

คำนำ

โรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นโรคโลหิตจางเกิดจากความผิดปกติในการสร้างสายโกลบินผู้ป่วยมีอาการโลหิตจางตับโต ม้ามโตการเจริญเติบโตไม่สมวัยมีภาวะแทรกซ้อนมากมายและในรายที่มีอาการรุนแรงมากๆมักจะเสียชีวิตเมื่อวัยเยาว์ โรคนี้เป็นโรคที่พบบ่อยในประชากรไทย โดยพบว่า 30-40% ของประชากรเป็นพาหะซึ่งไม่แสดงอาการทางคลินิก กลุ่มที่เป็นพาหะเป็นกลุ่มที่เป็นปัญหาในแง่การควบคุมและป้องกันโรคเนื่องจากโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์แบบ autosomal recessive การตรวจหาหรือตรวจคัดกรองผู้ที่เป็นพาหะของโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการควบคุมโรคนี้ปัจจุบันเทคนิคที่ง่ายที่สุดและสะดวกที่สุดในการตรวจหาผู้ที่เป็นพาหะโรคธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาตั้งกล่าวนี้คือเทคนิค one tube osmotic fragility test (OFT) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถนำไปตรวจหาพาหะธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาในพื้นที่ห่างไกลหรือนอกห้องปฏิบัติการได้ อย่างไรก็ตามยังมีอัตราการเกิดผลลบลวงจาก one tube osmotic fragility test ในการตรวจคัดกรองพาหะของธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาได้

Immuno chromatographic strip test เป็นวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อนเช่นเดียวกับ วิธี one tube osmotic fragility test แต่มีความไว (100%) ความแม่นยำ (98%) สูง และมีขั้นตอนการทำที่ง่ายใช้เวลาตรวจเพียง 3 นาทีไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือใดๆและไม่ต้องการบุคลากรที่มีความชำนาญสูงในการตรวจวิเคราะห์สามารถตรวจหาฮีโมโกลบินบาร์ตได้อย่างจำเพาะโดยไม่ทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินชนิดอื่น คณะผู้วิจัยจึง ได้ดำเนินการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพ และความแม่นยำของวิธี immuno chromatographic strip test (GPO α THAL IC strip test) กับวิธี one tube osmotic fragility test (OFT) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กับงานชุมชนในปัจจุบันและยืนยันด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) และวิธี PCR ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปเป็นแนวทางในการเลือกใช้วิธีตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียในระดับชุมชนต่อไป

(ผศ. ดร. ยุทธนา สุตเจริญ)

18 มิถุนายน 2556

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ก)	
สารบัญ (ค))
สารบัญตาราง (ง)	
สารบัญรูปภาพ (จ)	
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
ขอบเขตของงานวิจัย	2
ทฤษฎีสมมุติฐาน กรอบแนวความคิด	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
สถานที่ทำงานวิจัย	3
บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	25
การเก็บและเตรียมตัวอย่าง	25
วิธีการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย	25
วิธีการตรวจยืนยันพาหะธาลัสซีเมีย	26
การประเมินประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรอง	30
บทที่ 4 ผลการทดลอง	31
บทที่ 5 อภิปรายผลและสรุปผลผล	34
บรรณานุกรม	36
ประวัตินักวิจัย(Biography)	39
ภาคผนวก 1 เอกสารยืนยันความร่วมมือระหว่างผู้รับทุนกับหน่วยงานในพื้นที่	44
ภาคผนวก 2 เอกสารแสดงความเห็นชอบจากคณะกรรมการ	45
ภาคผนวก 3 เอกสารยืนยันความร่วมมือระหว่างผู้รับทุนกับบริษัทเอกชน	47
ภาคผนวก 4 วิธีการเตรียม hemolysate	48
ภาคผนวก 5 ข้อมูลทั่วไป และคุณสมบัติของ VARIANT™ II TURBO	49
ภาคผนวก 6 ตัวอย่างผลการตรวจยืนยันด้วยวิธี Hb typing (HPLC)	50
ภาคผนวก 7 ตัวอย่างผลการตรวจยืนยันด้วยวิธี multiplex PCR	55
ภาคผนวก 8 สรุปผลการตรวจคัดกรอง และตรวจยืนยันของตัวอย่างแต่ละราย	56

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 4.1	ผลการตรวจยืนยันพหุอะแอลฟาธาลัสซีเมีย	32
ตารางที่ 4.2	เปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองพหุอะแอลฟาธาลัสซีเมียระหว่าง 2 วิธี	32
ตารางที่ 4.3	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองพหุอะธาลัสซีเมีย	33

สารบัญรูปรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย	2
รูปที่ 2.1 เปรียบเทียบการติดสีระหว่างเม็ดเลือดแดงปกติ และเม็ดเลือดแดงที่ติดสีจาง	6
รูปที่ 2.2แสดงสมดุลของการสร้าง globin chain ในคนปกติ และผู้ที่เป็น thalassemia	12
รูปที่ 2.3Target cells บนblood smear จาก homozygous Hb E	13
รูปที่ 2.4ลักษณะของ basophilic stippling	13
รูปที่ 2.5แสดงภาวะม้ามโตในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย	14
รูปที่ 2.6ลักษณะ blood smear ของ thalassemia major (β /E)	15
รูปที่ 2.7ลักษณะของpolychromasia	15
รูปที่ 2.8แสดงลักษณะใบหน้าของผู้ที่เป็นธาลัสซีเมีย	16
รูปที่ 2.9แสดงภาพ X-ray ของกะโหลกศีรษะของผู้ป่วย thalassemia major	16
รูปที่ 2.10อาการบวมหน้า และเสียชีวิตของทารกที่มีภาวะ Hb Bart's hydropfetalis	17
รูปที่ 2.11แสดงแนวทางการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมีย และ Hb E	18
รูปที่ 2.12การแลกเปลี่ยนประจุของ resin กับ ion ในสารละลาย buffer	21
รูปที่ 2.13แสดงตัวอย่างการรายงานชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินชนิดต่างๆจาก HPLC	21
รูปที่ 3.1แสดงขั้นตอนการตรวจโดยIC strip test และการแปลผล	26
รูปที่ 3.2 เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติVARIANT™ II TURBO(BIO-RAD, USA)	26
รูปที่ 3.3ตัวอย่าง chromatogram จาก เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ	27
รูปที่ 3.4Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System	28