



ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่
คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

จพ.ศวอ.280/2566

ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่
คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
สภาอากาศไทย 1873 ถนนพระราม 4
เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

วันที่ 6 พฤศจิกายน 2566

หนังสือรับรอง

จากการศึกษาผลกระทบของอนุพันธ์ออกซิเจน (Reductive Oxygen Species: ROS) อันได้แก่ ไฮดรอกไซด์ (OH⁻), ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H₂O₂), ซูเปอร์ออกไซด์ (O₂⁻) ที่ได้จากการผลิตผ่านเครื่องฟอกอากาศ Natural Air Fresh (ASP-205) ระดับความแรง 3 ซึ่งเป็นเครื่องฟอกอากาศที่ใช้หลักการการทำงานของไททาเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide photocatalytic) ต่อความสามารถในการเหนี่ยวนำของโปรตีนม้วนพับที่ผิดปกติในตัวอย่างน้ำไขสันหลังของผู้ป่วยโรค Sporadic Creutzfeldt–Jakob Disease ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากโปรตีนพรีออนม้วนพับผิดปกติแบบเกิดเองตามธรรมชาติ พบว่า เมื่อนำตัวอย่างน้ำไขสันหลังไปสัมผัสอากาศที่มี Oxygen Derivatives จากเครื่องฟอกอากาศดังกล่าว ตัวอย่างน้ำไขสันหลังสามารถเหนี่ยวนำโปรตีนม้วนพับผิดปกติ (Seeding) ได้น้อยลงอย่างมีนัยยะสำคัญ ในปฏิกิริยาของ Real-time quaking-induced conversion เมื่อเทียบกับตัวอย่างน้ำไขสันหลังที่ตั้งทิ้งไว้ในอากาศปกติ

แม้การทดลองนี้จะไม่สามารถสรุปถึงการฆ่าเชื้อได้อย่างชัดเจนเท่ากับโมเดลหนูทดลอง แต่สามารถอนุมานได้ว่าอนุพันธ์ออกซิเจนในรูปแบบอากาศที่ผลิตจากปฏิกิริยา TiO₂ photocatalyst สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเหนี่ยวนำการม้วนพับของโปรตีนได้ ซึ่งอาจนำไปสู่รูปแบบการออกและทดลองในหลักการนี้เพื่อฆ่าเชื้อพรีออนได้ในอนาคต



(นายแพทย์ ภูษณ จันทพรสังสุทธิ)

นายแพทย์ 5

การศึกษาถึงผลกระทบของ Oxygen Derivatives ที่ผลิตผ่านเครื่อง Natural Air Fresh (ASP-205) จากกระบวนการ photocatalysis ระหว่าง TiO_2 และ แสง UV ต่อผลกระทบของ Seed Activity ของน้ำไขสันหลังในปฏิกิริยา RT-QuIC

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ใช้อนุมูลออกซิเจน (Reductive Oxygen Species: ROS) อันได้แก่ ไฮดรอกไซด์ (OH^\cdot), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2), ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^\cdot) ที่ได้จากการผลิตผ่านเครื่องฟอกอากาศ Natural Air Fresh (ASP-205) เครื่องนี้ใช้หลักการการทำงานของไททาเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide photocatalytic) เพื่อดูความสามารถในการลดการเหนี่ยวนำของโปรตีนม้วนพับที่ผิดปกติในตัวอย่างน้ำไขสันหลังของผู้ป่วยโรคโปรตีนพรีออนม้วนพับผิดปกติแบบเกิดเองตามธรรมชาติ (Sporadic Creutzfeldt–Jakob disease: sCJD) ผลการศึกษาพบว่าเมื่อตัวอย่างน้ำไขสันหลังถูกนำไปสัมผัสทางอากาศกับ Oxygen Derivatives ผ่านเครื่องฟอกอากาศดังกล่าวนั้น ส่งผลให้ตัวอย่างน้ำไขสันหลังสูญเสียความสามารถในการเหนี่ยวนำโปรตีนม้วนพับผิดปกติ (Seeding Activity) อย่างมีนัยยะสำคัญ ภายในหลุมปฏิกิริยาของ Real-time quaking-induced conversion (RT-QuIC)

