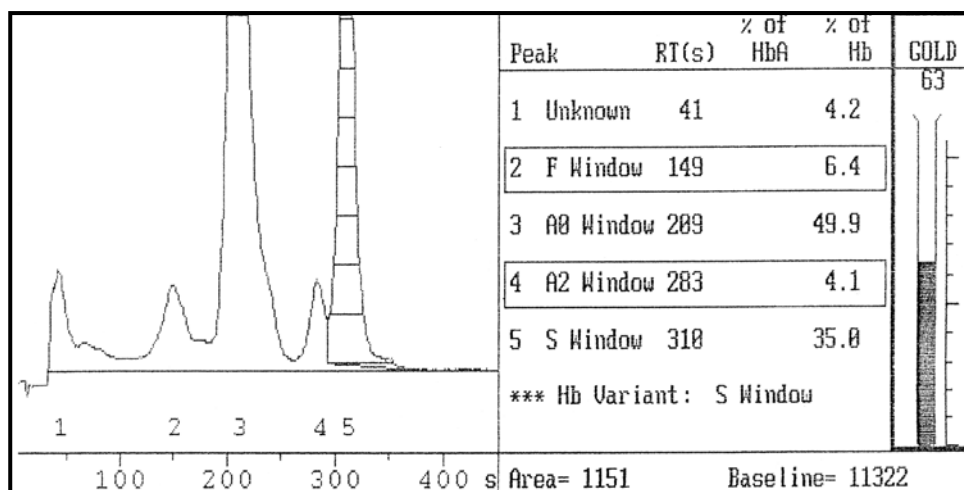
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = .....4.2....  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ....10.7.. g/dL, Hct = ...32.4..%, MCV = ....76... fL,

MCH = .....25.1.... pg, MCHC = ...33.2... g/dL, RDW-CV = .....14.2.....%

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at S window .....Hb A<sub>2</sub> = .....4.1.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....6.4.....%

Other Hb = .....abnormal Hb at S window = 35.0 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis: positive for Hb G-Makassar

Interpretation ..... Hb G-Makassar trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 29

**Hb Tak trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....26.....years Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....negative.....

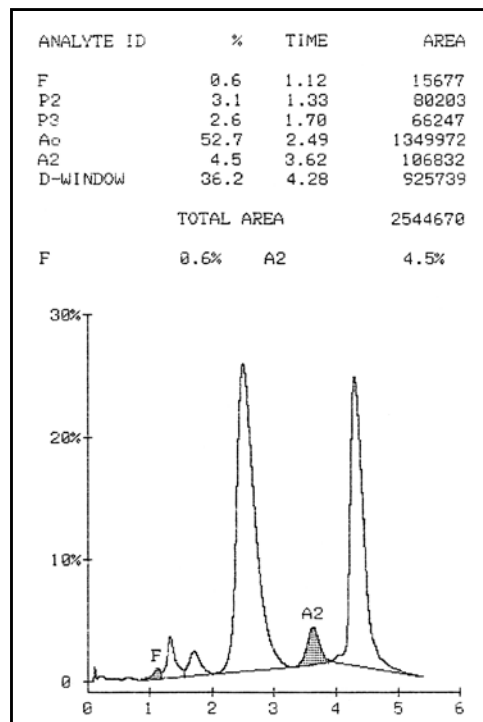
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

Hb = .....17.2... g/dL, Hct = .....49.....%, MCV = ....85.3... fL,

MCH = ...29.8... pg, MCHC = ...35... g/dL

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A $_2$ A with abnormal Hb at D window .....Hb A $_2$  = .....4.5.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....0.6.....%

Other Hb = .....abnormal Hb at D window = 36.2 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis: positive for Hb Tak

Interpretation ..... Hb Tak trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 30

**Hb Tak trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....26.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

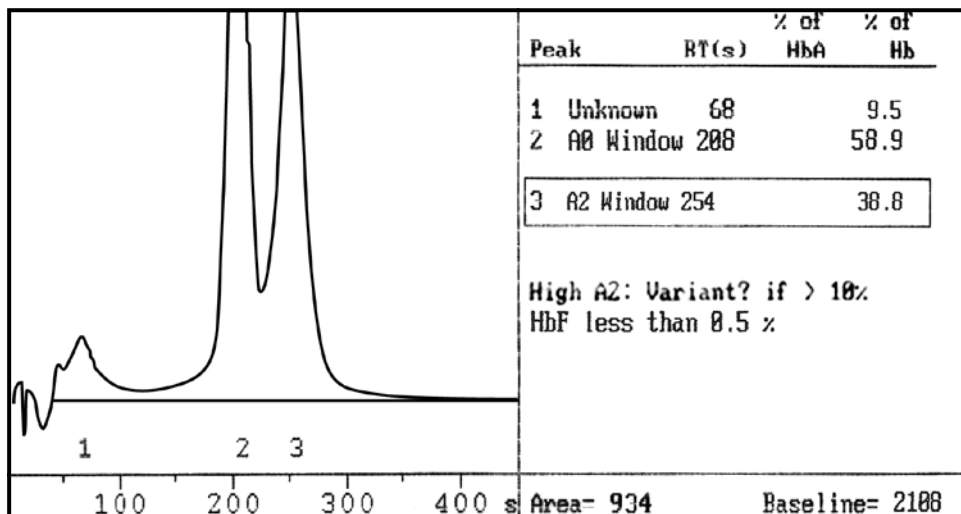
DCIP-test : .....weakly positive.....

RBC parameters

RBC = ...6.2...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...16.5... g/dL, Hct = ...49.0...%, MCV = ...78.7... fL,

MCH = ...26.3... pg, MCHC = ...33.3...g/dL, RDW-CV = ...21.9...%

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : ..... A with abnormal Hb at A<sub>2</sub> window .....Hb A<sub>2</sub> = .....38.8.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....&lt; 0.5.....%

Other Hb = .....-.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis: positive for Hb Tak

Interpretation ..... Hb Tak trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 31

## Hb Q-Thailand trait

Age.....35.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

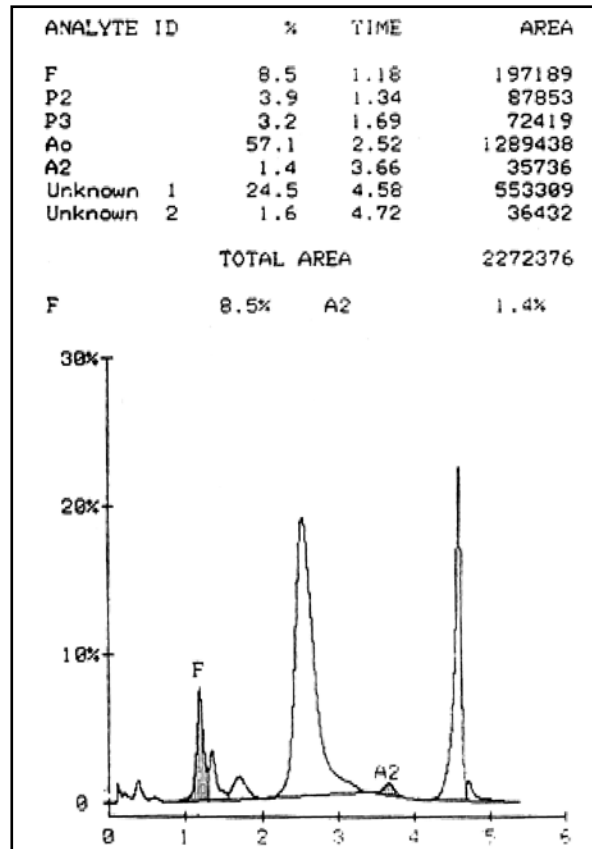
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = ...5.58...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...14.3... g/dL, Hct = ...44.0...%, MCV = ...79.0... fL,

MCH = ...25.7... pg, MCHC = ...32.6... g/dL

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb (Unknown 1).....Hb A<sub>2</sub> = .....1.4.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....8.5.....%

Other Hb = ..... abnormal Hb (Unknown 1)= 24.5 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (alpha chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb Q-Thailand

Interpretation ..... Hb Q-Thailand trait .....

## ตัวอย่างที่ 32

## Hb Q-Thailand trait

Age.....29.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

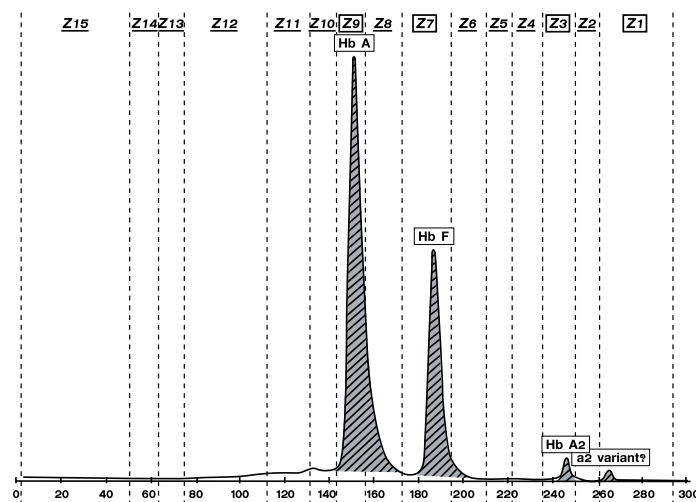
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...5.58...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...13.3... g/dL, Hct = ...42.0...%, MCV = ...75.0... fL,

MCH = ...23.9... pg, MCHC = ...31.8... g/dL, RDW-CV = ...12.5...%

Hb-analysis.....CE.....



## Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions               | %    | Ref. % |
|-------------------------|------|--------|
| Hb A                    | 67.9 |        |
| Hb F                    | 29.5 |        |
| Hb A <sub>2</sub>       | 1.8  |        |
| a <sub>2</sub> variant? | 0.8  |        |

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with 2 abnormal Hb at zone 1 and zone 7.....Hb A<sub>2</sub> = .....1.8.....% Hb E = .....-.....%

Hb F = .....29.5...% (but Hb F cell by acid elution test: negative)

Other Hb = ..... Hb A<sub>2</sub> variant = 0.8 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (alpha chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb Q-Thailand

Interpretation ..... Hb Q-Thailand trait .....

## ตัวอย่างที่ 33

Hb Siam trait with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....56.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

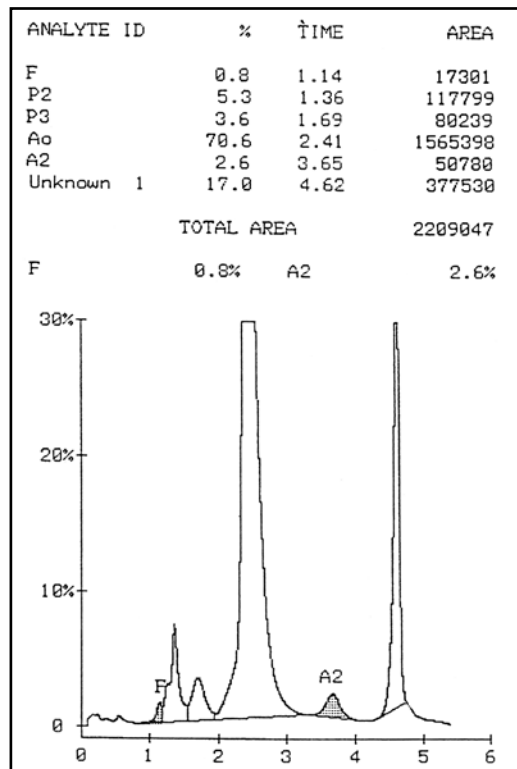
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

Hb = .....13.7... g/dL, MCV = ...90.0... fL, MCH = ...30.5... pg,

MCHC = ...33.9... g/dL, RDW-CV = ...16.0... %

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb (Unknown 1).....Hb A<sub>2</sub> = .....2.6..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....0.8..... %

Other Hb = ..... abnormal Hb (Unknown 1)= 17.0 %.....

Interpretation .....Suspected abnormal Hb trait (alpha chain variant) ...

Note DNA analysis : positive for Hb Siam

Interpretation ..... Hb Siam trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 34

**Hb Siam trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....29.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

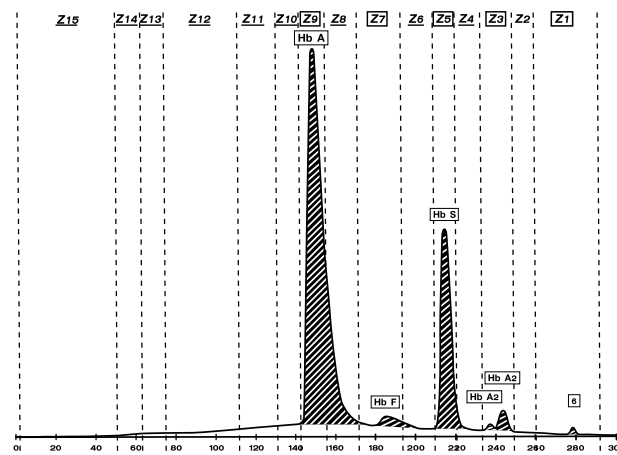
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = ...5.0...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...15.0... g/dL, Hct = ...43.2... %, MCV = ...85.5... fL,

MCH = ...30.0... pg, MCHC = ...30.0... g/dL

Hb-analysis.....CE.....

**Hemoglobin Electrophoresis**

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb A              | 73.1 |        |
| Hb F              | 2.2  |        |
| Hb S              | 22.6 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 0.2  |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 1.4  |        |
| 6                 | 0.5  |        |

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with 3 abnormal Hb at zone 1, zone 3 and zone 5.....Hb A<sub>2</sub> = .....1.4..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....2.2..... %

Other Hb = ..abnormal Hb at zone 1, zone 3 and zone 5 = 0.5, 0.2 and 22.6 %..

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (alpha chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb Siam

Interpretation ..... Hb Siam trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\* .....\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 35

**Hb Hope trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....26.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

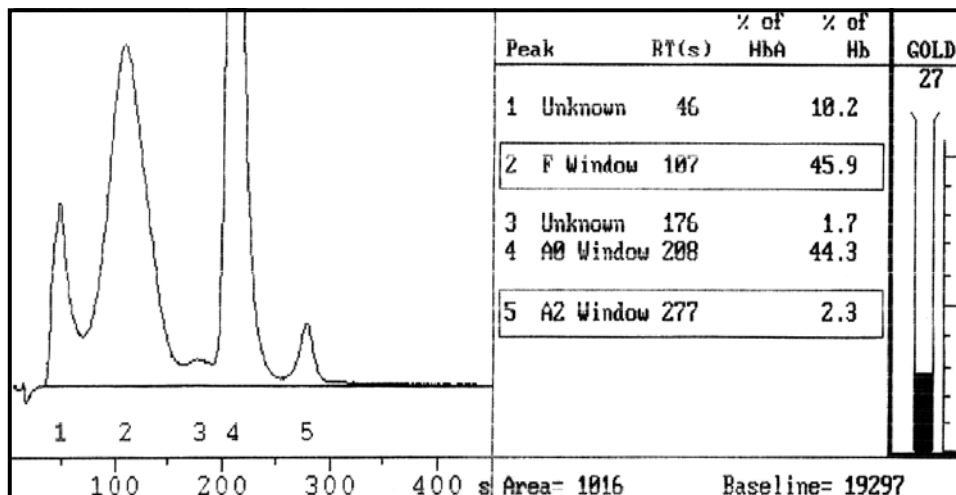
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = ...4.17...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...11.5... g/dL, Hct = ...41.4... %, MCV = ...99.3... fL,

MCH = ...27.6... pg, MCHC = ...27.8... g/dL, RDW-CV = ...20.4... %

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : .....  $A_2A$  with abnormal Hb at F window .....Hb  $A_2$  = .....2.3..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....45.9... % (but Hb F cell by acid elution test : negative)

Other Hb = .....-.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb Hope

Interpretation ..... Hb Hope trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 36

Hb Hope trait with  $\alpha$ -thalassemia 1

Age.....23.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

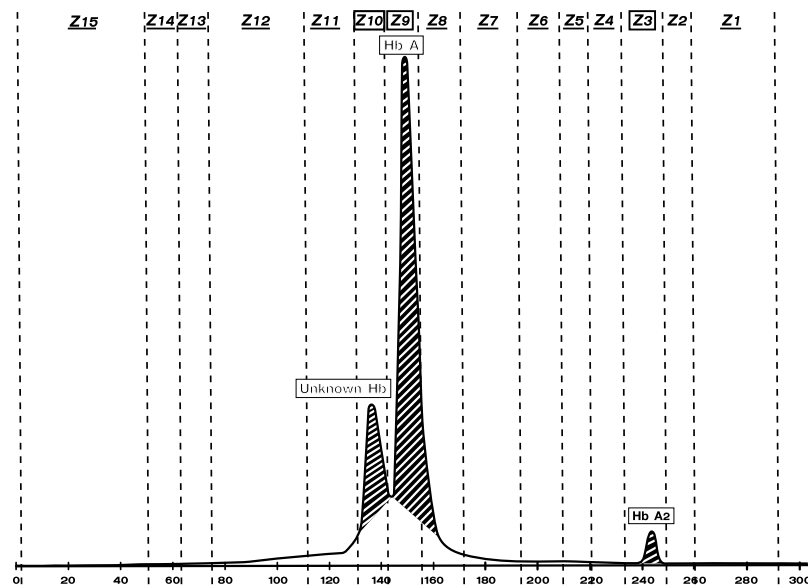
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = ...5.9...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...9.3... g/dL, Hct = ...31.1... % MCV = ...52.4... fL,

MCH = ...15.8... pg, MCHC = ...29.9... g/dL

Hb-analysis.....CE.....



## Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Unknown Hb        | 18.1 |        |
| Hb A              | 78.3 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 3.6  |        |

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at zone 10 .....Hb A<sub>2</sub> = .....3.6.....% Hb E = ..... %

Hb F = .....-%

Other Hb = ..... abnormal Hb at zone 10 = 18.1 %.....

Interpretation .....Suspected abnormal Hb (beta chain variant) with  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....Note DNA analysis : positive for Hb Hope and  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA deletion)Interpretation ..... Hb Hope trait with  $\alpha$ -thalassemia 1.....

## ตัวอย่างที่ 37

Hb C trait with  $\alpha$ -thalassemia

Age.....31.....years Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

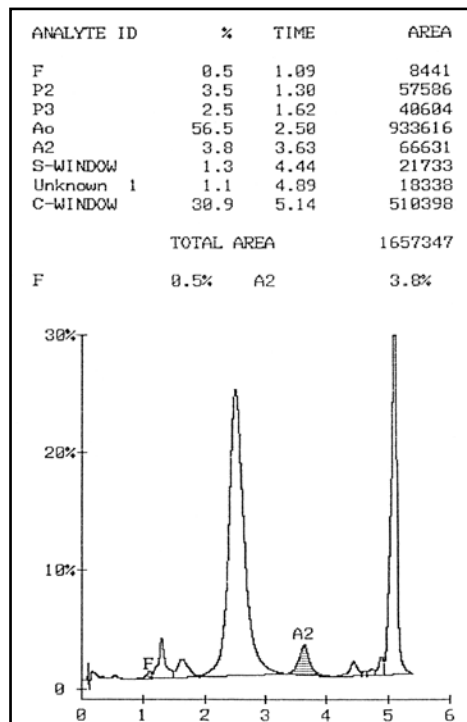
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...6.46...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...12.4... g/dL, Hct = ...38.4... %, MCV = ...59.4... fL,

MCH = ...19.2... pg, MCHC = ...32.3... g/dL, RDW-CV = ...12.9... %

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : .....  $A_2A$  with abnormal Hb at C window .....Hb  $A_2$  = .....3.8..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....0.5..... %

Other Hb = ..... abnormal Hb at C window = 30.9 %.....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb C

Interpretation ..... Hb C trait with  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 38

### Hb C trait with or without $\alpha$ -thalassemia

Age.....20.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

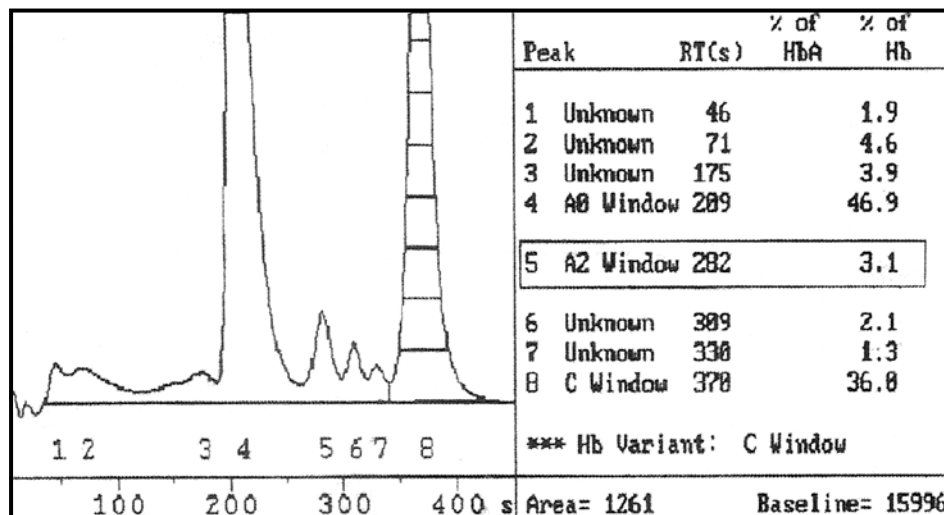
DCIP-test : .....negative.....

RBC parameters

RBC = ...3.45...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...11.1... g/dL, Hct = ...31.0... %, MCV = ...87.9... fL,

MCH = ...32.2... pg, MCHC = ...35.7... g/dL, RDW-CV = ...14... %

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at C window .....Hb A<sub>2</sub> = .....3.1..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....-..... %

Other Hb = ..... abnormal Hb at C window = 36.0 % .....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb C

Interpretation ..... Hb C trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\* .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 39

**Hb J-Norfolk trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....56.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

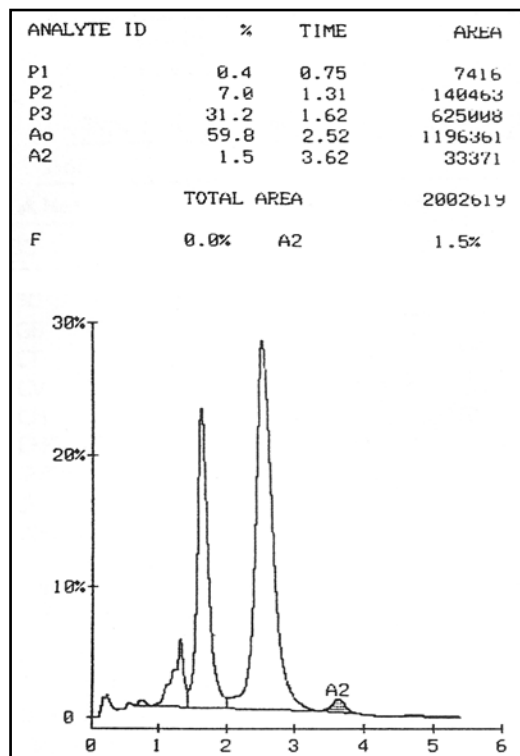
OF-test : .....not done.....

DCIP-test : ..... not done .....

RBC parameters

Hb = ....6.3.... g/dL, Hct = ....21.4..... %, MCV = ....65.2... fL, MCH = ...19.2... pg

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at P3 window .....Hb A<sub>2</sub> = .....1.5..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....0..... %

Other Hb = ..... abnormal Hb at P3 window = 31.2 % .....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb J-Norfolk

Interpretation ..... Hb Hb J-Norfolk trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 40

Hb J-Norfolk trait with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....56.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

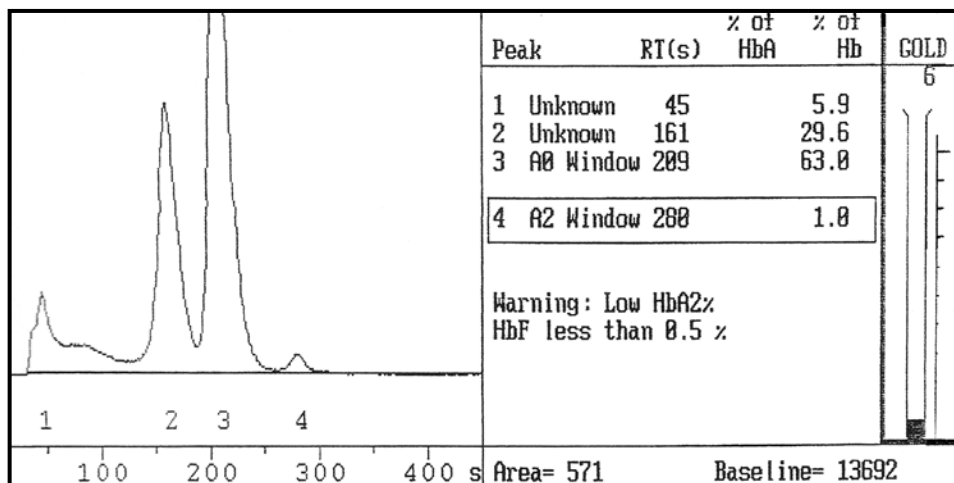
OF-test : .....not done.....

DCIP-test : ..... not done .....

RBC parameters

Hb = .....6.3... g/dL, Hct = .....21.4..... %, MCV = ....65.2... fL, MCH = ...19.2... pg

Hb-analysis.....LPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb (unknown 2).....Hb A<sub>2</sub> = .....1.0..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....&lt; 0.5..... %

Other Hb = ..... abnormal Hb (unknown 2) = 29.6 % .....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb J-Norfolk

Interpretation ..... Hb J-Norfolk trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\* .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 41

**Hb D-Punjab trait with or without  $\alpha$ -thalassemia**

Age.....20.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

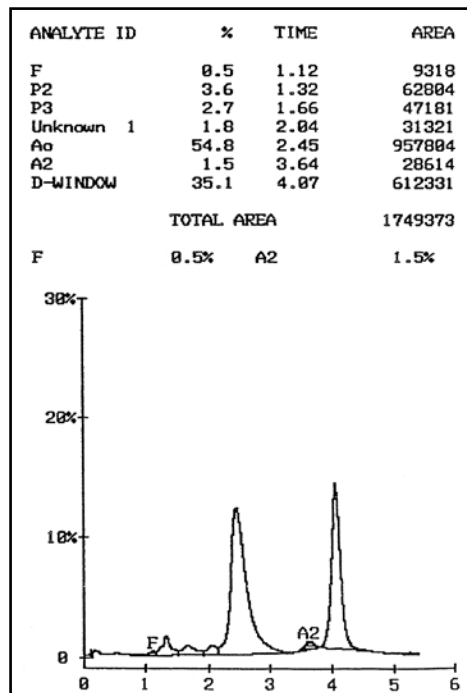
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = ...3.84...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...8.9... g/dL, Hct = ...27.1... %, MCV = ...71... fL,

MCH = ...23.3... pg, MCHC = ...32.9... g/dL, RDW-CV = ...17.6... %

Hb-analysis.....HPLC.....

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at D window.....Hb A<sub>2</sub> = .....1.5.....% Hb E = .....-..... %

Hb F = .....0.5.....%

Other Hb = ..... abnormal Hb at D window = 35.1 % .....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb D-Punjab

Interpretation ..... Hb D-Punjab trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\* .....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse'}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 42

Hb D-Punjab trait with or without  $\alpha$ -thalassemia

Age.....25.....years

Sex.....male.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....not done.....

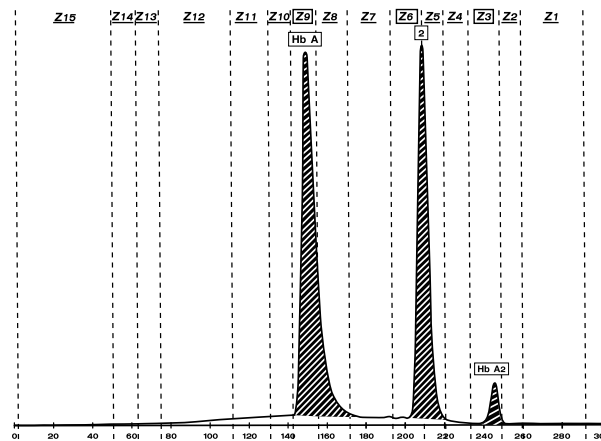
DCIP-test : .....not done.....

RBC parameters

RBC = ...5.46...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...15.9... g/dL, Hct = ...45.7... %, MCV = ...83.7... fL,

MCH = ...29.7... pg, MCHC = ...34.8... g/dL, RDW-CV = ...14.1... %

Hb-analysis.....CE.....



## Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb A              | 55.7 |        |
| 2                 | 41.0 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 3.3  |        |

Hb-type : ..... A<sub>2</sub>A with abnormal Hb at zone 5-6.....Hb A<sub>2</sub> = .....3.3..... % Hb E = .....-..... %

Hb F = .....-..... %

Other Hb = ..... abnormal Hb at zone 5-6 = 41.0 % .....

Interpretation ..... Suspected abnormal Hb trait (beta chain variant) .....

Note DNA analysis : positive for Hb D-Punjab

Interpretation ..... Hb D-Punjab trait with or without  $\alpha$ -thalassemia\*\*.....

Note

\*  $\alpha$ -thalassemia 2 :  $\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha^{CS}$ ,  $\alpha^{Pakse}$ \*\*  $\alpha$ -thalassemia 1 trait,  $\alpha$ -thalassemia 2 trait, homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2\*\*\*  $\beta^0$ -thal or  $\beta^+$ -thal

## ตัวอย่างที่ 43

## Compound Hb E trait / Hb Lepore

Age.....25.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

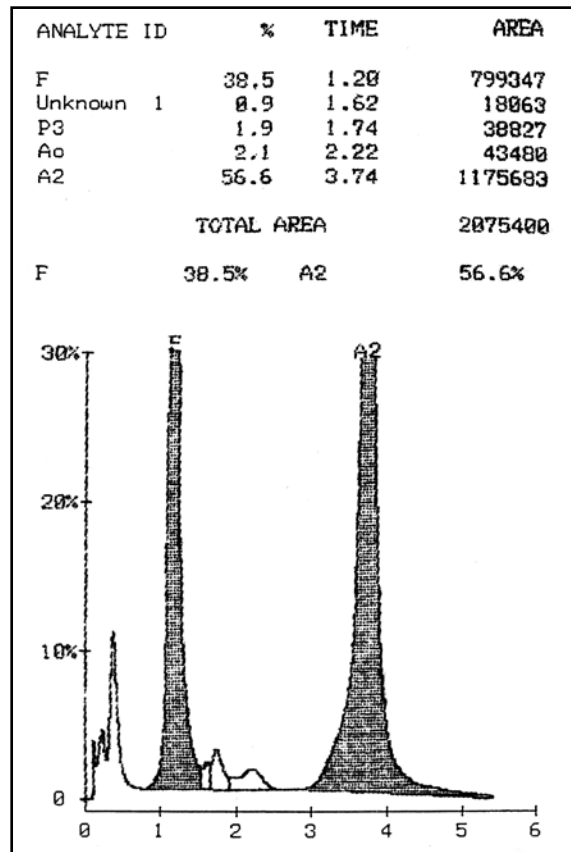
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.27...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...10.3... g/dL, Hct = ...29.1... %, MCV = ...68.1... fL,

MCH = ...24.1... pg, MCHC = ...35.4... g/dL, RDW-CV = ...22.8... %

Hb-analysis.....HPLC.....



Hb-type : ..... EF.....

Hb A<sub>2</sub> = .....-..... % Hb E = .....56.6..... %

Hb F = .....38.5.... % (Hb F cell by acid elution test : positive)

Other Hb = .....-.....

Interpretation .....  $\beta^0$ -thalassemia / Hb E.....

Note DNA analysis : positive for Hb E and Hb Lepore

Interpretation .....Compound Hb E trait / Hb Lepore .....

## ตัวอย่างที่ 44

## Compound Hb E trait / Hb Lepore

Age.....25.....years

Sex.....female.....

History of blood transfusion.....none.....

Thalassemia screening

OF-test : .....positive.....

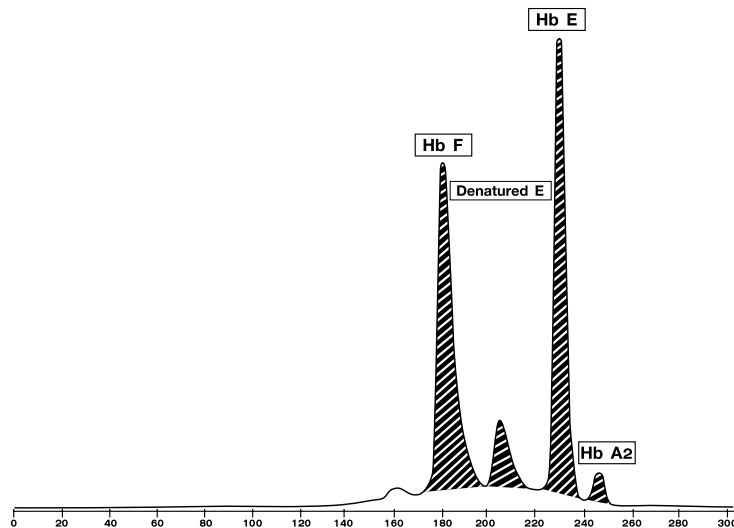
DCIP-test : .....positive.....

RBC parameters

RBC = ...4.27...  $\times 10^{12}/L$ , Hb = ...10.3... g/dL, Hct = ...29.1... %, MCV = ...68.1... fL,

MCH = ...24.1... pg, MCHC = ...35.4... g/dL, RDW-CV = ...22.8... %

Hb-analysis.....CE.....



## Hemoglobin Electrophoresis

| Fractions         | %    | Ref. % |
|-------------------|------|--------|
| Hb F              | 46.5 |        |
| Denatured E       | 8.9  |        |
| Hb E              | 42.0 |        |
| Hb A <sub>2</sub> | 2.6  |        |

Hb-type : ..... suspected EF with abnormal Hb .....

Hb A<sub>2</sub> = .....2.6.....%      Hb E = .....42.0..... %

Hb F = .....46.5.....% (Hb F cell by acid elution test : positive)

Other Hb = ..... abnormal Hb = 8.9 %.....

Interpretation ..... Hb E/ abnormal Hb with  $\beta$ -thalassemia effect .....

Note                      DNA analysis : positive for Hb E and Hb Lepore

Interpretation .....Compound Hb E trait / Hb Lepore.....

## เอกสารอ้างอิง

1. วรวรรณ ตันไพจิตร. ธาลัสซีเมียที่สำคัญและอาการทางคลินิก. ใน บุญเชียร ปานเสถียร กุล (บรรณาธิการ) ธาลัสซีเมียและการให้คำปรึกษาแนะนำ. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ: กรมการแพทย์, 2546.
2. กุลนภา ฟูเจริญ. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2552: 171-96.
3. จิว เกอว่ถาวร, สุทัศน์ ฟูเจริญ, จินตนา พัฒนพงศ์ธร. ธาลัสซีเมีย คู่มือการวินิจฉัยและแนะนำปรึกษา. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ: ส่วนอนามัยแม่และเด็ก สำนักส่งเสริมสุขภาพ, 2542.
4. วิชัย เหล่าสมบัติ. ธาลัสซีเมีย. กรุงเทพฯ: ไอ เอส พรินติ้ง เฮาส์, 2541: 71-124.
5. สุทัศน์ ฟูเจริญ, ปราณี ฟูเจริญ. การประชุมเชิงปฏิบัติการ (Workshop) Thalassemia: From Molecular Biology To Clinical Medicine 9-20 มีนาคม 2541. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี: มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา; 2541.
6. Sanguansermsri T, Thanaratanakorn P, Steger HF, Tongsong T, Sirivatanapa P, Wanapirak C, Sirichotiyakul S, Chanprapas P, Flatz G. Prenatal diagnosis of hemoglobin Bart's hydrops fetalis by HPLC analysis of hemoglobin in fetal blood samples. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2001; 32(1): 180-5.
7. Srivorakul H, Fucharoen G, Sae-Ung N, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Analysis of fetal blood using capillary electrophoresis system: a simple method for prenatal diagnosis of severe thalassemia diseases. Eur J Haematol 2009; 83(1): 57-65.
8. ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี, มาลิดา พรพัฒน์กุล, ปราณี ฟูเจริญ, สุพรรณ ฟูเจริญ, ทศนีย์ เล็บนาค. ธาลัสซีเมีย คู่มือการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: เครือข่ายงานธาลัสซีเมียและมูลติโรค โลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย, 2541.
9. David HK, Chui, John SW. Hydrops fetalis caused by  $\alpha$ -thalassemia: A emerging health care problem. Blood 1998; 91(7): 2213-22.
10. สุพรรณ ฟูเจริญ, กุลนภา ฟูเจริญ. ฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในคนไทยและการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2553; 22: 103-17.



---

ตารางผลการตรวจทางโลหิตวิทยาเบื้องต้น  
ในพาหะและผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดต่าง ๆ

---

## บทที่ 4

### ตารางผลการตรวจทางโลหิตวิทยาเบื้องต้น ในพาหะและผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดต่าง ๆ

การใช้ข้อมูลทางโลหิตวิทยาเบื้องต้นที่ตรวจพบมาประกอบการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน มีความสำคัญมาก ตัวอย่างข้อมูลที่สรุปไว้ในบทนี้ เป็นตัวอย่างที่ได้จากงานประจำวัน ซึ่งได้รับการตรวจยืนยันด้วยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอแล้ว<sup>(15)</sup>

ตาราง ตัวอย่างข้อมูลทางโลหิตวิทยาของตัวอย่างประชากรไทยอายุมากกว่า 1 ปี ที่เป็นธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ เทียบกับผู้ที่ไม่ได้เป็นธาลัสซีเมียและภาวะ HPFH ตัวเลขในตารางแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

