

บทคัดย่อ

ชื่อรายงานการวิจัย : การประเมินความแม่นยำ Immunochromatographic strip test (GPO α THAL IC strip test) สำหรับวินิจฉัยพาหะโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดแอลฟา

ชื่อผู้ทำวิจัย : ผศ. ดร. ยุทธนา สุตเจริญ

ปีที่ทำการวิจัย : 2556

วัตถุประสงค์: เพื่อตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาในหญิงตั้งครรภ์ และคู่สามีโดยวิธี immunochromatographic, IC strip test และวิธี one tube osmotic fragility test (OF) จากนั้นตรวจยืนยันพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติด้วยวิธี Hb typing (high performance liquid chromatography, HPLC) และวิธี multiplex PCR ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) และประเมินความแม่นยำวิธีการตรวจคัดกรองระหว่าง 2 วิธี

วัสดุและวิธีการ: ได้นำตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์ และคู่สมรสที่ไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมียที่เก็บจำนวน 414 ราย ไปตรวจคัดกรองด้วยวิธี OF (KKU-OF) และวิธี IC strip (GPO α THAL IC strip test) เพื่อหาพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 และเลือดอีกส่วนหนึ่งได้ตรวจยืนยันพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินที่ผิดปกติโดยวิธี Hb typing (HPLC) และตรวจเพื่อยืนยันแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 ทั้งชนิด Southeast Asian deletion (SEA) และ Thai deletion ด้วยวิธี multiplex PCR ซึ่งใช้เป็นมาตรฐาน

ผลการศึกษา: ในจำนวนหญิงตั้งครรภ์ และคู่สามีจำนวน 414 ราย ที่เข้าร่วมการศึกษาพบพาหะแอลฟาธาลัสซีเมียทั้งหมด 27 ราย โดยแบ่งเป็น พาหะ thalassemia-1 SEA type (Southeast Asia deletion) จำนวน 18 ราย ,Thai type (Thai deletion) จำนวน 2 ราย ,SEA type ร่วมกับ Thai type จำนวน 2 ราย, Hb H (α thalassemia-1/ α thalassemia-2) จำนวน 3 ราย และ HbCS จำนวน 2 ราย และพบว่าวิธี IC-strip มีค่าความไวของวิธี ค่าความจำเพาะของวิธี ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ และค่าประสิทธิภาพหรือค่าความถูกต้องของวิธีเท่ากับ 92.6%, 95.1%, 56.8%, 99.4% และ 94.9% ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งหมดสูงกว่าวิธี OF ที่มีค่าความไวของวิธี, ค่าความจำเพาะของวิธี, ค่าทำนายผลบวก, ค่าทำนายผลลบ และค่าประสิทธิภาพหรือค่าความถูกต้องของวิธีเพียง 55.5%, 92.2%, 33.3%, 96.7% และ 89.8% ตามลำดับ

สรุป: วิธี IC strip เป็นวิธีการตรวจคัดกรองที่มีความแม่นยำมากกว่าวิธี OFT แต่ไม่สามารถใช้เป็นวิธียืนยันแทนวิธี PCR มีความสะดวกต่อการใช้งาน แผลผลง่าย และไม่ต้องการเครื่องมือพิเศษอื่นใดเพิ่มเติมทำให้การตรวจด้วยวิธีนี้น่าจะมีประโยชน์โดยเฉพาะการคัดกรองในกลุ่มประชากรจำนวนมาก

คำสำคัญ : โรคธาลัสซีเมีย, ฮีโมโกลบินผิดปกติ, วิธีตรวจคัดกรอง, พาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย

Abstract

Research Title : Evaluate to accuracy of immunochromatographic method
(GPO α THAL IC strip test) for α -Thalassemia carrier diagnosis

Author : Assist. Prof. Dr. Yuttana Sudjaroen

Year : 2013

.....

Objective: 1) To screening for alpha thalassemia-1 carriers among pregnant women and spouses by immunochromatographic, IC strip test and one tube osmotic fragility test (OF) and then, confirm thalassemia and abnormal hemoglobin carriers by Hb typing (high performance liquid chromatography, HPLC) and using multiplex PCR for diagnosis of alpha-thalassemia 1 as a gold standard. 2) To evaluate accuracy of both screening methods.

Material and Method: Asymptomatic pregnant women and spouses attending the antenatal care clinic were recruited (n = 414). Their blood samples were taken for screened by OF (KKU-OF) and IC Strip Test (GPO α THAL IC strip test) in predicting alpha-thalassemia-1 carriers, and separately sent to Hb typing (HPLC) for thalassemia and abnormal Hb carriers and to multiplex PCR for alpha thalassemia-1 carriers (Southeast Asian deletion, SEA and Thai deletion) diagnosis as a gold standard.

Results: Four hundred fourteen pregnant women and spouses were recruited into the present study. Positives for alpha thalassemia were 27 cases, including alpha thalassemia-1 carriers, SEA type, alpha thalassemia-1 carriers, Thai deletion type, Hb H and Hb CS, which were 18, 2, 3 and 2 cases, respectively. The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and accuracy of IC strip test were 92.6%, 95.1%, 56.8%, 99.4% and 94.9%, respectively, which were higher than OF test (55.5%, 92.2%, 33.3%, 96.7% and 89.8%, respectively).

Conclusion: The present study was evidence for accuracy of IC strip test rather than OF test, however, IC strip test can not using replace PCR as confirmatory test. Due to its simplicity, convenience to use, low cost, less-time consuming, clear interpretation and no need for either equipment or expensive laboratories, IC strip test may probably be very helpful in a massive thalassemia screening program.

Keyword: thalassemia, immunochromatographic strip, thalassemia screening test, thalassemia carrier

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	ผลการตรวจยืนยันพหุหะแอลฟาธาลัสซีเมีย	32
ตารางที่ 4.2	เปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองพหุหะแอลฟาธาลัสซีเมียระหว่าง 2 วิธี	32
ตารางที่ 4.3	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจคัดกรองพหุหะธาลัสซีเมีย	33

สารบัญรูปภาพ

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