บทนำ

โรค Creutzfeldt-Jakob (CJD) เป็นโรคสมองเสื่อมที่เกิดจากความผิดปกติของโปรตีนพรีออนที่ม้วนพับผิดปกติที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ หรือที่เรียกกันว่าโรคสมองฝ่อจากพรีออน (Prion Disease) สาเหตุเกิดจากโปรตีนพรีออนแบบปกติที่มีความสามารถละลายอยู่ในเซลล์ (PrP^C) ม้วนพับผิดปกติไปอยู่ในรูปแบบที่ผิดปกติ (PrP^{Sc}) ซึ่งเป็นรูปแบบที่คงทนต่อเอนไซม์ Proteinase K ตลอดจนความร้อนสูง เป็นโปรตีนที่ยากต่อการทำลาย ทั้งยังสามารถปนเปื้อนส่งต่อการติดเชื้อได้อีกด้วย โรคสมองฝ่อจากพรีออนเป็นโรคความเสื่อมทางระบบประสาทเพียงโรคเดียวเท่านั้นที่ทราบกันว่า สามารถติดข้ามระหว่างสายพันธุ์กันได้ เช่นก่อให้เกิดการป่วยของมนุษย์ที่ได้รับเชื้อจากการกินปลูสัตว์ที่ป่วยโรคพรีออน ทั้งนี้ในช่วง 50 ปีเกิดการระบาดขึ้นหลายครั้งอันก่อให้เกิดผลกระทบด้านลบขึ้นมากมาย โรคนี้มีระยะแฝงเนิ่นนานหลายปี สามารถฝักตัวอยู่ในร่างกายก่อนเชื้อขึ้นไปถึงสมองและแสดงอาการออกมา จึงมีความท้าทายต่อระบบสาธารณสุขของประเทศเป็นอันมาก

โรคโปรตีนพรีออนม้วนพับผิดปกติแบบเกิดเองตามธรรมชาติในมนุษย์ Sporadic Creutzfeldt–Jakob disease เป็นประเภทหลักคิดเป็น 85% ของการป่วยทั้งหมด ซึ่งเป็นโรคระบบประสาทที่ร้ายแรงถึงชีวิต ผู้ป่วยทั้งหมดล้วนเสียชีวิตลงเมื่อแสดงอาการของโรค และปัจจุบันยังไม่มียารักษา นอกจากนี้ยังเป็นโรคที่สามารถติดต่อระหว่างมนุษย์ถึงมนุษย์ซึ่งมีหลักฐานรายงานช่องทางการติดต่อดังนี้ ผ่านการปนเปื้อนของเนื้อสมองของผู้ป่วย ที่ติดเข้าสู่ร่างกายผู้รับผ่านทางบาดแผลเปิด และการรับประทานเนื้อศพ, การปลูกถ่ายอวัยวะเยื่อหุ้มสมองชั้นนอกและ