| Subject  | N      | Hb (g/dL)    | Hct (%)      | RBC ( $\times 10^{12}/L$ ) | MCV (fL)     | MCH (pg)     | MCHC (g/dL)  | RDW (%)      | Hb type (HPLC)                          | Hb A <sub>2</sub> / E (%) | Hb F (%)   | Reference |
|--|--------|--------------|--------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---|---------------------------|------------|-----------|
| Non-thalassemia                                      | 68     | 13.0 (1.6)   | 40.3 (4.9)   | 4.6 (0.6)                  | 88.2 (6.0)   | 28.5 (1.8)   | 32.3 (1.4)   | 13.5 (1.2)   | A <sub>2</sub> A                        | 2.6 (0.3)                 | 0.1 (0.3)  | 1         |
| $\alpha$ -thal 2 trait                               | 16     | 13.0 (1.9)   | 42.8 (6.5)   | 4.3 (0.6)                  | 83.4 (7.2)   | 26.7 (2.5)   | 31.5 (1.6)   | 14.7 (1.5)   | A <sub>2</sub> A                        | 2.3 (0.3)                 | 0.1 (0.3)  | 1         |
| Homozygous $\alpha$ -thal 2                          | 11     | 11.5 (1.1)   | 38.4 (3.4)   | 5.2 (0.5)                  | 74.2 (2.6)   | 22.3 (1.1)   | 30.1 (1.8)   | 15.9 (1.1)   | A <sub>2</sub> A                        | 2.2 (0.6)                 | 0.7 (0.4)  | 1         |
| $\alpha$ -thal 1 trait                               | 90     | 11.7 (1.8)   | 36.4 (6.1)   | 5.4 (0.9)                  | 67.9 (4.7)   | 22.5 (5.4)   | 31.6 (3.8)   | (16.0) (2.8) | A <sub>2</sub> A                        | 2.7 (0.8)                 | 1.0 (1.4)  | 2         |
| $\beta$ -thal trait                                  | 34     | 11.9 (2.8)   | 37.6 (6.9)   | 5.9 (1.6)                  | 63.5 (5.3)   | 20.4 (2.9)   | 32.1 (1.6)   | 14.8 (2.6)   | A <sub>2</sub> A                        | 6.1 (1.2)                 | 1.1 (0.9)  | 3         |
| $\beta$ -thal trait with $\alpha$ -thal 2 trait      | 5      | 11.2 (0.9)   | 35.8 (3.0)   | 5.4 (0.4)                  | 66.7 (3.3)   | 20.9 (0.7)   | 31.4 (0.6)   | 15.8 (0.9)   | A <sub>2</sub> A                        | 5.2 (0.6)                 | 1.5 (0.8)  | #         |
| $\beta$ -thal trait with $\alpha$ -thal 1 trait      | 6      | 11.5 (2.0)   | 35.2 (5.9)   | 5.0 (0.6)                  | 69.5 (4.8)   | 22.7 (1.5)   | 32.4 (0.7)   | 16.8 (3.6)   | A <sub>2</sub> A                        | 5.3 (0.3)                 | 2.8 (2.2)  | 2         |
| $\beta$ -thal trait with homozygous $\alpha$ -thal 2 | 1      | 12.4         | 38.2         | 5.5                        | 69.3         | 22.5         | 32.4         | ND           | A <sub>2</sub> A                        | 2.0                       | 1.4        | 4         |
| Hb Constant Spring trait                             | 5      | 12.6 (2.1)   | 38.0 (5.0)   | 4.6 (0.3)                  | 79.1 (2.1)   | 25.7 (2.1)   | 32.5 (2.2)   | 14.1 (1.1)   | A <sub>2</sub> A or CS A <sub>2</sub> A | 2.1 (0.3)                 | 0.5 (0.2)  | 1         |
| Hb E trait   | 43     | 13.2 (2.1)   | 41.5 (6.6)   | 5.2 (0.8)                  | 80.6 (5.1)   | 25.7 (1.7)   | 31.8 (1.1)   | 14.9 (2.2)   | EA                                      | 29.3 (1.6)                | 1.0 (0.4)  | 1         |
| Hb E trait with $\alpha$ -thal 2 trait               | 31     | 12.1 (1.7)   | 38.5 (5.8)   | 4.7 (0.8)                  | 81.3 (5.1)   | 25.6 (1.9)   | 31.5 (1.6)   | 15.3 (2.3)   | EA                                      | 26.9 (2.8)                | 0.7 (0.4)  | 1         |
| Hb E trait with $\alpha$ -thal 1 trait               | 73     | 11.5 (2.2)   | 35.4 (7.6)   | 5.3 (0.8)                  | 66.4 (10.1)  | 23.0 (9.1)   | 31.7 (2.2)   | 18.1 (4.3)   | EA                                      | 19.7 (3.3)                | 2.2 (3.6)  | 2         |
| Hb E trait with $\alpha$ <sup>CS</sup> trait         | 7      | 12.4 (1.3)   | 40.0 (4.2)   | 4.8 (0.4)                  | 83.0 (4.1)   | 25.8 (1.1)   | 31.1 (1.5)   | 13.7 (1.1)   | EA                                      | 27.0 (1.0)                | 1.0 (0.3)  | 1         |
| Hb E trait with homozygous $\alpha$ -thal 2          | 1<br>1 | 12.2<br>10.1 | 37.5<br>31.2 | 5.1<br>4.7                 | 72.6<br>66.4 | 23.6<br>21.5 | 32.5<br>32.3 | 15.3<br>20.2 | EA                                      | 21.1<br>20.5              | ND         | 5         |
| EA Bart's disease                                    | 7      | 9.4 (2.4)    | 28.9 (6.9)   | 5.2 (0.9)                  | 55.0 (5.5)   | 17.9 (2.7)   | 32.4 (3.6)   | 18.5 (2.8)   | EA / EA Bart's                          | 14.9 (1.0)                | 3.5 (2.7)  | 2         |
| CS EA Bart's disease                                 | 34     | 7.1 (2.0)    | 26.6 (7.4)   | 4.3 (1.2)                  | 62.3 (5.0)   | 16.7 (2.1)   | 26.5 (3.6)   | 22.4 (3.3)   | CS EA Bart's                            | 15.7 (4.8)                | 4.9 (3.8)  | 2         |
| Homozygous Hb E                                      | 89     | 10.6 (1.2)   | 34.2 (4.1)   | 5.2 (0.7)                  | 64.8 (3.2)   | 20.3 (1.2)   | 31.3 (1.9)   | 17.3 (1.3)   | EE                                      | 88.3 (2.6)                | 3.6 (1.6)  | 6         |
| Homozygous Hb E with $\alpha$ -thal 2 trait          | 21     | 11.0 (1.6)   | 35.8 (5.4)   | 5.5 (0.9)                  | 64.9 (4.2)   | 20.0 (1.3)   | 30.8 (1.0)   | 17.3 (1.4)   | EE                                      | 87.5 (3.3)                | 4.8 (3.7)  | 6         |
| Homozygous Hb E with homozygous $\alpha$ -thal 2     | 4      | 11.2 (2.5)   | 37.2 (7.6)   | 5.4 (1.0)                  | 68.0 (2.5)   | 20.5 (1.3)   | 30.1 (1.9)   | 16.8 (2.7)   | EE                                      | 89.9 (1.6)                | 2.0 (0.3)  | 6         |
| Homozygous Hb E with $\alpha$ -thal 1 trait          | 7      | 10.5 (2.4)   | 33.1 (6.9)   | 5.3 (1.3)                  | 63.8 (7.3)   | 19.8 (2.7)   | 31.4 (1.4)   | 18.5 (4.3)   | EE                                      | 88.4 (5.7)                | 3.8 (2.1)  | 2         |
| EF Bart's disease                                    | 1<br>1 | 12.2<br>7.9  | 40.6<br>25.1 | 7.5<br>5.0                 | 54.2<br>50.1 | 16.3<br>15.7 | 30.0<br>31.3 | 17.0<br>36.3 | EE / EE Bart's (EF Bart's)              | 87.2<br>89.4              | 3.1<br>3.3 | 6         |

