

ดูกัน...สารพัดเทคนิควิธีตรวจเชื้อ "ไข้หวัดใหญ่" (23/5/2552)

โดย ASTVผู้จัดการออนไลน์ 20 พฤษภาคม 2552 15:40 น.



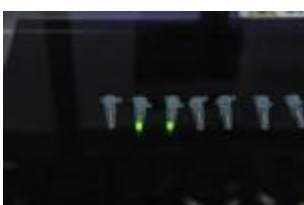
รศ.ดร.วสันต์ จันทราทิตย์ กับ ชุดนํายาสำหรับตรวจวินิจฉัย ไข้หวัดใหญ่แบบครบวงจรด้วย เทคนิคโพโรซีควอนซิง



การใช้เทคนิคโพโรซีควอนซิง ร่วมกับนํายาตรวจเฉพาะที่ พัฒนาขึ้น สามารถถอดรหัส พันธุกรรมและบอกได้ว่าเป็น เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ สายพันธุ์ใด



ผศ.ดร.ปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤษ กับ "CU-DETECT" ชุดตรวจ ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ 2009 (ภาพจาก คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย)



ชุดตรวจซียูดีเทคแสดงผลการ ตรวจไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่

การระบาดของเชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ 2009 ส่งผลให้เกิดความพยายามพัฒนาเทคนิคในการตรวจโรคอุบัติใหม่ชนิดนี้ให้รู้ผลได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ เพื่อยับยั้งการแพร่กระจาย แต่ก่อนที่将有ชุดตรวจ ที่ทำได้สะดวกรวดเร็วกว่าเดิม แต่ให้ผลแม่นยำไม่ต่างกัน แพทย์และนักวิทยาศาสตร์เขาเคยใช้วิธีการตรวจแบบใดกันบ้าง ทีมข่าววิทยาศาสตร์ ASTVผู้จัดการออนไลน์ อาสาพาไปทำความรู้จักเทคนิคเหล่านั้นกัน พร้อมทั้งชุดตรวจไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ฝีมือคนไทย

นับตั้งแต่ไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ (Influenza A) สายพันธุ์ใหม่ 2009 หรือสายพันธุ์ เอช1เอ็น1 2009 (H1N1 2009) เริ่มระบาดขึ้นในประเทศเม็กซิโกเมื่อประมาณกลางเดือน มี.ค. 52 ที่ผ่านมา และลุกลามไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลกรวม 40 ประเทศ ภายในระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ส่งผลให้ผู้ติดเชื้อแล้วกว่า 8,000 ราย รวมทั้งประเทศไทยด้วย

ทว่าอัตราการเสียชีวิตยังอยู่ในระดับต่ำเพียง 0.5% จึงนับว่ายังไม่รุนแรงมากเท่าโรคอุบัติใหม่ที่ผ่านมา

แต่ท่ามกลางวิกฤติย่อมมีโอกาสเสมอ เพราะทำให้นักวิจัยไทยได้แสดงความสามารถในการพัฒนาชุดตรวจหรือเทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ที่ถูกต้อง แม่นยำ ทำได้รวดเร็ว และเสียค่าใช้จ่ายน้อยกว่าเดิม เพื่อให้สามารถควบคุมและป้องกันได้ทันท่วงทีหากมีการระบาดเข้ามาในประเทศไทย

จาก "สตริปเทสต์" สู่ "เรียลไทม์พีซีอาร์"

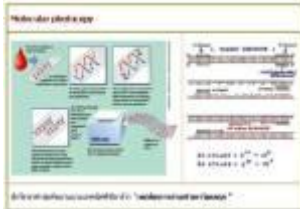
ทีมข่าววิทยาศาสตร์ ASTVผู้จัดการออนไลน์ ได้สัมภาษณ์ทางโทรศัพท์ไปยัง รศ.ดร.วสันต์ จันทราทิตย์ หัวหน้าหน่วยไวรัสวิทยาและจุลชีววิทยา โมเลกุล คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล เกี่ยวกับพัฒนาการของการตรวจวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่ ได้รับคำอธิบายว่า แต่เดิมก่อนที่จะมีการระบาดของโรคซาร์ส (SARS) หรือโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรงเมื่อหลายปีก่อน โรคไข้หวัดใหญ่ตามฤดูกาลและการตรวจวินิจฉัยไม่ใช่ปัญหาใหญ่เหมือนเช่นทุกวันนี้

วิธีการตรวจวินิจฉัยในเบื้องต้น ทำได้โดยการใช้ชุด "สตริปเทสต์" (Strip test) หรือ "ราพิดเทสต์" (rapid test) ที่ใช้เวลาตรวจสิ่งส่งตรวจหรือนํ้าคัดหลังจากโพรงจมูกของผู้ป่วย เพียง 15-20 นาที ก็รู้ผลว่าเป็นโรคไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ (Influenza A) หรือไข้หวัดใหญ่ชนิดบี (Influenza B)