กระเจตนาของผู้ป่วยเสียชีวิต, การได้รับ Growth Hormone ของผู้ป่วยเสียชีวิต เพื่อรักษาโรคกระดูกพรุน ตลอดจนการติดต่อผ่านอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ใช้ในการผ่าตัดสมอง ทั้งนี้ปัจจุบันไม่พบหลักฐานถึงการส่งผ่านการติดต่อของโรคโปรตีนพรีออนม้วนพับผิดปกติแบบเกิดเองตามธรรมชาติ (sCJD) ผ่านตัวอย่างน้ำไขสันหลัง ที่ผ่านมามีการทดลองที่ใช้น้ำไขสันหลังของผู้ป่วย sCJD ฉีดใส่หนูทดลอง Transgenic mice จำนวนมากและฉีดเข้าไปโดยตรงในสมองหนูก็ไม่พบว่าหนูแสดงอาการป่วย (Raymond, 2020) นอกจากนี้ยังไม่พบหลักฐานการติดต่อผ่านการรับบริจาคเลือดของผู้ป่วย sCJD เช่นกัน แม้จะมีการติดตามโดยสภาอากาศในต่างประเทศมานานกว่า 20 ปี รวมถึงการติดตามเคสเสี่ยงสูงอย่างละเอียดมากกว่า 200 เคสที่รับเลือดจากผู้ป่วย ก็ไม่พบหลักฐานการติดต่อของโรค sCJD ผ่านเลือด (Urwin, 2016) แต่มีที่มวิจัยบางคนอ้างว่าพบหลักฐานการติดต่อของ sCJD ผ่านการบริจาคเลือด เนื่องจากพบว่าผู้ป่วย sCJD มักพบว่ามีประวัติรับเลือดเมื่อ 10 ปีก่อนหน้าที่มีอาการ มากกว่าโรคประสาทอื่นๆ (Puopolo, 2011) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ไม่มีระบบวิจัยที่รัดกุมมากพอและอาจมีอคติ ดังนั้นตัวอย่างน้ำไขสันหลังเลือด และสารคัดหลั่งของผู้ป่วย sCJD ในปัจจุบันถือว่าเป็นตัวอย่างความเสี่ยงต่ำ ซึ่งต่างจากโรค Variant Creutzfeldt–Jakob disease (vCJD) หรือภาวะ CJD ติดต่อข้ามสายพันธุ์เข้ามาในมนุษย์ ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากที่มนุษย์กินเนื้อปศุสัตว์ที่ป่วยเสียชีวิตด้วยโรควัวบ้า มีหลักฐานยืนยันการติดต่อของผู้ป่วย vCJD ผ่านการบริจาคเลือด (Llewelyn, 2004) แม้ปัจจุบันไม่พบการรายงานการเกิดเคสใหม่ของ vCJD ตั้งแต่ปี 2019 และในรอบทศวรรษที่ผ่านมาพบจำนวนเคส vCJD ทั่วโลกเกิดใหม่ไม่ถึง 10 เคส (Watson, 2021) ในต่างประเทศยังคงมีการเฝ้าระวังโรคนี้อยู่ (NCRSU report, 2021)

สำหรับโรค Familial Creutzfeldt-Jakob (fCJD) ซึ่งเป็นประเภทที่ส่งผ่านถ่ายทอดกันภายในครอบครัวทางกรรมพันธุ์ นั้นคิดเป็น 15% ของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด ปัจจุบันในประเทศไทยพบการรายงานเฉพาะการกลายพันธุ์ประเภทโรคนอนไม่หลับมรณะ (Fatal Familial Insomnia) เท่านั้น (ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์ภายในศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่) ซึ่งผู้ป่วยมีการกลายพันธุ์ประเภท 129M-D178N บนยีนส์ Prion การกลายพันธุ์นี้พบหลักฐานการติดต่อเมื่อใช้เนื้อสมองผู้ป่วยเสียชีวิตส่วนทาลามัสฉีดไปยังหนูทดลองแบบ Wild-Type 19 ตัว พบการแสดงของโรค 14 ตัว (Tateishi, 1995) ปัจจุบันสภาอากาศอเมริกันกำหนดไม่ให้ผู้มียีนส์ภาวะกลายพันธุ์โรคพรีออนบริจาคโลหิตและร่างกาย

ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าการติดต่อของโรค CJD นั้นเกี่ยวข้องกับการสัมผัสเนื้อสมอง และเนื้อเยื่อ เป็นหลักทั้งสิ้น การลดการติดเชื่อที่อาจเกิดขึ้นกับการปนเปื้อนของอุปกรณ์ผ่าตัดสมอง หรืออวัยวะส่วนจุก หรือตา จึงมีความสำคัญ การฆ่าเชื้อภายในสถานพยาบาลโดยทั่วไปมักจะทำด้วยวิธีการอบฆ่าเชื้อไอน้ำที่แรงดันและอุณหภูมิสูง (Autoclave) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้โดยแพร่หลายและมีประสิทธิภาพสูง สามารถกำจัดสิ่งติดเชื่อที่เกิดจากองค์ประกอบของ DNA ได้เกือบทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็น เชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส อย่างไรก็ตามการฆ่าเชือดังกล่าวไม่สามารถฆ่าเชื้อจำพวก โปรตีนพรีออนม้วนพับผิดปกติ (Misfolded Prion Protein) ที่ทนทานต่อเอนไซม์ สารเคมี ความร้อน และสารกัมมันตรังสี วิธีการที่ฆ่าเชื้อพรีออนยังไม่สามารถใช้กับอุปกรณ์ที่ไม่ทนความร้อน

ปัจจุบันการฆ่าเชื้อโปรตีนหรืออนม้วนพับผิดปกติตามมาตรฐานถูกกำหนดให้ใช้การแช่ผิวสัมผัสของอุปกรณ์ปนเปื้อน ในโซดาไฟ ความเข้มข้น 1 โมลเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 1 ชั่วโมงก่อนนำไปอบไอน้ำ (Tarrac, 2008), วิธีการอบไอน้ำที่ร้อนและยาวนานขึ้นที่ 121°C-132°C องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง, การแช่อุปกรณ์ในสาร 2% Sodium dodecyl sulfate + 1% Acetic Acid ก่อนนำไปอบไอน้ำ, การอบโดยใช้ไอระเหยของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, การใช้พลาสมาของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Rutala, 2010) มีงานวิจัยหนึ่งของทีม Rocky Mountain Laboratory ที่พบว่าสารที่อ่อนโยนอย่าง กรดไฮโปคลอรัส (Hypochlorous Acid: HOCl) ที่ผลิตตามธรรมชาติจากเซลล์นิวโทรฟิล ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่งในเลือดของมนุษย์ สามารถฆ่าเชื้อพรีออนได้เมื่อทำการทดลองการยับยั้งการติดเชื้อในหนูทดลอง นอกจากนี้กรดไฮโปคลอรัสยังยับยั้งการเหนี่ยวนำของโปรตีนม้วนพับผิดปกติอื่นๆ อาทิ อัลฟาซินนูคลิน และโปรตีนทาวในปฏิกิริยา RT-QuIC อีกด้วย (Hughson, 2016) อย่างไรก็ตามทั้งหมดนี้ล้วนเกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีที่เป็นของเหลว ไอน้ำและความร้อนทั้งสิ้น ซึ่งไม่สามารถนำมาใช้ฆ่าเชื้อโรคกับอุปกรณ์ทางการแพทย์ประเภทอิเล็กทรอนิกส์ หรืออุปกรณ์กล่องที่ไมทนความร้อนและน้ำได้ ดังนั้นการใช้วิธีการผ่านอากาศจึงช่วยเปิดโอกาสให้มีการยับยั้งเชื้อพรีออนในรูปแบบอื่น

ในแวดวงวิทยาศาสตร์การตรวจสอบการติดเชื้อที่เป็น gold standard ของโรคพรีออนมักจะใช้โมเดลหนูทดลองในการศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามการทำทดลองดังกล่าวใช้เวลาศึกษาเป็นปี และมีค่าใช้จ่ายสูงมาก ในขณะที่ปฏิกิริยา RT-QuIC สามารถจำลองความสามารถในการเหนี่ยวนำของสิ่งติดเชืื่อนั้นๆได้ โดยวัดออกมาเป็นค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่แสดงออกมาที่ช่วงระยะเวลาแฝง (lag-phase) และ ค่าสูงสุดของการเรืองแสง (maximum fluorescent value) งานวิจัยพบความสัมพันธ์อย่างแนบแน่นระหว่างปฏิกิริยา RT-QuIC กับความสามารถในส่งผ่านการติดต่อ จึงถือเป็นการให้ข้อมูลเชิงปริมาณ quantitation ของเชื้อในตัวอย่างได้ (Vascellari, 2012), (Caughey, 2017)

