

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RDG 3 / 13 / 2540

ชื่อโครงการ การศึกษาเพื่อพัฒนาชุดน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อการตรวจกรองฮีโมโกลบินอี
อย่างง่ายและรวดเร็ว

ชื่อนักวิจัย ผศ.ดร.สุพรรณ พูเจริญ รศ.กุลณา พูเจริญ ผศ.กนกวรรณ แสนไชยสุริยา
ผศ.ณัฐยา แซ่อึ้ง

ภาควิชาเคมีคลินิก และ ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 โทรศัพท์ / โทรสาร (043) 362 133

e-mail : supan@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ กรกฎาคม 2540 – กรกฎาคม 2543

ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งในประเทศไทยซึ่งพบความชุกประมาณ ร้อยละ 20-30 แต่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อาจพบได้สูงถึงร้อยละ 50 ฮีโมโกลบินอีเกิดจากการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งโคดอน 26 ของยีนบีตาโกลบิน (GAG – AAG) ซึ่งทำให้เกิดการแทนที่กรดกลูตามิกด้วยไลซีน ถึงแม้ว่าการเป็นพาหะหรือโฮโมไซกัสของฮีโมโกลบินอีจะไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ การตรวจพบฮีโมโกลบินอีร่วมกับยีนบีตาธาลัสซีเมียมักก่อให้เกิดโรคธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรงได้ การตรวจกรองฮีโมโกลบินอีในกลุ่มประชากรทั่วไปจึงเป็นขั้นตอนสำคัญขั้นตอนหนึ่งของการดำเนินงานเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียของประเทศไทย โครงการวิจัยและพัฒนานี้ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีอย่างง่ายและรวดเร็วขึ้นโดยดัดแปลงวิธีดั้งเดิมที่อาศัยคุณสมบัติของฮีโมโกลบินอีที่ถูกออกซิไดซ์ให้ตกตะกอนได้ง่ายกว่าฮีโมโกลบินชนิดอื่นด้วยสารไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล (ดีซีไอพี) วิธีที่ดัดแปลงขึ้นใหม่นี้ใช้เวลาตรวจเพียง 15 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำยา 2 มิลลิลิตรและใช้เลือดเพียง 20 ไมโครลิตรหรือประมาณ 1 หยด ตะกอนฮีโมโกลบินอีที่เกิดขึ้นสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายหลังจากที่ได้หยุดปฏิกิริยาและกำจัดสีของดีซีไอพีส่วนเกินออกไปแล้ว ผลการทดสอบกับตัวอย่างเลือดบุคคลทั่วไปรวมทั้งสิ้น 1,307 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวกและค่าการทำนายผลลบ เป็นร้อยละ 99.8 , 98.3 , 97.2 และ 99.9 ตามลำดับ โดยมีผลบวกปลอมและผลลบปลอมเพียงร้อยละ 1.1 และ 0.08 ตามลำดับ วิธีการตรวจดังกล่าวจึงเหมาะสำหรับการตรวจคัดกรองประชากรขนาดใหญ่ตามแผนงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย นอกจากนี้ยังได้พัฒนาขึ้นเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปโดยใช้ชื่อว่า KGU-DCIP-Clear reagent kit โดยได้ยื่นขอจดสิทธิบัตรไปแล้วและมีภาคเอกชนรับไปขยายผลเชิงพาณิชย์อย่างเป็นทางการ

คำหลัก Hemoglobin E , DCIP screening test , KGU-DCIP-Clear

Abstract

Project Code : RDG 3 / 13 / 2540

Project Title : Development of a reagent kit for simple and rapid screening
Of hemoglobin E

Investigators Supan Fucharoen , Goonnapa Fucharoen ,
Kanokwan Sanchaisuriya , Nattaya Sae-ung
Department of Clinical Chemistry and Department of Clinical
Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences ,
Khon Kaen University , Khon Kaen , Tel / Fax (043) 362 133
e-mail address supan@kku.ac.th

Duration July 1997 – July 2000

Hemoglobin E is the most common abnormal hemoglobin in Southeast Asia including Thailand. While the prevalence of HbE in general Thai population is about 20-30%, its prevalence in some minority groups is as high as 50%. This abnormal hemoglobin is caused by a GAG to AAG transition at codon 26 of β -globin gene that leads to a substitution of lysine for glutamic acid. Although no clinical symptom is observed with both homozygous and heterozygous HbE, its co-inheritance with β -thalassemia allele is usually resulted in a clinically severe thalassemia syndrome. Screening of HbE in large population is therefore one of the most important steps in prevention and control of thalassemia in Thailand. In this study, we have developed a simple and rapid screening test based on an oxidatively unstable characteristic of HbE using the dichlorophenolindophenol (DCIP) dye. With this method, HbE is oxidized and precipitated within 15 min at 37 °C using 2 ml reagent and only 20 μ l or one drop of whole blood. The precipitation of HbE molecule with the modified DCIP reagent can be recognized easily by naked eyes after removal of excess DCIP. We have tested this method with 1,307 subjects and detected the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of 99.8, 98.3, 97.2 and 99.9 %, respectively. False positive and false negative rates were only 1.1 and 0.08 %, respectively. The method developed is therefore appropriate for large scale screening program of thalassemia prevention and control. A reagent kit based on this methodology namely; the KKU-DCIP-Clear (patent pending) was developed and made commercially available by private sector.