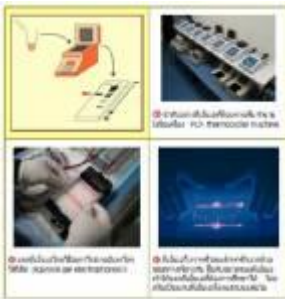
จากนั้นจึงตรวจยืนยันด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) อีกครั้งหนึ่ง ซึ่งใช้เวลาราว 7-8 ชั่วโมง โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างรวดเร็ว และแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวน จะสามารถบอกได้เลยว่า เป็นโรคไข้หวัดใหญ่ที่เกิดจากเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใด เช่น เอช1เอ็น1 (H1N1) ที่กำลังระบาด หรือ เอช3เอ็น2 (H3N2) ไข้หวัดใหญ่ตามฤดูกาล

ทว่าเมื่อเวลาในการวินิจฉัยกลายเป็นข้อจำกัด นักวิทยาศาสตร์จึงพัฒนาเครื่องเรียลไทม์พีซีอาร์ (real time PCR) ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าพีซีอาร์ธรรมดา โดยสามารถตรวจได้รวดเร็วกว่า และทำได้หลายตัวอย่างพร้อมกัน ซึ่งประเทศไทยเริ่มนำเครื่องเรียลไทม์พีซีอาร์เข้ามาใช้ในการตรวจ

2009 ด้วยการเรืองแสงสีเขียว เมื่อส่องดูด้วยแสงยูวี หากตรวจพบเชื้อดังกล่าว (ภาพจาก คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)



การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออย่างรวดเร็วด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (ภาพจาก www.biotech.or.th)



ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้นเพื่อวิเคราะห์ผล (ภาพจาก www.biotech.or.th)



เครื่องเรียลไทม์พีซีอาร์ (ภาพจาก cgb.indiana.edu)

วินิจฉัยทางการแพทย์ ตั้งแต่มีการระบาดของโรคซาร์ส จนกระทั่งปัจจุบันนี้ โรงพยาบาลเกือบทุกแห่งก็มีเครื่องมือชนิดนี้ไว้ในงาน

หลักการของเรียลไทม์พีซีอาร์คล้ายกับพีซีอาร์ธรรมดา คือการเพิ่มปริมาณอาร์เอ็นเอของไวรัส ด้วยวิธีอาร์ที-พีซีอาร์ (RT-PCR) และอาศัยหลักการทางอณูชีววิทยา โดยใช้โพรบ (Probe) หรือดีเอ็นเอตรวจติดตาม เพื่อทำปฏิกิริยากับอาร์เอ็นเอของไวรัสอย่างจำเพาะ ทำให้ทราบได้ว่า อาร์เอ็นเอตัวอย่างนั้นเป็นของไวรัสสายพันธุ์ใด ซึ่งใช้เวลาประมาณ 4-7 ชั่วโมง จึงสะดวกและวินิจฉัยได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

"ไพโรซีควนเซอร์" แยกแยะสายพันธุ์ไวรัส พร้อมให้ข้อมูลการกลายพันธุ์

เนื่องจากข้อจำกัดบางประการของเทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์ จึงมีการพัฒนาเทคนิคที่เรียกว่า "ไพโรซีควนซิง" (Pyrosequencing) ที่ช่วยในการถอดรหัสพันธุกรรมของดีเอ็นเอสายสั้นๆ โดยเฉพาะสารพันธุกรรมของไวรัส ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ด้วยเครื่องไพโรซีควนเซอร์ (Pyrosequencer) และนำยาสำหรับตรวจที่มีไพรเมอร์ (Primer) หรือดีเอ็นเอเริ่มต้น ในการถอดรหัสดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ต้องทราบ

ทั้งนี้ รศ.ดร.วสันต์ ได้พัฒนาไพรเมอร์และนำยาสำหรับตรวจวินิจฉัยไข้หวัดใหญ่แบบครบวงจร จึงทำให้ทราบได้ว่า เป็นไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอสายพันธุ์ใด พร้อมทั้งตำแหน่งของดีเอ็นเอที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งอาจส่งผลให้เชื้อชนิดนี้ตื้อยาได้

เทคนิคไพโรซีควนซิงได้เปรียบเรียลไทม์พีซีอาร์ตรงที่เป็นการอ่านรหัสพันธุกรรมของไวรัสโดยตรง ทำให้สามารถชี้ชัดสายพันธุ์ของไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอได้เกือบทั้งหมด ทั้งไข้หวัดใหญ่ตามฤดูกาล ไข้หวัดนก และไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 รวมทั้งโอกาสการตื้อยา

