บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลและขอเสนอแนะ

จากการศึกษาตัวอย่างไก่สดจากตลาดและห้างสรรพสินค้าใน อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงพบว่าตัวอย่างไก่สดสามารถแยกเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์เจจูไนได้ 13 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ 17 ตัวอย่าง จากตัวอย่างไก่ทั้งหมด 30 ตัวอย่างซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (wataruyamazakiและคณะ, 2009)ที่ศึกษาการคัดแยกเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์เจจูไนและแคมไพโลแบคเตอร์โคไลในเนื้อไก่ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงพบว่าสามารถแยกเชื้อได้ 68 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์76 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 144 ตัวอย่าง จากการตรวจดีเอ็นเอของเชื้อโดยวิธี loop-mediated isothermal amplification (LAMP) ร่วมกับการวัดค่าสีด้วยการใช้hydroxynaphthol blue (HNB)พบว่าสามารถตรวจเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ได้ 13 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์17 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่างซึ่งสอดคล้องกับวิธีการวิจัยของ(wataruyamazakiและคณะ, 2009) ที่ศึกษาเปรียบเทียบการตรวจเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์เจจูไนและแคมไพโลแบคเตอร์โคไลด้วยเทคนิค LAMP เทียบกับวิธีการเพาะเลี้ยงจากการตรวจเชื้อโดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) พบว่าตัวอย่าง post-test พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ 13 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ 17ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง และจากตัวอย่าง pre-test พบว่าสามารถตรวจเชื้อแคมไพโลแลคเตอร์ได้ 1 2 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ 18 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่างซึ่งพบความแตกต่างกันหนึ่งตัวอย่างเนื่องจากตัวอย่างที่ตรวจไม่พบเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์อาจมีปริมาณดีเอ็นเอ ของเชื้อไม่เพียงพอต่อการตรวจวัดเชื้อได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (ศิริพร จันทร์โรจน์และคณะ , 2555) ที่ศึกษาการเปรียบเทียบวิธี PCR และ LAMP กับวิธีการเพาะเชื้อในการตรวจหาเชื้อ

จากการศึกษาค่าความไวในการตรวจปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อพบว่า เทคนิค LAMP และ PCR ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ได้ต่ำสุดที่ 364เฟมโตกรัมต่อไมโครลิตร ซึ่งเป็นค่าความไวที่เทคนิค LAMP และ PCR สามารถตรวจวิเคราะห์ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Wataruyamazakiและคณะ, 2004)ที่มีค่าความไวในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ ได้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย

จากการศึกษาความจำเพาะต่อเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์โดยตรวจค่าความจำเพาะต่อเชื้ออื่นที่นำมาทดสอบด้วยเทคนิค LAMP และ PCR พบว่าเทคนิค LAMP และ PCR มีค่าความจำเพาะเท่ากับ 100% โดยไม่เกิดการจับกันของดีเอ็นเอของเชื้อชนิดอื่นๆ ที่นำมาทดสอบ

เทคนิคพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่ใช้อุณหภูมิหลากหลายในหนึ่งรอบของปฏิกิริยา(Thermal cycler) ซึ่ง LAMP ใช้เพียงอุณหภูมิเดียวด้วยเหตุนี้จึงทำให้เทคนิค LAMP ที่ทำปฏิกิริยาได้ง่ายกว่าและแม่นยำ เพราะเพียงแค่ใช้เครื่องDrythermal blockที่อุณหภูมิ63 องศาเซลเซียสในขณะที่เทคนิคพีซีอาร์ต้องใช้เครื่องมือสำหรับพีซีอาร์ที่มีราคาแพง และมีขั้นตอนการทำงานหลายขั้นตอนนอกจากนี้เทคนิคLAMP ใช้ Primer จำนวน6ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับตำแหน่งจดจำบนยีนที่สนใจทำให้LAMPมีความจำเพาะมากกว่า PCR ที่ใช้ Primer เพียงแค่ 2 ไพรเมอร์ (MoradiMostafa, *et al*., 2008) ในส่วนของ Enzyme

polymeraseเทคนิค LAMP ใช้ *Bst*. polymerase ซึ่งมีคุณสมบัติแยก DNA สายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวได้ (strand displacement) ซึ่ง Tag polymerase ที่ใช้ใน PCR นั้นไม่มีคุณสมบัตินี้ในด้านของกลไกการสังเคราะห์ LAMP จะใช้ DNA ต้นแบบในการสังเคราะห์ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นการทำงานร่วมกันระหว่างเอนไซม์*Bst* polymerase และไพรเมอร์ที่มีลักษณะเฉพาะตัวนอกจากนี้LAMP product ที่ได้ เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยAgarose gel electrophoresis จะพบแถบของดีเอ็นเอหลายแถบเนื่องจากผลิตภัณฑ์ของ LAMP มีขนาดแตกต่างกัน(จิตรลัดดา แซ่เตียวและคณะ 2554) สำหรับระยะเวลาในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหนึ่งรอบของปฏิกิริยาLAMP สามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมได้10^9 copies โดยใช้เวลาน้อยกว่า 1 ชั่วโมง ซึ่งเทคนิค PCR ใช้ระยะเวลาในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มากกว่าข้อดีของ LAMP มีอีกประการคือ สามารถดูผลของการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า (Visual detection) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของ magnesium Pyrophosphate ที่เกิดจากการรวมกันของ Pyrophosphate ion จาก dNTPsกับ magnesium ion จาก LAMP reaction bufferทำให้เกิดตะกอนสีขาวขุ่นสามารถสังเกตด้วยตาเปล่า(จิรายุทธ์ วังตาและคณะ,2555)และจากการใช้เทคนิคLAMP ร่วมกับสี HNB พบว่าผลิตภัณฑ์ LAMP ที่ได้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีฟ้าสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า(D. Thongphueak*et al.,* 2019)

การใช้เทคนิค LAMP ร่วมกับสี HNB สามารถตรวจหาเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ได้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย มีความแม่นยำสูงในการตรวจวิเคราะห์ ใช้เวลาในการตรวจสอบได้อย่าง รวดเร็วโดยใช้เวลาทั้งหมดในการตรวจวิเคราะห์ 1 ชั่วโมง 30 นาที และสามารถตรวจสอบได้ด้วยตาเปล่า ช่วยลดขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์และทราบผลได้อย่างทันที ซึ่งเทคนิค LAMP สามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อได้อย่างรวดเร็วและถูกต้องแม่นยำกว่าวิธีทางมาตรฐานหรือวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์เชื้อนานเป็นสัปดาห์ และเทคนิคดีเอ็นเอไบโอเซนเซอร์นี้สามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์เชื้อนอกสถานที่ได้ ซึ่งเป็นการตรวจหาเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์ที่ก่อโรคที่อาจมีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทสัตว์ปีกอย่าง เช่น เนื้อไก่ เพื่อเป็นการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือในการตรวจสอบที่มีราคาแพง

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี