# บทที่ 1

# บทนำ

ปัจจุบันการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรีย(mycobacteria) เป็นปัญหาสำคัญระดับโลก อันมีสาเหตุหลักมาจากการแพร่ระบาดของ human immunodeficiency virus (HIV) การติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียจะเกิดจากทั้ง tuberculous และ nontuberculous mycobacteria(NTM) กลุ่ม NTM นี้สามารถก่อให้เกิดโรคที่พบบ่อยคือ pulmonary disease, lymphadenitis disease และ disseminated disease[1] มีความจำเป็นที่ต้องแยกเชื้อตระกูลนี้ถึงระดับสปีชีส์ (species) เพื่อหาความสำคัญทางคลินิคของเชื้อแต่ละสปีชีส์ การศึกษาทางระบาดวิทยาและการรักษาผู้ป่วย เนื่องจากยาที่ใช้รักษามัยโคแบคทีเรีย สปีชีส์หนึ่งมักจะไม่มีผลต่อเชื้ออีกสปีชีส์หนึ่ง[2,3,4]

วิธีการตรวจวินิจฉัยมัยโคแบคทีเรียขั้นแรก อาศัยการย้อมสีทนกรด (acid - fast staining) และขั้นต่อมาคือ การเพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่งส่งตรวจแล้วจึงนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้มาทดสอบว่าเป็นชนิดใด ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อนี้กินเวลาโดยเฉลี่ย 9-19 วัน สำหรับเชื้อวัณโรค และ 7-17 วัน สำหรับเชื้อมัยโคแบคทีเรียอื่น ๆ การนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้แล้วมาวินิจฉัยให้รู้ถึงชนิดในระดับสปีชีส์ทำได้หลายวิธี เช่น การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี การวิเคราะห์องค์ประกอบของไขมันที่ผนังเซลล์ การทดสอบด้วย species-specific antibodies และ species-specific nucleic acid probes เป็นต้น วิธีการเหล่านี้มีข้อเสียโดยรวมในเรื่องของระยะเวลาที่ใช้ทดสอบและการครอบคลุมถึงสปีชีส์ของเชื้อที่ต้องการแยกรวมทั้งความแน่นอนแม่นยำของการทดสอบ

ปัจจุบันเทคนิคการเพิ่มจำนวน nucleic acid เป็นทางเลือกใหม่ที่นำมาใช้สำหรับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อมัยโคแบคทีเรีย วิธีการส่วนใหญ่อาศัยการเพิ่มจำนวน nucleic acid ด้วย polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งมี targets ที่จำเพาะหลายชนิดและหนึ่งใน targets เหล่านั้น คือ ดี เอ็น เอ ที่ควบคุมการสร้าง 16 S rRNA (16 S rDNA) แม้ว่าลำดับเบสของ rDNA จะมีความคงตัว (conserved) แต่ก็พบว่าบาง region มี variable sequence ที่แตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ จึงมีการใช้ variable region นี้เป็น target สำหรับเพิ่มจำนวน [5,6,7] ในระยะ 5 ปีนี้มีรายงานการตรวจหามัยโคแบคทีเรียในระดับสปีชีส์ด้วยการเพิ่มจำนวน rDNA fragment แล้ววิเคราะห์ความแตกต่างด้วยเทคนิค DNA sequencing หรือการใช้ probe hybridization การใช้ probe นอกจากจะมีปัญหาเรื่อง cross reactivity ระหว่างสปีชีส์แล้ว probe ที่มียังไม่ครอบคลุมทุกสปีชีส์และอาจ

ต้องทดสอบมากกว่า 1 ครั้ง ถ้าเลือก probe ที่ทดสอบครั้งแรกไม่ตรงกับเชื้อที่นำมาทดสอบ การวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยการหาลำดับเบสมีข้อดีคือทำเพียง 1 ครั้ง ก็สามารถบอกสปีชีส์ของเชื้อได้ นอกจากนี้วิธีการหาลำดับเบสของ ดี เอ็น เอ ที่เพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR ยังทำให้สามารถตรวจพบมัยโคแบคทีเรีย สปีชีส์ใหม่ที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย[6] วิธีการนี้จึงมีข้อดีกว่าวิธีการอื่น ๆ ทั้งด้านความรวดเร็วและความถูกต้องครอบคลุมสปีชีส์ได้กว้างขวาง ดังนั้นถ้าห้องปฏิบัติการมีเครื่องมือและความพร้อมด้านเทคนิคนี้อยู่แล้วก็น่าจะนำวิธีการนี้มาใช้ในการตรวจเชื้อ เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียให้ถูกต้องแน่นอนยิ่งขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อจำแนกสปีชีส์ของเชื้อมัยโคแบคทีเรียโดยการหาลำดับเบสของ 16S ribosomal DNA fragment ที่เพิ่มจำนวนด้วย polymerase chain reaction

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย