

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบัน โรคไข้เลือดออกนับว่าเป็นโรคที่สำคัญและจำเป็นที่จะต้องได้รับการป้องกันและควบคุมโรคหนึ่ง จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลกพบว่าเมื่อปีพ.ศ. 2546 มีผู้เสียชีวิตจากการติดเชื้อไข้เลือดออกสูงถึง 2,500 ล้านคน และมีการแพร่กระจายของโรคนี้ในประเทศต่างๆทั่วโลกมากกว่า 100 ประเทศ [1] สำหรับประเทศไทยนั้น ข้อมูลของสำนักกระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขระบุว่า ในปี พ.ศ.2548 สำนักกระบาดวิทยาได้รับรายงานผู้ป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกทั่วประเทศไทยจำนวน 45,893 ราย และมีอัตราป่วย 73.79 คนต่อประชากรแสนคน สำหรับประเทศเพื่อนบ้านที่ใกล้ชิดกับประเทศไทย มีรายงานว่า สิงคโปร์รายงานจำนวนผู้ป่วยในปี พ.ศ. 2548 มากกว่าปี พ.ศ. 2547 ร้อยละ 42.00 ในขณะที่มาเลเซียรายงานจำนวนผู้ป่วยในปี พ.ศ. 2548 มากกว่าปี พ.ศ. 2547 ร้อยละ 22.00 ส่วนอินโดนีเซียนั้นมีจำนวนผู้ป่วยในปี พ.ศ. 2548 ใกล้เคียงกับปี พ.ศ. 2547 แต่จำนวนผู้ป่วยในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2548 มากกว่าเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2548 ถึง 4 เท่า ซึ่งอาจแสดงให้เห็นแนวโน้มของการระบาดของโรคไข้เลือดออกในภูมิภาคแถบนี้ได้ [2]

อาการของโรคไข้เลือดออกอาจเป็นได้ตั้งแต่อาการคล้ายไข้หวัดธรรมดาและมีผื่นแดงจนกระทั่งรุนแรงถึงขั้นช็อคหรือเสียชีวิตได้ ปัจจุบันยังไม่มียาฆ่าเชื้อไวรัสไข้เลือดออกหรือวัคซีนที่ใช้ป้องกันโรคไข้เลือดออก ดังนั้น การตรวจวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องและมีประสิทธิภาพจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้การรักษาเป็นไปอย่างถูกต้องและรวดเร็ว สำหรับการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออกในปัจจุบันนี้แบ่งออกได้เป็น 2 แบบ แบบแรก คือ การตรวจโดยใช้การแยกเพาะเชื้อจากซีรัมหรือเนื้อเยื่อของผู้ป่วย ส่วนแบบที่สอง คือ การตรวจทางชีวโมเลกุลโดยการตรวจแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อต้านเชื้อไวรัส การตรวจหา E protein หรือ NS1 protein และการตรวจหาอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัส ตัวอย่างของการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออก แสดงไว้ดังตารางที่ 1.1 [3-6]

แม้ว่าการแยกเพาะเชื้อไวรัสจะเป็นวิธีที่ใช้วินิจฉัยโรคได้โดยตรงแต่จะต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะ ใช้กำลังคนและใช้เวลานานทำให้ไม่สามารถวินิจฉัยโรคได้ในช่วงแรกของการติดเชื้อ สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีนั้นแม้จะทำได้ง่ายกว่าแต่ก็ไม่สามารถวินิจฉัยโรคได้ในช่วงแรก

เช่นกัน เพราะร่างกายต้องใช้เวลา 4-5 วันในการสร้างแอนติบอดี นอกจากนี้ ยังอาจเกิดการจับกันของแอนติเจนกับแอนติบอดีข้ามชนิดกันได้ (cross reactivity) อีกด้วย [6] ส่วนการตรวจโดยใช้กระบวนการพีซีอาร์ (PCR) เพื่อตรวจหาอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัส นั้น แม้จะตรวจได้ตั้งแต่ระยะแรกที่มีการติดเชื้อ แต่จะมีปัญหาจากการปนเปื้อนของตัวอย่าง (sample contamination) และต้องทำภายในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์เฉพาะเท่านั้น [5-6]

ตารางที่ 1.1 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออก ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจ เวลาที่ใช้ตรวจ และค่าใช้จ่ายในการตรวจ [3]

วิธีทดสอบ	ตัวอย่างที่ใช้	เวลาที่ใช้ตรวจ (วัน)	ค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่าง (บาท)
Hemagglutination inhibition test (HI)	ตัวอย่างคู่ของน้ำเหลือง เก็บห่างกัน 7 วัน	3	25
IgM/IgG antibody capture (MAC/GAC) ELISA	ตัวอย่างคู่ของน้ำเหลือง เก็บห่างกัน 7 วัน	1	800
การแยกเชื้อและพิสูจน์ (Virus isolation and identification) โดยใช้ เซลล์เพาะเลี้ยง C6/36	ตัวอย่างเดี่ยวควรเก็บในวันที่ผู้ป่วยยังมีไข้หรือในวันที่ผู้ป่วยมาโรงพยาบาล และเก็บด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ	30	800
Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)	ตัวอย่างเดี่ยวควรเก็บในวันที่ผู้ป่วยยังมีไข้หรือในวันที่ผู้ป่วยมาโรงพยาบาล และเก็บด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ	2	1,500