ในงานวิจัยนี้ใช้หลักการ titanium dioxide (TiO₂) photocatalyst ทำผ่านเครื่องฟอกอากาศที่วางขายตามท้องตลาด เพื่อดูความสามารถของอนุพันธ์ออกซิเจนในการยับยั้งการเหนี่ยวนำของโปรตีนม้วนพับผิดปกติของตัวอย่างน้ำไขสันหลังของผู้ป่วย sCJD ในปฏิกิริยา RT-QuIC เทคโนโลยีดังกล่าวปลดปล่อยอนุพันธ์ออกซิเจน OH⁻, H₂O₂, O₂⁻ ผ่านปฏิกิริยาระหว่าง TiO₂ และแสง UV ปัจจุบันเทคโนโลยีนี้ถูกนำมาประยุกต์ใช้มากมายในงานฆ่าเชื้อทั้งการบำบัดอากาศ และบำบัดน้ำ เนื่องจาก มีราคาถูก เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ใช้งานง่าย มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ กำจัด indoor volatile organic compounds (VOCs) (Paz, 2010), (Lee, 2013), (Nakata, 2012) อาจมีข้อจำกัดบ้างนั่นคือจำเป็นต้องใช้หลอดแสง UV เพื่อช่วยให้เกิดการ Oxidation การทดลองนี้เกี่ยวกับการนำตัวอย่างน้ำไขสันหลังของผู้ป่วย sCJD จำนวน 5 ตัวอย่างที่มีความสามารถในการเหนี่ยวนำโปรตีนม้วนพับผิดปกติสูงเมื่อตรวจด้วยปฏิกิริยา RT-QuIC จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ให้สัมผัสกับอากาศในห้องที่มีเครื่องฟอกอากาศระบบ TiO₂ photocatalyst ก่อนทำการตรวจความสามารถในการเหนี่ยวนำโปรตีนอีกครั้งด้วยปฏิกิริยา RT-QuIC เพื่อดู

ว่าอนุพันธ์ออกซิเจนสามารถยับยั้งความสามารถในการเหนี่ยวนำของโปรตีนม้วนพับผิดปกติของน้ำไขสันหลังหรือไม่

วัสดุ-อุปกรณ์และวิธีการวิจัย/ทดลอง

น้ำไขสันหลังของผู้ป่วยต้องสงสัย sCJD ที่ถูกส่งเข้ามาให้บริการตรวจ RT-QuIC ตั้งแต่ปี 2565 ถึง 2566 ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และเหลือเก็บรักษาตามมาตรฐานในคลังตัวอย่างชีวภาพได้ถูกนำมาพิจารณาใช้ น้ำไขสันหลังที่ถูกเจาะออกมาจะถูกขนส่งมาถึงห้องปฏิบัติการภายใน 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หรือถูกขนส่งภายใต้การควบคุมอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ภายใน 48 ชั่วโมง จากนั้นตัวอย่างจะถูกปั่นที่แรงเหวี่ยง $2,000 \times g$ เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นตัวอย่างน้ำไขสันหลังจะถูกนำไปเก็บรักษาที่ -80 องศาเซลเซียส ก่อนถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีการ RT-QuIC ซึ่งการทดลอง RT-QuIC ได้ใช้วิธีการแบบ Second Generation RT-QuIC ในส่วนรายละเอียดได้ถูกบรรยายไว้แล้วก่อนหน้านี้ (Thanapornsanguth, 2023)

การทำการทดลองเริ่มจากนำน้ำไขสันหลังออกมาละลายและแบ่งใส่ลงใน 96-well plate ที่มีฝาคลุมปิดแบบไม่กันอากาศเข้า (32096, SPL life science) แต่ละหลุมจะใส่น้ำไขสันหลังเริ่มแรกไม่เกิน $100 \mu\text{L}$ ต่อหลุมเป็นจำนวน 2 เพลท ทั้งนี้การทดลองนี้เกิดขึ้นพร้อมกันในห้องปิดจำนวน 2 ห้องที่มีปริมาตรห้องเท่ากันคือ 27 m^3 การทดลองชุดที่ 1 ได้นำเพลทบรรจุน้ำไขสันหลังวางไว้ใน Biosafety Level 2 (BSL-2) ที่ไม่ได้เปิดพัดลมภายใน ตั้งทิ้งไว้คู่กับ เครื่องฟอกอากาศ natural air freshener ที่เปิดระดับความแรง 3 (model ASP-20, A PLUS INNOVATION ASSET CO., LTD.) ส่วนการทดลองชุดที่ 2 ได้ทำเช่นเดียวกันกับชุดที่ 1 ยกเว้นว่าไม่ได้มีเครื่องฟอกอากาศเปิดอยู่ ตามแสดงในภาพที่ 1 ตลอดการทำการทดลอง ในห้องทั้งสองมีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ที่ 54 – 61% ตลอดเวลา 90 ชั่วโมง และมีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส ตัวอย่างน้ำไขสันหลังจะถูกแบ่งเก็บทุกๆ 24, 48, 72 และ 90 ชั่วโมง แล้วนำไปจัดเก็บที่ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาละลายและวิเคราะห์ด้วย RT-QuIC จากการสังเกตพบว่าการสูญเสียจากการระเหยของน้ำไขสันหลังที่ตั้งทิ้งไว้สัมผัสอากาศไปไม่มากกว่า 15% v/v

