การพัฒนาวิธี LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION สำหรับการตรวจเชื้อ *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* (DEVELOPMENT OF LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION METHOD FOR DETECTION OF *LEGIONELLA PNEUMOPHILA*)

ร.อ. หญิง ปริชาติ ศรีอนุรักษ์ 4837352 PHPH/M

วท.ม (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อ และวิทยาการระบาด

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: อรษา สุตเธียรกุล, Ph.D. (Medical Science), จักร์กริช หิรัญเพชรรัตน์, Ph.D. (Tropical Health), เฟื่องฟ้า อุตรารัชต์กิจ, M.Sc. (Public Health), พรพรรณ ดีระพัฒน์ Ph.D. (Tropical Medicine)

บทคัดย่อ

วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่แบบห่วงอุณหภูมิเดียว (LAMP) ได้ถูกนำมาใช้เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากดีเอ็นเอเป้าหมายของเชื้อจุลินทรีย์เพียงขั้นตอนเดียวในปฏิกิริยาลูกโซ่ที่วิเคราะห์ได้ด้วยตาเปล่า การศึกษานี้ ได้ใช้วิธี LAMP ซึ่งปรับสภาวะให้เหมาะสมกับ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง โดยไพร์เมอรออกแบบที่จำเพาะ จำนวน 2 ชุด สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเออย่างแม่นยำจากบริเวณด้าน 5' ลำดับนิวคลิโอไทด์ในส่วนที่สังเคราะห์โปรตีนของยีน macrophage infectivity protentiator (*mip*) ซึ่งเป็นจีนที่จำเพาะต่อเชื้อ *Legionella pneumophila* ไอโซเลทต่าง ๆ วิธี LAMP มีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ หรือวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่แบบสองรอบ (nested PCR) ซึ่งใช้เป็นวิธีมาตรฐาน โดยสามารถตรวจดีเอ็นเอเป้าหมายของเชื้อ *L. pneumophila* ที่แยกได้จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อมจำนวน 55 ไอโซเลท ในขณะที่ดีเอ็นเอของ *Legionella* sp. และเชื้อแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ให้ผลลบกับวิธี LAMP สำหรับความไว ในการตรวจหาปริมาณดีเอ็นเอที่น้อยประมาณ 2 นาโนกรัม โดยใช้ gDNA ของเชื้อ *L. pneumophila* DMS 6283 ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา ชี้ให้เห็นว่า ประสิทธิภาพและความแม่นยำของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย วิธี LAMP อาจสามารถนำไปใช้ในการตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* ในตัวอย่างผู้ติดเชื้อและตัวอย่างสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว

87 หน้า