หนึ่งในวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคที่ได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน ได้แก่ การพัฒนาตัวตรวจรู้ชีวภาพ (biosensor) ตัวตรวจรู้ชีวภาพที่ใช้กันในปัจจุบันสามารถแบ่งตามลักษณะการวัดของตัวตรวจรู้ได้หลายประเภท แต่ตัวตรวจรู้ชนิดหนึ่งที่มีความนิยม คือ ตัว

ตรวจรู้แบบวัดมวล (mass sensor) ที่ใช้ควอตซ์คริสตัลไมโครบาลานซ์ (quartz crystal microbalance: QCM) เป็นทรานส์ดิวเซอร์ เนื่องจากการใช้ QCM มีข้อดี คือ QCM เป็นทรานส์ดิวเซอร์ที่หาง่าย ราคาถูก นำกลับมาใช้ใหม่ได้ และมีระบบวัดที่ไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน นอกจากนี้ QCM ยังสามารถใช้ตรวจสอบสารชีวภาพได้หลากหลาย ทั้งไวรัส แบคทีเรีย เซลล์ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และสารที่เป็นโมเลกุลเล็กๆ เช่น ยาหรือฮอร์โมนได้ มีงานวิจัยหลายชิ้นที่พัฒนา QCM เพื่อใช้เป็นตัวตรวจรู้ชีวภาพทั้งที่ใช้เป็นตัวตรวจดีเอ็นเอ และใช้เป็นอิมมูโนเซนเซอร์ (immunosensor) [7-11]

สำหรับการประยุกต์ใช้ QCM เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคใช้เลือดออกนั้น มีงานวิจัยหลายชิ้นที่ได้พัฒนา QCM เพื่อตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก โดยจะใช้เทคนิคในการปรับสภาพผิวของ QCM และเทคนิคในการตรึงแอนติบอดีที่แตกต่างกันออกไป บางงานวิจัยจะใช้โพลีเมอร์เคลือบบนผิวของ QCM ก่อน ในขณะที่บางงานวิจัยจะศึกษาการตรึงแอนติบอดีโดยใช้ glutaraldehyde, protein A และ carbodiimide เป็นตัวปรับสภาพผิวก่อนที่จะตรึงแอนติบอดีลงไป เนื่องจากกระบวนการที่ใช้ในการปรับสภาพผิวและตรึงแอนติบอดีด้วยวิธีเหล่านี้จะประกอบด้วยขั้นตอนในการทำงานหลายขั้นตอน และระบบวัดที่ใช้ในงานวิจัยทั้งหมดดังกล่าวข้างต้น ยังเป็นระบบวัดแบบไหลผ่านสาร (flow cell system) ซึ่งต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะที่ประกอบด้วยปั๊ม ระบบฉีดสารตัวอย่าง และเซลล์ที่ออกแบบพิเศษเพื่อยึด QCM [12-15] ดังนั้นการใช้งานจึงค่อนข้างที่จะมีความยุ่งยากและซับซ้อน ทำให้ไม่เหมาะแก่การใช้งานในภาคสนาม

ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาการตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกโดยใช้ QCM ขึ้น โดยมีเทคนิคการตรึงแอนติบอดีลงบนผิว QCM โดยใช้โพลีสไตรีน เนื่องจากโพลีสไตรีนสามารถลดความขรุขระของพื้นผิวลงได้จึงทำให้การเกาะของแอนติบอดีบนผิวโพลีสไตรีนมีความเป็นระเบียบและหนาแน่น [16-18] นอกจากนี้ ระบบวัดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ยังเป็นระบบวัดแบบที่ไม่ใช่ระบบไหลผ่านสาร เครื่องมือวัดที่ใช้จึงสามารถเคลื่อนย้ายได้สะดวก และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองก็เป็นเครื่องมือปรกติที่มีใช้กันอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการทั่วไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษา ออกแบบ และพัฒนาระบบวัดที่ใช้ควอตซ์คริสตัลไมโครบาลานซ์ (quartz crystal microbalance : QCM) เป็นทรานส์ดิวเซอร์ในการตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก
2. ทดลองตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกด้วยเครื่องมือที่พัฒนาขึ้น

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. พัฒนาระบบวัดที่ใช้ QCM เป็นทรานสดิวเซอร์ในการตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก
2. หาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอนติเจนกับความถี่ที่เปลี่ยนไปของ QCM

1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1. ศึกษาหลักการทำงานของ QCM
2. ศึกษาความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับแอนติเจน แอนติบอดีและเทคนิคการเตรียมพื้นผิว QCM ให้เหมาะสมกับการตรึงแอนติบอดี
3. ศึกษาถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อการวัดแอนติเจนโดยใช้ QCM
4. ศึกษา ออกแบบ และสร้างวงจรที่ใช้กับ QCM
5. ทดลองวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออก
6. วิเคราะห์และสรุปผลที่ได้จากการวัดแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกด้วย QCM

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. เป็นการตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกด้วยวิธีที่แตกต่างจากวิธีที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน
2. ทรานสดิวเซอร์ที่ใช้ในการตรวจแอนติเจนของไวรัสไข้เลือดออกสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำใหม่ได้ทำให้ช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการตรวจวินิจฉัย
3. เป็นแนวทางในการประดิษฐ์เครื่องมือตรวจแอนติเจนชนิดอื่นๆ โดยใช้ QCM ได้