

UNISEARCH (Unisearch Journal)

Volume 4 | Issue 3

Article 9

2017-01-01

แนะนำโครงการ การพัฒนาชุดตรวจดีเอ็นเอเชิงซ้อนสำหรับโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยง

ปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤษ

อรรณพ สุริยสมบูรณ์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/unisearch>



Part of the [Social and Behavioral Sciences Commons](#)

Recommended Citation

ชุ่มพฤษ, ปิยะศักดิ์ and สุริยสมบูรณ์, อรรณพ (2017) "แนะนำโครงการ การพัฒนาชุดตรวจดีเอ็นเอเชิงซ้อนสำหรับโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยง," *UNISEARCH (Unisearch Journal)*: Vol. 4: Iss. 3, Article 9.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/unisearch/vol4/iss3/9>

This News and Activity is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in UNISEARCH (Unisearch Journal) by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.



การพัฒนาชุดตรวจดีเอ็นเอเซ็นเซอร์ สำหรับโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยง



ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะศักดิ์ ช่อมพุกภ
อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ สุริยสมบุรณ์

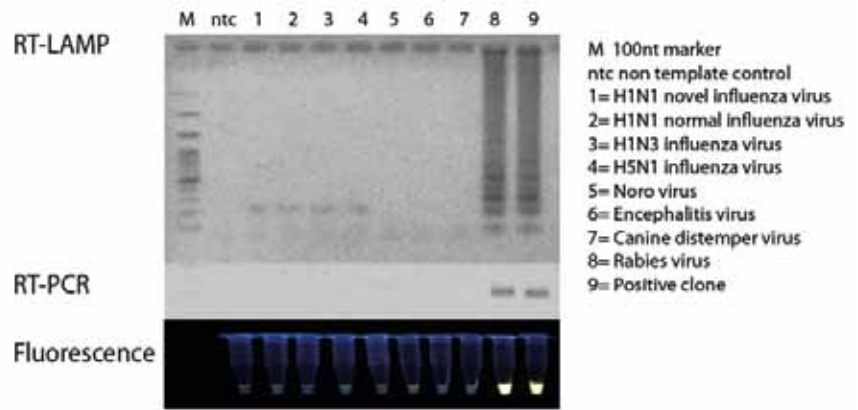
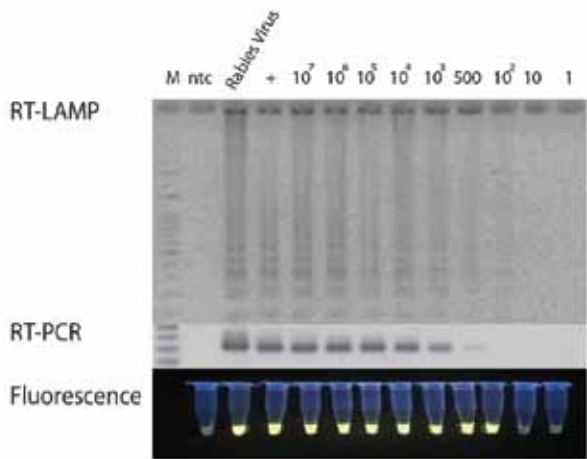


โรคพิษสุนัขบ้าเกิดจากเชื้อไวรัสในตระกูลแรบโดไวรัส (Rhabdoviridae) พบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทั้งสัตว์บก และสัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมติดเชื้อมีได้ง่าย โดยสุนัขและแมวเป็นสัตว์ที่มีความไวต่อการติดเชื้อและเป็นสัตว์ที่นำโรคมารสู่คนบ่อยที่สุด โรคพิษสุนัขบ้าเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเสียชีวิตของคนนับแสนทั่วโลกในแต่ละปี เนื่องจากโรคนี้ติดเชื้อมาจากระบบประสาทจากสัตว์สู่คน (zoonosis) โดยเมื่อเชื้อไวรัสเข้าสู่คน จะเข้าไปทำลายระบบการทำงานของประสาทส่วนกลาง เป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบในสมองและถึงแก่ชีวิตได้ ปัจจุบันโรคพิษสุนัขบ้าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อสมองอักเสบ (encephalitis) ที่สำคัญในประเทศกำลังพัฒนา และพบได้บ่อยในประเทศที่ไม่สามารถควบคุมสุนัขจรจัด หรือไม่ประสบผลสำเร็จในการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ สำหรับในประเทศไทย พบว่าปัญหาสำคัญของโรคพิษสุนัขบ้านี้เกิดจากการที่ยังไม่สามารถฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัขให้ครอบคลุมทุกตัวได้

แม้ว่าปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าทางห้องปฏิบัติการสามารถทำได้หลากหลายรูปแบบ แต่วิธีการตรวจวินิจฉัยที่มีอยู่กลับมีข้อจำกัด ยุ่งยาก ซับซ้อน และบางวิธีให้ผลลัพธ์ที่ไม่แม่นยำ ดังนั้น เพื่อเป็นการป้องกันและตรวจหาเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าให้ได้อย่างรวดเร็ว Chula Unisearch จึงได้รับการประสานงานจากบริษัท โพร เทส คิท จำกัด ให้ดำเนินโครงการศึกษาวิจัยพัฒนาชุดตรวจดีเอ็นเอเซ็นเซอร์สำหรับโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยง เพื่อพัฒนาชุดตรวจที่สามารถใช้ในการควบคุม ป้องกัน ตรวจติดตามโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพและใช้งานได้ง่าย

การพัฒนาชุดตรวจดีเอ็นเอเซ็นเซอร์สำหรับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยงที่คณะผู้วิจัยทำการศึกษานี้มีขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยโดยเริ่มต้นจากการวางแผนงานวิจัยและจัดเตรียมอุปกรณ์ ก่อนที่จะทำการออกแบบวิธีการสกัดตัวอย่างและระบบการวิเคราะห์ผลด้วยไบโอเซ็นเซอร์ (biosensor) จากนั้นจึงทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ด้วยการเก็บตัวอย่างจากสถานเสาวภา เริ่มพัฒนาวิธีการสกัดตัวอย่างและวิเคราะห์ผลก่อนที่จะทำการทดสอบตัวอย่างในภาคสนาม เพื่อวิเคราะห์แปรผล และสรุปผลนำไปเขียนรายงานและเผยแพร่ผลการศึกษาต่อไป

ทั้งนี้ จากการเปรียบเทียบเทคโนโลยีในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสพบว่า การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยหลักการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอแบบห่วงด้วยอุณหภูมิระนาบเดียว ที่เรียกว่า Reverse Transcription loop mediated isothermal amplification หรือ RT-LAMP มีข้อเด่นเหนือกว่าเทคนิคอื่น รวมถึงวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบลูกโซ่พอลิเมอร์เลส (polymerase chain reaction) หรือ PCR ที่เป็นที่ยอมรับ โดยเฉพาะในเรื่องของการใช้อุณหภูมิคงที่ประมาณ 60-65 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณนี้ยังสอดคล้องกับอุณหภูมิขณะสกัดสารพันธุกรรมของไวรัส และเมื่อพิจารณาถึงความเฉพาะเจาะจงของคู่ไพรเมอร์ (primer) พบว่ามีการใช้ไพรเมอร์สัมพันธ์กับยีนเป้าหมายถึง 6 บริเวณ ทำให้ปฏิกิริยามีความจำเพาะสูงกว่าของวิธี PCR ถึง 1000 เท่า และมีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมจากแหล่งที่มีสารพันธุกรรมหลากหลายชนิดปนกัน ทำให้สัดส่วนของระยะเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาลดลงจาก



ภาวะปกติมาก (จากประมาณ 3 ชั่วโมงในภาวะปกติเป็น 25-40 นาที) และผลจากการที่ใช้อุณหภูมิคงที่ทำให้ลดความจำเป็นในการพึ่งพาเครื่องควบคุมอุณหภูมิต่างระดับลงได้ จึงเหมาะสมกับการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคสนาม

สำหรับการตรวจวิเคราะห์ผล เนื่องจากผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้หลังการเพิ่มปริมาณมีโครงสร้างเป็นรูปซิกแซกยาวต่อเนื่องกัน การพัฒนาเทคนิคสำหรับการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเป้าหมายจึงมีความจำเพาะ โครงการวิจัยนี้เน้นพัฒนารูปแบบการตรวจสอบโดยนำหลักการทางฟิสิกส์โดยเฉพาะไบโอเซ็นเซอร์มาประยุกต์ใช้ เพื่อให้การตรวจวิเคราะห์ผลสามารถทำได้แม่นยำ ง่ายและรวดเร็วขึ้น

สำหรับไบโอเซ็นเซอร์นั้นคือ อุปกรณ์หรือวิธีการที่พัฒนาขึ้นจากการนำหลักการทางฟิสิกส์มาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบสัญญาณ โดยอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างตัวจับสัญญาณหรือรีเซปเตอร์ (receptor) ซึ่งจะคอยจับสัญญาณที่จำเพาะ (specific recognition) และตัวแปลงสัญญาณเหล่านี้ให้อยู่ในรูปสัญญาณที่จับต้องได้ในรูปตัวเลข หรือการ

เปลี่ยนแปลงที่เชื่อมโยงกับตัวเลขโดยใช้ทรานสดิวเซอร์ (transducer) เป็นหลัก การนำหลักการการตรวจวิเคราะห์ด้วยไบโอเซ็นเซอร์มาช่วยจะช่วยให้การตรวจสอบสัญญาณดีเอ็นเอมีความจำเพาะสูงขึ้น และเป็นไปตามหลักคู่สม (complementary) ผ่านปฏิกิริยาจับตัวระหว่างโพรบ (probe) ที่เป็นตัวตรวจจับกับสารพันธุกรรมเป้าหมาย แล้วแปลงให้เป็นสัญญาณทางกายภาพ ที่จะสอดคล้องกับปริมาณของดีเอ็นเอที่มีอยู่ในระบบ

การแปลงสัญญาณอาจเป็นได้ทั้งการแปลงในรูปไฟฟ้า โดยวัดค่าการเหนี่ยวนำทางไฟฟ้า วัดกระแส หรือการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางแสง เช่น การเรืองแสง ที่เกิดพร้อมกับการจับตัวของดีเอ็นเอ การเปลี่ยนแปลงของสีทางแสง เหล่านี้ช่วยให้ขั้นตอนการตรวจทำได้ง่ายและรวดเร็ว สามารถปรับให้การตรวจวัดอยู่ในรูปตัวเลข สอดคล้องกับปริมาณสัญญาณจริง (ตามปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ) และในหลายกรณียังสามารถตรวจวัดอย่างต่อเนื่องได้

ในการศึกษาวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยได้มุ่งเน้นการพัฒนาเทคนิคและวิธีการในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส โดยเปรียบเทียบรูปแบบพันธุกรรมของไวรัสสายพันธุ์ไทยกับสายพันธุ์อ้างอิงของต่างประเทศ บนพื้นฐานของยีน N และการใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง เพื่อออกแบบไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการทำ RT-LAMP และพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ผลโดยใช้การจับตัวของโมเลกุลสีกับโพรบที่เรืองแสง ทำให้ค่าที่อ่านได้มีความถูกต้องแม่นยำ และช่วยให้สามารถตรวจดีเอ็นเอจากการเรืองแสงได้ง่าย รวดเร็วกว่าวิธีที่ใช้ในปัจจุบันที่สำคัญ ตอบสนองหลักการ point of care ที่สนองความต้องการตรวจให้ทำได้ทุกที่ ทุกเวลาที่ต้องการ สามารถนำไปประยุกต์เพื่อการตรวจในภาคสนามได้เป็นอย่างดี การอ่านสัญญาณสามารถต่อยอดด้วยการอ่านสัญญาณผ่านโทรศัพท์มือถือ ช่วยให้ใช้งานได้ง่าย ซึ่งเป็นประโยชน์ในการควบคุม ป้องกัน ตรวจติดตามโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ และผลงานวิจัยยังพัฒนาต่อยอดเป็นสินค้าออกสู่ท้องตลาดได้ในอนาคต

