

การพัฒนาเทคนิค Real-time PCR เพื่อตรวจหาและบ่งชี้เชื้อเพนนิซิลีียม มานอฟีไอ

สาคร พรประเสริฐ<sup>1</sup>, ปราณีย์ ลีชนะชัย<sup>1</sup>, นิโคล เอ็นโก<sup>2</sup>, เนาวรัตน์ กันยานนท์<sup>3</sup>,  
ศิริชัย สิทธิประเสริฐ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50200 <sup>2</sup>ห้องปฏิบัติการ PHPT คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ ประเทศไทย 50200 <sup>3</sup>โรงพยาบาลเชียงรายประชานุเคราะห์ เชียงราย ประเทศไทย 57000

---

เพนนิซิลีียม มานอฟีไอ เป็นราสองรูปและเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่มีระบาดวิทยาในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ การตรวจหาเชื้อราชนิดนี้จากชิ้นเนื้อและฟิล์มเลือดทำได้ยากหากสิ่งส่งตรวจมีเชื้ออยู่ในปริมาณน้อย การเพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่งส่งตรวจแม้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการแต่ข้อด้อยของวิธีนี้คือต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงนาน เพื่อให้ได้ผลการตรวจวินิจฉัยที่รวดเร็วและมีความถูกต้องจึงได้พัฒนาวิธีตรวจด้วยเทคนิค Real-time PCR ขึ้นมาโดยใช้ Probe และ Primers ที่มีความจำเพาะต่อยีนที่กำหนดหารสร้าง 5.8S rRNA ของเชื้อราเพนนิซิลีียม มานอฟีไอ พบว่า DNA ของเชื้อราชนิดนี้ในทุกสายพันธุ์ให้ผลบวกกับการทดสอบดังกล่าวและให้ผลบวกได้กับปริมาณของ DNA ที่น้อยถึง 2.7 พิโคกรัมหรือ DNA ที่เตรียมได้จากการเติมเชื้อในรูปยีสต์ประมาณอย่างน้อย 50 เซลล์ลงในเลือด 1 มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังสามารถตรวจหาเชื้อ เพนนิซิลีียม มานอฟีไอ จากทั้งตัวอย่างเลือดและตัวอย่างที่ผ่านการเพาะเลี้ยง ดังนั้นการตรวจด้วยเทคนิคดังกล่าวอาจเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัยและบ่งชี้การติดเชื้อรา เพนนิซิลีียม มานอฟีไอ ได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว

**Development of Real-time PCR technique for detection and identification of  
*Penicillium marneffe***

Sakorn Pornprasert<sup>1</sup>, Pranee Leechanachai<sup>1</sup>, Nicole Ngo-Giang-Huong<sup>2</sup>, Naowarat Kunyanone<sup>3</sup>, Sirichai Sittiprasert<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand, 50200

<sup>2</sup>PHPT laboratory, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai Chiang Mai, Thailand, 50200

<sup>3</sup>Chiang Rai Regional Hospital, Chiang Rai, Thailand, 57000

---

*Penicillium marneffe* is a dimorphic fungus that is endemic in Southeast Asia and responsible for emerging opportunistic infections. Diagnosis of penicilliosis may be difficult in tissue sections or in blood smears if few yeast cells are present and the gold standard diagnosis technique requires long term culture. In order to provide a more rapid and accurate diagnosis, we have developed a real-time PCR assay to detect and identify *P. marneffe* DNA coding for 5.8S rRNA in purified yeast DNA and blood specimens seeded with yeast cells. All *P. marneffe* DNA preparations could be detected using specific primers and Taq-Man probe. The assay was sensitive to detect as little as 2.7 pg purified DNA and at least 50 yeast cells in seeded blood. Moreover it can also detect *P. marneffe* DNA in peripheral blood and hemoculture samples. Thus, the real-time PCR assay may represent an useful and rapid test for the detection and identification of *P. marneffe* infection.