ขณะที่เรียลไทม์พีซีอาร์ จะอาศัยการจับกันอย่างจำเพาะของสารพันธุกรรมของไวรัสกับดีเอ็นเอตรวจติดตาม ซึ่งสามารถแยกแยะสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสได้ทีละ 2-3 สายพันธุ์เท่านั้น และไม่สามารถบอกได้ว่ากลายพันธุ์หรือไม่

แต่เครื่องไพโรซีควนซิงก็ยังมีราคาแพงมากกว่า และในประเทศไทยมีอยู่เพียงไม่กี่เครื่องเท่านั้น แต่ทั้ง 2 วิธีนี้ใช้เวลาตรวจประมาณ 4-7 ชั่วโมง และค่าใช้จ่ายประมาณ 500 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง โดยมีความไวแค่ 10 อนุภาคของไวรัส (หรือใช้ตัวอย่างเชื้อเพียง 10 ตัว) และมีความแม่นยำสูงมากจนเกือบ 100%

ชุดตรวจไข้หวัดใหญ่พันธุ์ใหม่ สะดวกใช้ภาคสนาม

อย่างไรก็ตาม ไม่ว่าจะตรวจด้วยวิธีเรียลไทม์พีซีอาร์ หรือไพโรซีควนซิงก็ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง และทำได้ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น จึงได้มีการพัฒนาชุดตรวจวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่ 2009 ที่สะดวกแก่การใช้งานนอกสถานที่และไม่ต้องพึ่งพาเครื่องมือขั้นสูงใดๆ โดยทีมวิจัยของ ผศ.ดร.ปิยะศักดิ์ ชุ่มพุกษ์ อาจารย์ประจำห้องปฏิบัติการทรานสเจเนติกเทคโนโลยีในพืชและไบโอเซ็นเซอร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่มีชื่อเรียกว่า ซียูดีเทค (CU-DETECT) ซึ่งเป็นผลงานการพัฒนาร่วมกับคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ทำการตรวจ จะต้องสกัดอาร์เอ็นเอของไวรัสต้องส่งสัยจากน้ำมูกหรือน้ำลายของผู้ป่วย ด้วยชุดสำเร็จรูปสกัดอาร์เอ็นเอที่ใช้กันอยู่แล้ว จากนั้นนำอาร์เอ็นเอที่สกัดได้จำนวน 2 ไมโครลิตร ใส่เข้าไปในชุดตรวจซียูดีเทค ซึ่งเป็นหลอดบรรจุยาสำเร็จรูปที่มีตัวจับดีเอ็นเอ (DNA binder) ที่จำเพาะต่อ

เชื้อไวรัส H1N1 2009 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสประมาณ 40-60 นาที เพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส และปฏิกิริยาระหว่างอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัส H1N1 2009 กับดีเอ็นเอไบโอดีอร์

สังเกตผลจากการเรืองแสงของสารในหลอดภายใต้แสงยูวีหรือเครื่องตรวจธนบัตรปลอมและดูด้วยตาเปล่า หากมีการเรืองแสงสีเขียว (สีที่เรืองแสงขึ้นอยู่กับ DNA binder ที่ใช้) แสดงว่าเป็นเชื้อ H1N1 2009 แต่หากไม่มีการเรืองแสงใดๆ เลย แสดงว่าเป็นเชื้อไวรัสชนิดอื่น โดยมีความไวแม้มีเชื้อไวรัสเพียง 10 อนุภาค ซึ่งเทคนิคนี้ นักวิจัยพัฒนามาจากเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์สารก่อภูมิแพ้หรือดีเอ็นเอแปลกปลอมในอาหารที่มีความเชี่ยวชาญอยู่ก่อนแล้ว

ระบาดแค่ 2 เดือน ก็แจ้งเกิดเทคนิคใหม่ตรวจหัดใหญ่ 2009

จากที่กล่าวมาข้างต้น เป็นส่วนหนึ่งของเทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ที่พัฒนาขึ้นโดยนักวิจัยไทย ขณะที่ยานาประเทศก็มีการพัฒนาเทคนิคเหล่านี้ขึ้นมาใช้ด้วยเช่นกัน แต่จากประสบการณ์ของโรคอุบัติใหม่ที่ผ่านมา ทั้งโรคซาร์สและไข้หวัดนก รวมทั้งเทคนิคการตรวจวินิจฉัยหรือการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง และความร่วมมือระหว่างหน่วยงานทั้งในและต่างประเทศ ทำให้การพัฒนาวิธีตรวจวินิจฉัยไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ดำเนินไปได้อย่างรวดเร็วทันการณ์

จากวิธีการตรวจวินิจฉัยไข้หวัดใหญ่แบบดั้งเดิมจนถึงเทคนิคใหม่ล่าสุด ทีมชาววิทยาศาสตร์ได้แยกให้ดูว่า แต่ละวิธีมีจุดเด่นหรือข้อจำกัดกันอย่างไรบ้าง

