



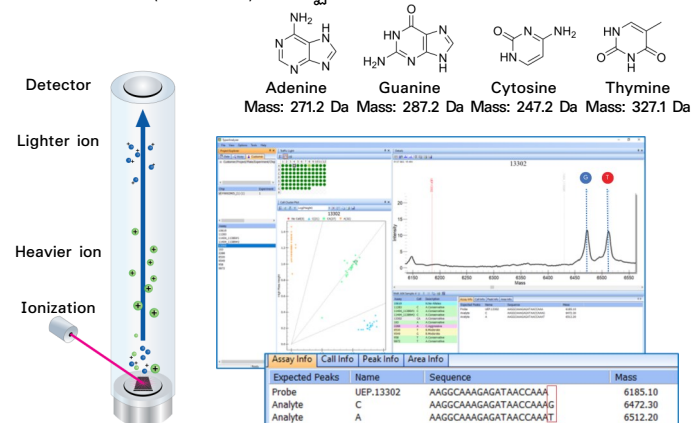
ข้อมูลโดย ปิยะภา หิรัญพัชรพงศ์

บทนำ

การตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ เป็นกระบวนการที่สำคัญในหลายสาขา ทั้งทางการแพทย์ การวิจัยชีววิทยา และอุตสาหกรรมอาหาร เช่น แบคทีเรีย ไวรัส รา และโปรโตซัว อาจเป็นสาเหตุของโรคที่มีความรุนแรงแตกต่างกัน ตั้งแต่การติดเชื้อเล็กน้อยไปจนถึงภาวะร้ายแรงที่เป็นอันตรายต่อชีวิต เพื่อระบุชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค ติดตามการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย หรือควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ เทคนิคดั้งเดิมยังคงมีประสิทธิภาพ แต่ก็มีข้อจำกัดเรื่องเวลา ความแม่นยำ และความสามารถในการตรวจหาเชื้อหลายชนิดพร้อมกัน

ปัจจุบันมีเทคนิคหลายวิธีในการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ โดยแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดที่ต่างกัน เทคนิคดั้งเดิม เช่น การเพาะเชื้อ (Culture) และการย้อมสี (Staining) สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะของเชื้อได้ดี แต่ต้องใช้เวลาาน ส่วนเทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น ปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) และการใช้ลำดับเบสของ DNA (Sequencing) ช่วยให้สามารถตรวจหาเชื้อได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำมากขึ้น

ในการตรวจหาเชื้อที่เป็นสาเหตุในการก่อโรค ได้มีการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์ที่เรียกว่า เทคนิค MassARRAY เป็นการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมโดย Multiplex PCR ร่วมกับ MALDI-TOF Mass Spectrometry ซึ่งใช้หลักการการตรวจวิเคราะห์ โดยอาศัยน้ำหนักมวลโมเลกุลของสารพันธุกรรม ซึ่งประกอบด้วย เบสพื้นฐาน 4 ชนิด อันได้แก่ A, G, C, T ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีที่ต่างกัน จึงมีน้ำหนักมวลที่ต่างกัน และด้วยหลักการนี้ จะแสดงให้เห็นความแตกต่างมวลของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่มีลำดับเบสที่แตกต่าง สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ถึง 40 ตำแหน่ง (markers) ในปฏิกิริยาเดียวกัน



ภาพ 1 ความแตกต่างของมวลของสารพันธุกรรมสามารถตรวจจับได้โดยเทคโนโลยี MassARRAY

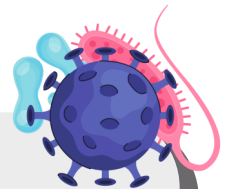
MassARRAY ในการตรวจเชื้อโรคมีการใช้งานอย่างไร?