| Subject   | N      | Hb (g/dL)    | Hct (%)      | RBC ( $\times 10^{12}/L$ ) | MCV (fL)     | MCH (pg)     | MCHC (g/dL)  | RDW (%)      | Hb type (HPLC)                       | Hb A <sub>2</sub> / E (%) | Hb F (%)     | Reference |
|---|--------|--------------|--------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------|-----------|
| CS EF Bart's disease  | 6      | 7.3 (1.6)    | 27.9 (5.7)   | 4.8 (0.9)                  | 57.2 (3.1)   | 15.4 (1.8)   | 26.3 (2.2)   | 23.1 (5.9)   | EE Bart's / EF Bart's (CS EF Bart's) | 76.5 (3.8)                | 6.5 (3.6)    | 2         |
| Homozygous Hb E with $\alpha^{CS}$ trait                                  | 6      | 9.7 (0.9)    | 32.0 (3.3)   | 4.8 (0.4)                  | 66.4 (3.4)   | 20.2 (1.7)   | 30.4 (1.4)   | 16.9 (2.4)   | EE                                   | 90.5 (1.6)                | 3.4 (1.8)    | 6         |
| Homozygous Hb E with homozygous $\alpha^{CS}$                             | 3      | 11.5 (0.7)   | 36.5 (1.5)   | 5.2 (0.4)                  | 70.0 (5.2)   | 22.0 (0.7)   | 31.6 (2.6)   | 16.9 (2.1)   | CS EE                                | 87.6 (2.4)                | 2.0 (0.4)    | 7         |
| $\alpha$ -thal 1 / $\alpha$ -thal 2                                       | 18     | 8.3 (1.9)    | 27.6 (5.6)   | 4.5 (1.4)                  | 61.3 (9.1)   | 18.3 (3.8)   | 29.8 (2.2)   | 25.1 (6.6)   | A <sub>2</sub> A Bart's H            | 2.0 (3.8)                 | 1.7 (1.1)    | 8         |
| $\alpha$ -thal 1 / $\alpha^{CS}$  | 9      | 6.3 (2.0)    | 23.6 (7.0)   | 3.3 (0.9)                  | 70.6 (8.5)   | 18.9 (2.6)   | 26.9 (2.1)   | 24.3 (7.0)   | CS A <sub>2</sub> A Bart's H         | 2.7 (0.7)                 | 3.4 (2.4)    | 8         |
| $\beta^+$ -thal / Hb E  | 6      | 9.7 (0.7)    | 30.2 (2.7)   | 5.3 (0.4)                  | 57.2 (3.8)   | 18.7 (1.4)   | 32.1 (1.1)   | 23.8 (1.2)   | EFA                                  | 56.7 (1.1)                | 11.7 (4.1)   | #         |
| $\beta^0$ -thal / Hb E  | 40     | 7.5 (2.2)    | 22.8 (3.6)   | 3.4 (0.7)                  | 65.6 (7.6)   | 20.2 (3.1)   | 31.4 (4.4)   | 30.3 (3.9)   | EF                                   | 52.7 (10.1)               | 38.8 (11.7)  | #         |
| $\beta^0$ -thal / Hb E with $\alpha$ -thal 2 trait                        | 20     | 8.5 (1.5)    | 25.7 (4.7)   | 4.0 (1.2)                  | 56.4 (6.9)   | 18.4 (1.9)   | 32.8 (3.0)   | 29.6 (2.2)   | EF                                   | 64.4 (12.9)               | 24.5 (9.4)   | #         |
| $\beta^0$ -thal / Hb E with $\alpha$ -thal 1 trait                        | 1<br>1 | 12.6<br>8.4  | 38.4<br>24.5 | 7.2<br>4.0                 | 53.1<br>61.4 | 17.4<br>21.1 | 32.8<br>34.3 | 20.9<br>25.8 | EF                                   | 86.8<br>39.9              | 6.5<br>32.3  | 2         |
| $\beta^0$ -thal / Hb E with $\alpha$ -thal 1 / $\alpha^{CS}$              | 1      | 7.3          | 24.8         | 5.6                        | 44.2         | 13.0         | 29.4         | 22.4         | EF Bart's (CS EF Bart's)             | 79.8                      | 12.6         | 2         |
| $\beta^0$ -thal / $\beta^0$ -thal   | 6      | 4.7 (1.8)    | 14.2 (5.4)   | 2.5 (0.6)                  | 57.3 (1.2)   | 21.1 (3.0)   | ND           | ND           | A <sub>2</sub> F                     | 2.2 (0.9)                 | 97.6 (0.8)   | 9         |
| $\beta^0$ -thal / $\beta^+$ -thal   | 5      | 7.5 (1.5)    | 22.8 (3.6)   | 3.2 (0.7)                  | 69.0 (1.7)   | 22.9 (1.3)   | ND           | ND           | A <sub>2</sub> FA                    | 3.3 (1.5)                 | 41.8 (12.3)  | 10        |
| $\beta^+$ -thal / $\beta^+$ -thal   | 6      | 8.8 (2.3)    | 26.2 (7.6)   | 4.3 (1.0)                  | 61.2 (6.0)   | 20.4 (1.6)   | 33.5 (1.6)   | ND           | A <sub>2</sub> FA                    | 5.3 (2.8)                 | 31.6 (11.0)  | 10        |
| ( $\delta\beta$ ) <sup>0</sup> -thal trait                                | 148    | 11.5 (1.5)   | 35.7 (4.5)   | 4.8 (0.8)                  | 75.4 (7.0)   | 24.4 (2.0)   | 32.3 (1.0)   | 20.5 (2.4)   | A <sub>2</sub> FA                    | 2.2 (0.4)                 | 20.6 (5.6)   | 11        |
| deletion-inversion $G\gamma^A(\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia trait    | 22     | 12.1 (1.3)   | 37.3 (3.6)   | 4.9 (0.6)                  | 76.4 (5.6)   | 24.3 (1.9)   | 32.4 (1.1)   | 16.8 (2.4)   | A <sub>2</sub> FA                    | 2.3 (0.3)                 | 19.6 (3.0)   | 11        |
| deletional HPFH-6 trait   | 83     | 12.3 (1.4)   | 37.5 (1.4)   | 4.7 (0.6)                  | 79.9 (6.8)   | 25.7 (2.2)   | 32.8 (1.1)   | 16.6 (2.7)   | A <sub>2</sub> FA                    | 2.0 (0.4)                 | 24.6 (4.4)   | 11        |
| ( $\delta\beta$ ) <sup>0</sup> -thal / Hb E                               | 1<br>1 | 12.3<br>13.9 | 35.0<br>41.5 | 5.5<br>5.0                 | 64.1<br>69.5 | 20.1<br>22.5 | 31.3<br>32.2 | 20.1<br>18.5 | EF                                   | 46.3<br>46.1              | 48.3<br>49.8 | 12        |
| Deletion-inversion $G\gamma^A(\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia / Hb E   | 1      | 11.9         | 37.1         | 5.7                        | 64.6         | 20.7         | 32.0         | 18.7         | EF                                   | 56.5                      | 35.3         | 13        |
| Deletional HPFH-6 / Hb E  | 1      | 12.7         | 36.7         | ND                         | 75.7         | 26.2         | 34.7         | ND           | EF                                   | 47.6                      | 52.4         | 14        |
| ( $\delta\beta$ ) <sup>0</sup> -thal / $\beta^0$ -thal                    | 1      | 6.5          | 20.5         | 2.9                        | 70.4         | 22.3         | 31.7         | ND           | A <sub>2</sub> F                     | 1.9                       | 91.7         | 12        |
| Deletion-inversion $G\gamma^A(\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia / HPFH-6 | 1      | 8.8          | 29.2         | ND                         | 66.9         | 20.2         | 30.1         | ND           | F                                    | 0                         | 100          | 13        |

ND : NO DATA

# : UNPUBLISHED DATA

## เอกสารอ้างอิง

1. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-72.
2. Sea-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha<sup>0</sup>-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007; 117: 78-82.
3. กุลนภา ฟูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่อึ้ง, เกரியงไกร กิจเจริญ, สุรพล เวียงนนท์, อรุณี เจตศรีสุภาพ, สุพรรณ ฟูเจริญ. ข้อมูลทางโลหิตวิทยาของพาหะบีตา-ธาลัสซีเมีย จำแนกตามชนิดของ มิวเตชันที่ตรวจพบในจังหวัดขอนแก่น. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2538; 7: 158-66.
4. กุลนภา ฟูเจริญ, กัญยรัตน์ แคนตะ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ และคณะ. ธาลัสซีเมีย และภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง OF test และ KCU-DCIP-Clear. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต* 2542; 9: 111-8.
5. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 113-8.
6. 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.
7. Fucharoen S, Fucharoen G, Sae-ung N, Sanchaisuriya K. Thalassemia intermedia associated with the Hb Constant Spring EE Bart's disease in pregnancy: a molecular and hematological analysis. *Blood Cells Mol Dis* 2007; 39: 195-8.
8. Boonsa S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Wiangnon S, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. The diverse molecular basis and hematological features of Hb H and AEBart's diseases in Northeast Thailand. *Acta Haematol*. 2004; 111: 149-54.
9. Laosombat V, Wongchanchailert M, Sattayasevana B, Wiriyasateinkul A, Fucharoen S. Clinical and hematologic features of beta<sup>0</sup>-thalassemia (frameshift 41/42 mutation) in Thai patients. *Haematologica* 2001; 86: 138-41.
10. Laosombat V, Wongchanchailert M, Sattayasevana B, Nopparatana C. Clinical, hematological and molecular features in Thai with beta-Malay/ beta-thalassemia and beta-Malay/ Hb E. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 2(suppl.3): 106-9.
11. Panyasai S, Fucharoen S, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular basis and hematologic characterization of  $\delta\beta$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin in Thailand. *Haematologica* 2004; 87: 777-81.
12. Fucharoen S, Pengjam Y, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular characterization of ( $\delta\beta$ )<sup>0</sup>-thalassemia /  $\beta^0$ -thalassemia and ( $\delta\beta$ )<sup>0</sup>-thalassemia / HbE in Thai patients. *Eur J Haematol* 2001; 67: 258-62.
13. Fucharoen S, Pengjam Y, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular and hematological characterization of HPFH-6/Indian deletion-inversion  $\text{G}\gamma(\text{A}\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia and  $\text{G}\gamma(\text{A}\gamma\delta\beta)^0$ / Hb E in Thai patients. *Am J Hematol* 2002; 71: 109-13.
14. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Surapot S. Molecular characterization of thalassemia intermedia associated with HPFH-6/ beta-thalassemia and HPFH-6/Hb E in Thai patients. *Acta Haematol* 2002; 108: 157-61.
15. กุลนภา ฟูเจริญ. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย. *ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 2552: 32-6.

