



**DETECTION OF CHROMOSOMAL TRISOMIES 21, 18, 13, X AND Y  
BY USING SINGLE TUBE MULTIPLEX-PCR**

**THARATHIP RUANGVITHAYANON**  
2

**อภินันท์นาการ**  
**จาก**  
**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (CLINICAL PATHOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

2002

ISBN 974-04-1885-6

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
367de  
2002  
2

4137121 RACP/M : MAJOR:CLINICAL PATHOLOGY;

M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)

KEY WORDS : MULTIPLEX-PCR/TRISOMY/

ANEUPLOIDY/PRENATAL DIAGNOSIS

THARATHIP RUANGVITHAYANON : DETECTION OF  
TRISOMIES 21, 18, 13, X AND Y BY USING SINGLE TUBE  
MULTIPLEX-PCR. THESIS ADVISORS : BUDSABA

RERKAMNUAYCHOKE, D.M.Sc., WASAN CHANTRATITA,  
Ph.D., SAWAEK WEERAKIET, M.D. 73 P. ISBN 974-04-1885-6

The purpose of this study was to find a diagnosis test for different types of trisomy detection by using a single tube multiplex-PCR and to evaluate this method for trisomies 21, 18, 13, X and Y detection in prenatal and postnatal diagnosis. A total of 233 specimens from Human Genetics Unit, Department of Pathology, Ramathibodi Hospital during January to June 2000 were examined. The specimens were heparinized blood, amniotic fluid, chorionic villus sampling, and livebirth heart blood for 123, 85, 19 and 6 cases, respectively. Every specimen was subjected to multiplex-PCR in parallel with standard karyotype analysis. The multiplex-PCR primers in these reactions were specific for D21S11, D18S51, D13S258 and Amelogenin. The multiplex-PCR parameters of sensitivity, specificity, false positive and false negative were 68.4%, 90.3%, 8.1% and 5.1%, respectively. The efficiency of multiplex PCR for trisomy 21 detection, the sensitivity, specificity, false positive and false negative were 77.3%, 97.2%, 2.6%, and 2.1%, respectively, and for trisomy 18 were 57.1%, 99.1%, 0.8% and 1.3%, respectively. These parameter values of trisomy 21 and 18 detection were different and better than the other loci in the multiplex-PCR. In conclusion: the findings indicate that this multiplex-PCR is able to detect trisomies 21 and 18, but for trisomies 13, X and Y further investigation is needed. In addition, it is recommended to use standard karyotype analysis together with this multiplex-PCR. Therefore, the multiplex-PCR is a promising and reliable method for trisomies 21, 18, 13, X and Y detection in prenatal and postnatal diagnosis and can be developed for future automation.

4137121 RACP/M : สาขาวิชา : พยาธิวิทยาคลินิก ; วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)  
ชราธิป เรืองวิทยานนท์ : การตรวจหาสภาวะไตรโซมี 21, 18, 13, X และ Y ด้วยวิธี  
มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ (DETECTION OF TRISOMIES 21, 18, 13, X AND Y BY USING  
SINGLE TUBE MULTIPLEX-PCR). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : บุษบา ฤกษ์-  
อำนวยการ , D.M.Sc., วสันต์ จันทร์อาทิตย์, Ph.D., เสวก วีระเกียรติ. พบ. 73 หน้า ISBN 974-  
04-1885-6

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินวิธีการตรวจวิเคราะห์เทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ สำหรับประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดและหลังคลอดเพื่อหาสภาวะไตรโซมี 21, 18, 13, X และ Y โดยการทำปฏิกิริยาพร้อมกันภายในหลอดทดลองเดียวกัน ด้วยการเลือกใช้ primer ที่จำเพาะต่อตำแหน่ง D21S11, D18S51, D13S258 และ Amelogenin จากตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการหน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ในระหว่างเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน พ.ศ.2543 มีจำนวนทั้งสิ้น 233 ราย ได้แก่ ตัวอย่างเลือด, เซลล์น้ำคร่ำ, เซลล์เนื้อรก และเลือดจากหัวใจทารกที่ตายคลอด เป็นจำนวน 123, 85, 19 และ 6 ราย ตามลำดับ ทุกตัวอย่างได้รับการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์กับวิธีศึกษาโครโมโซมโดยการย้อมแถบสี ผลการศึกษาพบว่าวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์มีค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่าผลบวกปลอม และค่าผลลบปลอม เท่ากับ 68.4%, 90.3%, 8.1% และ 5.1% ตามลำดับ เมื่อจำแนกขีดความสามารถในการตรวจวินิจฉัยตามกลุ่มโรค พบว่า ผลการทดสอบหาสภาวะไตรโซมี 21 ให้ค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่าผลบวกปลอม และค่าผลลบปลอม เท่ากับ 77.3%, 97.2%, 2.6%, และ 2.1% ตามลำดับ ผลการทดสอบหาสภาวะไตรโซมี 18 ให้ค่า เท่ากับ 57.1%, 99.1%, 0.8% และ 1.3% ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าดีกว่า การตรวจหาสภาวะไตรโซมี 13 และโครโมโซมเพศ ดังนั้น วิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์นี้จึงสามารถนำมาใช้ตรวจหาสภาวะไตรโซมี 21 กับ 18 ได้ ส่วนการตรวจหาสภาวะไตรโซมี 13, X และ Y ยังต้องปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น อย่างไรก็ตามวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ตรวจหาสภาวะไตรโซมี 21, 18, 13, X และ Y ได้รวดเร็วและน่าเชื่อถือ สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยก่อนคลอดและหลังคลอด ตลอดจนเป็นแนวทางในการพัฒนาเพื่อใช้กับเครื่องตรวจอัตโนมัติต่อไป