การนำเทคโนโลยี MassARRAY มาใช้ในการตรวจเชื้อโรคสามารถทำได้ในหลายด้าน เช่น

1. การตรวจวินิจฉัยเชื้อก่อโรค (Pathogen Detection)
 - สามารถใช้ตรวจหา DNA ของเชื้อโรคจากตัวอย่างผู้ป่วย เช่น เลือด น้ำไขสันหลัง หรือเนื้อเยื่อ
 - มีความไวสูง สามารถตรวจพบเชื้อที่มีปริมาณน้อยในตัวอย่าง
 - ใช้ได้ทั้งเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อราบางชนิด
2. การตรวจสายพันธุ์ของเชื้อโรค (Strain Typing)
 - แยกแยะสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียหรือไวรัสที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม เช่น การตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* และสายพันธุ์ที่ดื้อยา
3. การตรวจสายพันธุ์ของเชื้อโรค (Strain Typing)
 - สามารถใช้ตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา เช่น *mecA* ใน MRSA หรือ *katG* และ *rpoB* ในเชื้อวัณโรคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ
4. การตรวจหาเชื้อก่อโรคในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมหรืออาหาร
 - ใช้ในการเฝ้าระวังเชื้อก่อโรคในน้ำ อาหาร และสิ่งแวดล้อม เช่น *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*
5. การตรวจเชื้อไวรัสในตัวอย่างคลินิก
 - ตรวจหาไวรัสที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เช่น Human Papillomavirus (HPV), Hepatitis B/C Virus, และ SARS-CoV-2

ข้อดีของเทคนิค MassARRAY

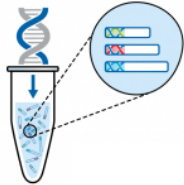
- ความแม่นยำสูง - สามารถตรวจหาการกลายพันธุ์ระดับเบสเดียวของเชื้อโรคได้
- ตรวจได้หลายเป้าหมายพร้อมกัน - วิเคราะห์เชื้อก่อโรคหรือยีนดื้อยาได้หลายชนิดในครั้งเดียว
- ใช้งานง่ายและรวดเร็ว - ให้ผลลัพธ์เร็วกว่าเทคนิคดั้งเดิม เช่น การเพาะเชื้อ
- ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยในการตรวจวิเคราะห์ ช่วยลดความซับซ้อนของกระบวนการเตรียมตัวอย่าง



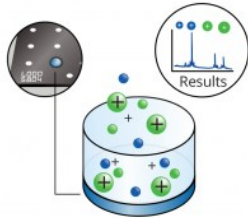
เทคนิค MassARRAY

เทคนิค MassARRAY เป็นกระบวนการ Multiplex PCR ร่วมกับ MALDI-TOF Mass Spectrometry

- Multiplex PCR: โฟกัสที่การขยายลำดับ DNA ในหลายตำแหน่งที่สนใจพร้อมกัน โดยใช้ไพรเมอร์ที่ถูกออกแบบจาก Multiple Sequence Alignment ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้การเปรียบเทียบลำดับเบสของ DNA จากหลายสายพันธุ์หรือหลายตัวอย่าง เพื่อระบุจุดที่ลำดับเบสเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างเป็นระบบ กระบวนการนี้สำคัญอย่างยิ่งในการออกแบบไพรเมอร์ (Primer) ที่มีความจำเพาะเจาะจงในแต่ละสายพันธุ์หรือลำดับเป้าหมายของเชื้อจุลินทรีย์ที่สนใจ



- MALDI-TOF Mass Spectrometry: เน้นการอ่านวิเคราะห์ความแตกต่างในลำดับพันธุกรรมอย่างแม่นยำจากสเปกตรัมพีคของมวลของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่มีลำดับเบสที่แตกต่าง