---

# ภาคผนวก

---

## คำย่อ

---

|               |  |
|---------------|--|
| <b>CE</b>     | capillary electrophoresis                              |
| <b>CS</b>     | constant spring  |
| <b>c.t.</b>   | termination codon                                      |
| <b>DCIP</b>   | dichlorophenolindophenol                               |
| <b>fL</b>     | femtolitre ( $10^{-15}$ litre)                         |
| <b>g/dL</b>   | gram / decilitre ( $10^{-1}$ litre)                    |
| <b>Hb</b>     | hemoglobin   |
| <b>Hct</b>    | hematocrit   |
| <b>HPFH</b>   | hereditary persistence of fetal hemoglobin             |
| <b>HPLC</b>   | high pressure liquid chromatography                    |
| <b>LPLC</b>   | low pressure liquid chromatography                     |
| <b>MCH</b>    | mean corpuscular hemoglobin                            |
| <b>MCHC</b>   | mean corpuscular hemoglobin concentration              |
| <b>MCV</b>    | mean corpuscular volume                                |
| <b>OF</b>     | osmotic fragility                                      |
| <b>pg</b>     | picigram ( $10^{-12}$ gram)                            |
| <b>PCR</b>    | polymerase chain reaction                              |
| <b>RBC</b>    | red blood cells  |
| <b>RDW-CV</b> | red cell distribution width - coefficient of variation |
| <b>RFLP</b>   | restriction fragment length polymorphism               |
| <b>RT</b>     | retention time   |
| <b>thal</b>   | thalassemia  |

---



คำสั่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ที่ ๑๕๑ / 2552

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน  
“การตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน”

เพื่อสนับสนุนแผนงานป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียของกระทรวงสาธารณสุข ในการพัฒนาเครือข่ายการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย ผ่านห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 13 แห่ง ให้สามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพทุกห้องปฏิบัติการ และให้บริการอยู่บนมาตรฐานเดียวกัน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยศูนย์วิจัยทางคลินิก จึงแต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน “การตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน” ดังรายนามต่อไปนี้

- |  |           |
|--|-----------|
| 1. ศาสตราจารย์เกียรติคุณแพทย์หญิงคุณหญิงสุดศพร ตูจินดา | ที่ปรึกษา |
| ประธานมูลนิธิโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย       |           |
| 2. ศาสตราจารย์เกียรติคุณแพทย์หญิงวรวรรณ ตันไพจิตร      | ที่ปรึกษา |
| มหาวิทยาลัยมหิดล                                       |           |
| 3. นายแพทย์นิพนธ์ โปธิพัฒน์ชัย                         | ประธาน    |
| รองอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                        |           |
| 4. นายแพทย์สมชาย แสงกิจพร                              | กรรมการ   |
| กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                                 |           |
| 5. รองศาสตราจารย์ พันเอกนายแพทย์กิตติ ต่อจรัส          | กรรมการ   |
| โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า                                 |           |
| 6. ดร.ปราณี ฟูเจริญ                                    | กรรมการ   |
| มหาวิทยาลัยมหิดล                                       |           |
| 7. อาจารย์นายแพทย์ชนินทร์ ลีม่วงส์                     | กรรมการ   |
| มหาวิทยาลัยมหิดล                                       |           |
| 8. รองศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณ ฟูเจริญ                    | กรรมการ   |
| มหาวิทยาลัยขอนแก่น                                     |           |
| 9. รองศาสตราจารย์กุลณา ฟูเจริญ                         | กรรมการ   |
| มหาวิทยาลัยขอนแก่น                                     |           |

|  |             |                            |
|--|-------------|----------------------------|
| 10. รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงพิมพ์ลักษณ์ เจริญขวัญ<br>มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |             | กรรมการ                    |
| 11. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนศักดิ์<br>มหาวิทยาลัยเชียงใหม่               | ดาตุ        | กรรมการ                    |
| 12. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จ่านงค์<br>มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์            | นพรัตน์     | กรรมการ                    |
| 13. อาจารย์ชวดี<br>มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์                              | นพรัตน์     | กรรมการ                    |
| 14. นางภัทราภรณ์<br>โรงพยาบาลราชวิถี                                     | บุญจันทร์   | กรรมการ                    |
| 15. นางนิษฐ์ชลีย์<br>ศูนย์อนามัยที่ 1 กรมอนามัย                          | หิริโอดีปปะ | กรรมการ                    |
| 16. นางสุทัศน์ีย์<br>กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                              | วิมลเศรษฐ   | กรรมการ                    |
| 17. นางสาวรวงคณา<br>กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                               | อ่อนทรวง    | กรรมการ                    |
| 18. นางสาวอัมรา<br>กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                                | โยวัง       | กรรมการ                    |
| 19. นางบุญนิภา<br>กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                                 | สุวรรณกาล   | กรรมการ                    |
| 20. นางสิริภากร<br>กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                                | แสงกิจพร    | กรรมการและเลขานุการ        |
| 21. นางสาวอารีรัตน์<br>กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์                            | สังข์น้อย   | กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ |

โดยมีหน้าที่ ดังต่อไปนี้

1. ทบทวนปัญหา อุปสรรคในการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน
2. จัดทำคู่มือปฏิบัติงานสำหรับการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน
3. พิจารณาแต่งตั้งคณะทำงานได้ตามความเหมาะสม
4. หน้าที่อื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป ถึงวันที่ 30 กันยายน 2553

สั่ง ณ วันที่ // ธันวาคม พ.ศ. 2552



(นพ.จักรธรรม ธรรมศักดิ์)  
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์



คำสั่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ที่ 45 /2553

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน

“การตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน” (เพิ่มเติม)

อนุสนธิ คำสั่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 951/2552 ลงวันที่ 11 ธันวาคม 2552 เพื่อสนับสนุนแผนงานป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียของกระทรวงสาธารณสุข ในการพัฒนาเครือข่ายการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย ผ่านห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 13 แห่ง ให้สามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพทุกห้องปฏิบัติการ และให้บริการอยู่บนมาตรฐานเดียวกัน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยศูนย์วิจัยทางคลินิก จึงแต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำคู่มือปฏิบัติงาน “การตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน” (เพิ่มเติม) ดังรายนามต่อไปนี้

- |                            |                |         |
|----------------------------|----------------|---------|
| 1. นางบุษบา                | เดชาชัยนรินทร์ | กรรมการ |
| ศูนย์อนามัยที่ 4 กรมอนามัย |                |         |
| 2. นางพรรณทิพา             | ศรีวิรุพห์โชติ | กรรมการ |
| กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์     |                |         |

โดยมีหน้าที่ ดังต่อไปนี้

1. ทบทวนปัญหา อุปสรรคในการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน
2. จัดทำคู่มือปฏิบัติงานสำหรับการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน
3. พิจารณาแต่งตั้งคณะทำงานได้ตามความเหมาะสม
4. หน้าที่อื่นๆตามที่ได้รับมอบหมาย

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป ถึงวันที่ 30 กันยายน 2553

สั่ง ณ วันที่ 18 มกราคม พ.ศ. 2553

(นายจักรกรรณ ธรรมศักดิ์)  
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

# กิตติกรรมประกาศ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบคุณคณะผู้เชี่ยวชาญทุกท่านที่ให้เกิดริ เป็นคณะกรรมการจัดทำคู่มือฉบับนี้ ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์องค์ความรู้และข้อมูลต่างๆ ที่มีคุณค่า ขอขอบคุณสำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติที่สนับสนุนงบประมาณดำเนินการ ขอขอบคุณคุณอังคณา ทหารศรี นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ จากโรงพยาบาลศูนย์อุดรธานี และคุณยุพาพรรณ จารัตน์ นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ จากโรงพยาบาลหนองบัวลำภู ที่ช่วยอ่านคู่มือและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยทางคลินิกที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการจัดประชุมคณะกรรมการจัดทำคู่มือฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี







จัดพิมพ์โดย : ศูนย์วิจัยทางคลินิก  
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
กระทรวงสาธารณสุข  
ถนนติวานนท์ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000  
โทรศัพท์ : 02 951 0000 ต่อ 99394

ISBN 978-616-11-0414-6



9 786161 104146