

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการตรวจแยกเชื้อเลปโตสไปรา
โดยใช้ยีนที่สร้างโปรตีนที่มีส่วน Leucine-Rich Repeat

Development of Molecular Markers within Protein Genes Containing
Leucine-Rich Repeat for the Identification of *Leptospira*

คำนำ

เชื้อเลปโตสไปราเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างลักษณะเป็นเกลียว บางชนิดเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเลปโตสไปโรซิสในสัตว์ ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ และเป็นโรคที่สามารถติดต่อมาสู่คนได้ (zoonosis) ซึ่งประเทศไทยมีการระบาดของโรคในช่วงฤดูฝนเป็นประจำทุก ๆ ปี ดังนั้นจึงควรมีเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบและเฝ้าระวังการระบาดของโรค ปัจจุบันใช้เทคนิค MAT (Microscopic Agglutination Test) เป็นเทคนิคมาตรฐานในการตรวจสอบเฝ้าระวัง

Gravekamp *et al.* (1993) ได้นำเทคนิคพีซีอาร์ (PCR; Polymerase Chain Reaction) มาใช้สำหรับการตรวจแยกเชื้อเลปโตสไปราและเป็นที่นิยม แต่ยังไม่สามารถที่จะตรวจแยกได้ในระดับซีโรวาร์ (serovar) และเชื้อที่พบในประเทศไทยบางชนิดไม่สามารถจัดจำแนกได้ ซึ่งอาจจะแตกต่างจากที่มีการระบาดในต่างประเทศ จึงควรที่จะมีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลใหม่ให้สามารถตรวจแยกได้ในระดับซีโรวาร์และมีความเหมาะสมกับเชื้อที่พบในประเทศไทย

Ren *et al.* (2003) ได้รายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของเชื้อ *Leptospira interrogans* ซีโรกรุป Icterohaemorrhagiae ซีโรวาร์ Lai จึงมีความสะดวกที่จะประยุกต์ใช้ข้อมูลที่ได้นี้ให้เป็นประโยชน์ ซึ่งจากการรายงานของ He *et al.* (2004) ที่ได้ศึกษาจำแนกยีนในเชื้อเลปโตสไปราชนิดก่อโรค (*L. interrogans* ซีโรวาร์ Lai) และเลปโตสไปราชนิดไม่ก่อโรค (*L. biflexa* ซีโรวาร์ Monvalerio) พบหลายส่วนของจีโนมที่มีความแตกต่างกัน เช่น ส่วนของยีนที่สร้าง outer membrane proteins และยีนที่คาดว่าสร้างโปรตีนที่มีส่วน LRR นอกจากนี้จากรายงานต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่า โปรตีนที่มีส่วน LRR พบในแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด เช่น โปรตีน TpLRR พบในเชื้อ *Treponema pallidum* (Dmitriy *et al.*, 1997) โปรตีน YopM พบในเชื้อ *Yersinia pestis* (Skrzypek *et al.*, 2003) ซึ่งจะเห็นได้ว่า โปรตีนที่มีส่วน LRR ในแบคทีเรียก่อโรค เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดโรค ดังนั้นการมียีนที่ได้รับการทำนายว่าสร้างโปรตีนที่มีส่วน LRR ต่างกัน อาจจะส่งผลให้เชื้อเลปโตสไปราแต่ละซีโรวาร์มีลักษณะการก่อโรคในสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกัน

การวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาการกระจายของยีนที่ได้รับการทำนายว่าสร้างโปรตีนที่มีส่วน LRR ทั้งในเชื้อ *L. interrogans* ซีโรกรุ๊ป Icterohaemorrhagiae ซีโรวาร์ Lai ซึ่งได้มีการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมสำเร็จแล้ว และในเชื้อเลปโตสไปราอ้างอิงซีโรวาร์ต่าง ๆ เพื่อนำมาสร้างเป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการตรวจแยกเชื้อเลปโตสไปราในกลุ่มก่อโรค และมีความจำเพาะต่อซีโรวาร์ รวมทั้งเชื้อที่พบในประเทศไทย โดยใช้ส่วนของยีนที่คาดว่าจะสร้างโปรตีนที่มีส่วน LRR และเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับความเข้าใจกลไกการเกิดโรค และใช้เป็นหลักเกณฑ์การจัดจำแนกเชื้อในอนาคต