

รหัสโครงการ : MRG5380170

ชื่อโครงการ : การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ สำหรับตรวจวัดตัวบ่งชี้ทางชีวภาพจากเลือดครบส่วน

ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร.วนิดา หลายวัฒนไพศาล และคณะ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail address: wanida.k@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (microfluidic paper-based analytical devices, μ PADs) เป็นเทคโนโลยีทางเลือกหนึ่งของการสร้างอุปกรณ์ตรวจวินิจฉัยโรคทางคลินิก ที่ทำได้ง่าย ต้นทุนต่ำ พกพาได้ สามารถใช้แล้วทิ้ง สำหรับใช้ในประเทศกำลังพัฒนา ในงานวิจัยนี้ ได้พัฒนา μ PADs สำหรับการตรวจวิเคราะห์สิ่งตัวอย่างจากเลือดครบส่วน โดยใช้วิธีจุ่มแวกซ์ ซึ่งเป็นวิธีใหม่ รายงานโดยคณะผู้วิจัย วัสดุที่ใช้ประกอบด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และกระดาษสำหรับแยกเลือด ซึ่งทำให้เชื่อมติดกันโดยการจุ่มกระดาษที่ประกบกับแม่แบบที่เป็นเหล็ก ลงไปในแวกซ์ที่กำลังหลอมเหลวด้วยความร้อน โดยแม่แบบที่เป็นเหล็กที่สังัดให้มีรูปแบบและขนาดที่ต้องการด้วยการใช้เทคนิคเลเซอร์ ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้แวกซ์ซึมเข้าสู่กระดาษ จึงเกิดเป็นบริเวณที่ขอบน้ำและไม่ขอบน้ำอยู่บนกระดาษ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสร้าง μ PADs คือ 120-130 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่เหมาะสมในการจุ่มแวกซ์คือ 1 วินาที ขนาดท่อบริเวณขอบน้ำที่เล็กที่สุดที่สามารถสร้างได้ 639 ± 7 ไมโครเมตร และมีความสามารถในการให้ผลซ้ำ (reproducibility) โดยมีค่า RSDs เท่ากับ 1.48% และ 6.30% สำหรับการสร้างขอบเขตบริเวณขอบน้ำของ test zone และ sample zone ตามลำดับ

กระดาษแยกเลือดที่เหมาะสมสำหรับสร้าง μ PADs คือชนิด LF1 โดย LF1- μ PADs สามารถใช้แยกเลือดที่มีค่าฮีมาโทคริต (hematocrit) ความเข้มข้นระหว่าง 24-55% ได้ภายใน 2 นาที เมื่อใช้เลือดปริมาตร 15-22 μ L โดยไม่จำเป็นต้องเจือจางเลือดก่อน เมื่อได้ทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าพลาสมาที่แยกได้บน μ PADs นี้ ไม่มีการปนเปื้อนของเม็ดเลือดแดงหรือการแตกของเม็ดเลือดแดง การตรวจวัดปฏิกิริยาการเกิดสีบน μ PADs มีความแม่นยำสูง มีค่า within-day precision เท่ากับ 2.62% ($n=10$) และ between day precision เท่ากับ 5.84% ($n=30$) เมื่อนำ μ PADs ไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณโปรตีนในเลือด ($n=5$) โดยใช้หลักการจับกับสี bromocresol green ผลการทดลองพบว่าผลตรวจโดยใช้ LF1- μ PADs ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการการแพทย์ทั่วไป ($p > 0.05$, pair t-test) โดยสรุป μ PADs ที่นำเสนอในงานวิจัยนี้ มีศักยภาพนำไปใช้ตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการการแพทย์ โดยใช้สิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือดครบส่วนได้ในขั้นตอนเดียว ทำให้ลดระยะเวลาการเตรียมตัวอย่างและลดระยะเวลาตรวจวัด เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย มีต้นทุนต่ำ จึงเหมาะสำหรับประเทศกำลังพัฒนาเป็นอย่างยิ่ง

คำสำคัญ : อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ, วิธีการจุ่มแวกซ์, ห้องปฏิบัติการบนกระดาษ, การแยกเลือด, การตรวจวัดปริมาณโปรตีน

Project Code : MRG5380170

Project Title : Development of microfluidic paper-based analytical devices for determination of biomarkers from whole blood sample

Investigators : Asst. Prof. Dr. Wanida Laiwattanapaisa et al Department of Clinical Chemistry, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University

E-mail address: wanida.k@chula.ac.th

Project Period : 2 years

Abstract

Microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) are an alternative technology for fabricating simple, low-cost, portable and disposable platforms for clinical diagnosis in developing countries. In this paper, wax dipping, a new method described by our group, was used for fabricating the μ PAD for blood separation. The final device was composed of a blood separation membrane combined with patterned Whatman No.1 paper. The designed pattern was transferred onto paper by dipping an assembly iron mold into melted wax. The optimal melting temperature was in the range of 120-130 °C, and the optimal dipping time was 1 second. The smallest hydrophilic channel that could be created by the wax dipping method was $639 \pm 7 \mu\text{m}$ in size. The reproducibility of the μ PAD fabrication for hydrophilic channel width of the test zone and sample zone was 1.48% and 6.30%, respectively.

The LF1- μ PAD was shown to be functional with human whole blood of 24-55% hematocrit without dilution, and effectively separated blood cells from plasma within 2 minutes when blood volumes 15-22 μL were added to the device. Microscopy was used to confirm that the device isolated plasma with high purity and showed no blood cells or cell hemolysis at the detection zone of the μ PAD. The colorimetric measurement reproducibility on the μ PAD was 2.62 % (n =10) and 5.84% (n =30) for within-day and between day precision, respectively. The efficiency of blood separation on μ PAD was studied by plasma protein detection using the bromocresol green (BCG) colorimetric assay. The results revealed that protein detection on the μ PAD was not significantly different from the conventional method ($p > 0.05$, pair t-test). Our proposed blood separation on μ PAD has the potential for reducing turnaround time, sample volume, sample preparation and detection processes for clinical diagnosis and point-of care testing, especially in developing countries.

Keywords: Paper-based microfluidic devices, wax dipping, lab-on-paper, blood separation, protein determination