สตรีพเทสต์ หรือ ราพิดเทสต์

เวลาในการตรวจ : 15-20 นาที
ความแม่นยำ : 50-70%
ค่าใช้จ่ายต่อ 1 ตัวอย่าง : 200-300 บาท
จุดเด่น : ราคาถูก, ทำได้รวดเร็ว
ข้อจำกัด : บอกได้แค่ว่าเป็นโรคไข้หวัดใหญ่ชนิดเอหรือบีได้เท่านั้น, ความแม่นยำไม่สูงมาก, ต้องทำให้ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 3

พีซีอาร์

เวลาในการตรวจ : 7-8 ชั่วโมง
ความแม่นยำ : 100%
ค่าใช้จ่ายต่อ 1 ตัวอย่าง : 300-400 บาท
จุดเด่น : ผลการตรวจแม่นยำ, เครื่องพีซีอาร์มีใช้อย่างแพร่หลายในโรงพยาบาลทั่วไป
ข้อจำกัด : ใช้เวลานาน จึงไม่นิยมใช้เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคที่ต้องการความเร่งด่วน

เรียลไทม์พีซีอาร์

เวลาในการตรวจ : 4-7 ชั่วโมง
ความแม่นยำ : 100%
ค่าใช้จ่ายต่อ 1 ตัวอย่าง : 500 บาท
จุดเด่น : ความไวสูง, ผลการตรวจแม่นยำ, ใช้เวลาไม่นาน, ทำได้หลายสิบตัวอย่างพร้อมกัน (ขึ้นอยู่กับเครื่องเรียลไทม์พีซีอาร์แต่ละรุ่น)
ข้อจำกัด : แยกแยะเชื้อไวรัสได้ครั้งละ 1-2 สายพันธุ์ เท่านั้น, เครื่องเรียลไทม์พีซีอาร์ราคาสูง 2-4 ล้านบาท แต่มีใช้ทั่วไปในโรงพยาบาลขนาดใหญ่

ไฟโรซีควอนซิง

เวลาในการตรวจ : 4-7 ชั่วโมง

ความแม่นยำ : 100%

ค่าใช้จ่ายต่อ 1 ตัวอย่าง : 500 บาท

จุดเด่น : ความไวสูง, ผลการตรวจแม่นยำ, ใช้เวลาไม่นาน, ทำได้มากถึง 90 ตัวอย่างพร้อมกัน, แยกแยะสายพันธุ์ไวรัสไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 และไข้หวัดใหญ่ชนิดเอได้เกือบทั้งหมด, บอกตำแหน่งการกลายพันธุ์และโอกาสการดื้อยาได้

ข้อจำกัด : เครื่องไฟโรซีควอนเซอร์มีราคาสูงประมาณ 5 ล้านบาท และในประเทศไทยมีใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเพียงไม่กี่เครื่องเท่านั้น

ชุดตรวจ "ซีดีเทค"

เวลาในการตรวจ : ไม่เกิน 1 ชั่วโมง

ความแม่นยำ : เทียบเท่าวิธีมาตรฐาน

ค่าใช้จ่ายต่อ 1 ตัวอย่าง : 350 บาท (ชุดน้ำยาตรวจของซีดีเทค 150 บาท และ ชุดสกัดอาร์เอ็นเอ 200 บาท)

จุดเด่น : ใช้งานง่าย, ความแม่นยำสูง, ค่าใช้จ่ายไม่แพง, ประหยัดเวลา, สะดวกในการใช้ภาคสนาม, ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาสูงในการตรวจวิเคราะห์

ข้อจำกัด : ตรวจได้เฉพาะเชื้อไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 หากเป็นสายพันธุ์อื่นจะไม่สามารถบอกได้

นอกจากเทคนิคและชุดตรวจที่กล่าวมา ในประเทศไทยมีหลายสถาบันที่สามารถตรวจวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่ H1N1 2009 ที่ให้ผลการตรวจถูกต้องแม่นยำในเวลาไม่เกิน 24 ชม. เช่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ศิริราชพยาบาล และโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยส่วนใหญ่ใช้เทคนิคของเรียลไทม์พีซีอาร์ เนื่องจากทำได้รวดเร็ว ให้ผลแม่นยำ และเป็นเทคนิคที่ใช้กันแพร่หลายมานานแล้ว

แต่เชื่อว่าเทคนิคหรือชุดตรวจที่ได้รับการพัฒนาขึ้นในวันนี้จะมีบทบาทสำคัญมากขึ้นในอนาคตในด้านการตรวจวินิจฉัยโรคอุบัติใหม่หรือเป็นต้นแบบของการพัฒนาเทคนิคและชุดตรวจแบบใหม่ที่มีประสิทธิภาพดียิ่งกว่าเดิม.