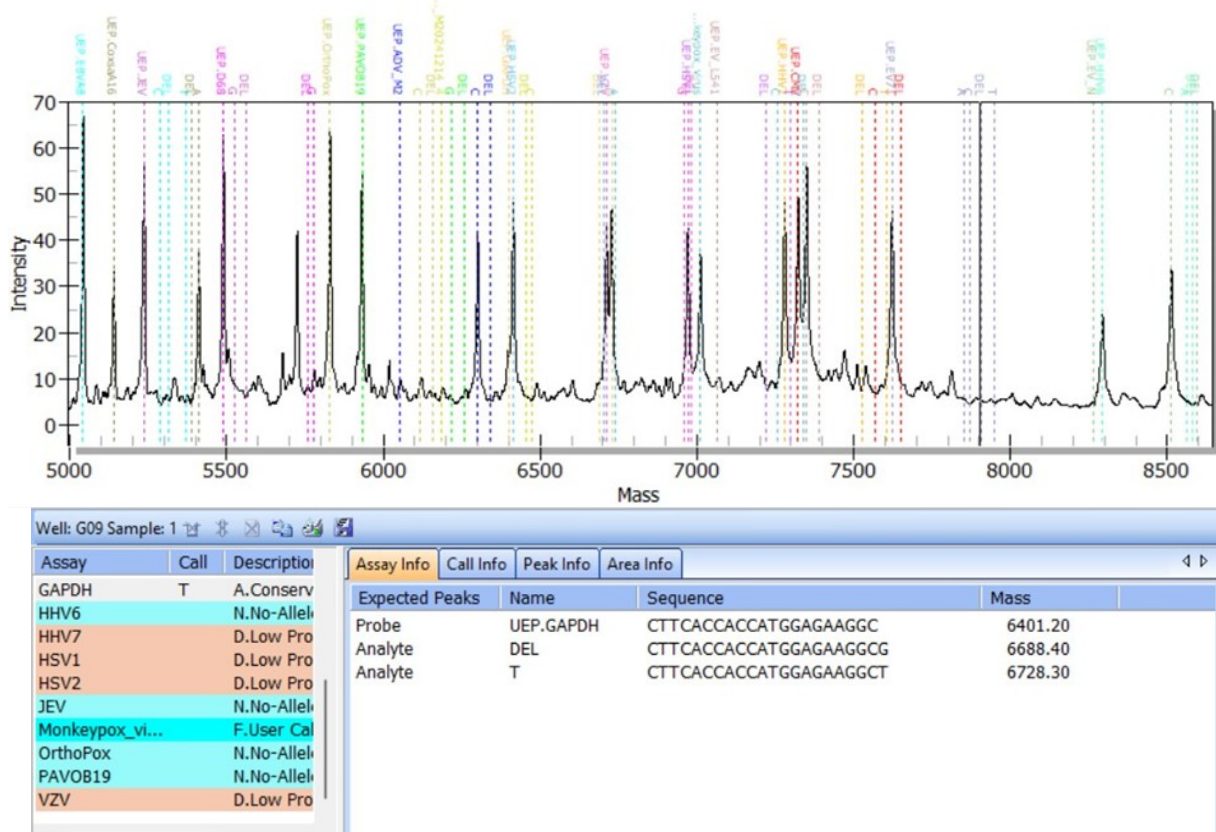


ขั้นตอนการทำงาน

1. เลือกเป้าหมายของเชื้อจุลินทรีย์ (Select Target Marker)
ระบุยีนเป้าหมายที่ใช้จำแนกชนิดของจุลินทรีย์ เช่น 16S rRNA สำหรับแบคทีเรีย หรือ ITS region สำหรับเชื้อรา จากนั้นเลือกดีเอ็นเอส่วนที่มีความจำเพาะต่อเชื้อที่ต้องการตรวจ
2. ออกแบบไพรเมอร์ (Design Primer)
ใช้ ซอฟต์แวร์ AgenaCx ในการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อเป้าหมาย ทำให้สามารถตรวจสอบได้หลายเชื้อพร้อมกันในปฏิกิริยาเดียว (Multiplex PCR)
3. เพิ่มประสิทธิภาพและตรวจสอบความถูกต้อง (Optimize & Validation)
เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อที่สนใจ และตรวจสอบความถูกต้องของไพรเมอร์และเงื่อนไขของปฏิกิริยา เพื่อให้ได้ผลที่แม่นยำ
4. ทดสอบตัวอย่าง (Sample Run)
นำผลิตภัณฑ์ PCR ไปทำ Enzymatic Cleavage เพื่อให้ได้ DNA fragment ขนาดต่าง ๆ โดย MALDI-TOF MS วัดมวลโมเลกุลของ DNA ที่ได้และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อระบุชนิดของเชื้อ
5. วิเคราะห์ข้อมูลและรายงานผล (Analyze Data & Report)
วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการรันตัวอย่าง รายงานผลการทดสอบว่ามีการตรวจพบเชื้อหรือไม่



ตัวอย่างผลการทดสอบ



การรายงานผลของ MassARRAY เป็นการแสดงผลแบบกราฟและพล็อตสเปกตรัม ข้อมูลจากเครื่อง MassARRAY จะถูกแสดงเป็น Mass Spectrometry Spectra หรือกราฟที่แสดงมวลโมเลกุลของผลิตภัณฑ์ PCR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อระบุลำดับเบสที่ตรวจพบ ใช้กราฟพิก (Peak Spectrum) ในการแสดงผลของการกลายพันธุ์ (Mutation) หรือ Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

เทคนิค MassARRAY เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการตรวจหาเชื้อจุลชีพ ด้วยความสามารถในการตรวจวิเคราะห์อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ทำให้เป็นทางเลือกที่ดีในการวินิจฉัยทางคลินิก การแพทย์ และการควบคุมคุณภาพด้านอุตสาหกรรมอาหารและสิ่งแวดล้อม



บริษัท ไลโฟมิกส์ จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก 0010 แขวงสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533

Agena
BIOSCIENCE



lifomicsth



@lifomics



www.lifomics.com