ผลการวิจัย/ทดลอง วิจัยกรณี

ผลจากการศึกษาพบว่าน้ำไขสันหลังที่มีความสามารถในการเหนี่ยวนำโปรตีนม้วนพับผิดปกติของผู้ป่วย sCJD เมื่อถูกตั้งสัมผัสกับอากาศที่มีอนุพันธ์ออกซิเจนปลดปล่อยจากเครื่องฟอกอากาศ ทำให้เกิดการสูญเสียความสามารถในการตรวจเชื้อพรีออนม้วนพับผิดปกติในปฏิกิริยา RT-QuIC อย่างมีนัยยะสำคัญ โดยตัวอย่างน้ำไขสันหลังทั้ง 5 ตัวอย่างจะสูญเสียความสามารถในการเหนี่ยวนำอย่างสิ้นเชิง เมื่อถูกสัมผัสอากาศที่มีอนุพันธ์ออกซิเจนเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 24 ชั่วโมง โดยที่ตัวอย่างติดเชื้อ 2 ใน 5 ตัวอย่าง ไม่สามารถตรวจพบเชื้อด้วยวิธีการ RT-QuIC ได้ เพียงแค่สัมผัสอากาศอนุพันธ์ออกซิเจนเพียง 24 ชั่วโมง และหากเพิ่มการสัมผัสอากาศอนุพันธ์

ออกซิเจนให้อยู่ที่ 48 ชั่วโมง จะพบว่าตรวจไม่พบเชื้อถึง 4 ใน 5 ตัวอย่างบวก หากสัมผัสอากาศอนุพันธ์ออกซิเจน นานครบ 72 ชั่วโมงจึงตรวจไม่พบเชื้อทั้งหมด 5 ตัวอย่างบวก และเมื่อเทียบกับความสามารถของชุดตรวจ RT-QuIC ต่อตัวอย่างน้ำไขสันหลังที่ได้รับผลกระทบจากการที่สัมผัสอากาศธรรมดาในห้องปกติ จะพบว่า การสัมผัส อากาศอนุพันธ์ออกซิเจน ลดความสามารถในการตรวจมากกว่าตามแสดงใน ตารางที่ 1

นอกจากนี้การศึกษานี้พบว่า การที่น้ำไขสันหลังของผู้ป่วย sCJD เมื่อถูกตั้งสัมผัสกับอากาศในห้องทั่วไป ก็ ลดความสามารถของชุดตรวจ RT-QuIC อย่างมีนัยยะสำคัญ เมื่อสิ่งส่งตรวจถูกตั้งทิ้งไว้ในห้องเป็นเวลานานถึง 90 ชั่วโมง ชุดตรวจ RT-QuIC ไม่สามารถออกผลเป็นบวกได้แล้ว ดังนั้นการทดลองนี้จึงให้ข้อมูลที่ดีในการเก็บรักษา ตัวอย่างน้ำไขสันหลังก่อนนำมาทำการตรวจ นั่นคือตัวอย่างที่สัมผัสอากาศที่อุณหภูมิห้องนานเกิน 24 ชั่วโมง ไม่มี ความเหมาะสมที่จะนำมาตรวจกับชุดตรวจ RT-QuIC เนื่องจากผลที่ได้ อาจไม่มีความแม่นยำ การศึกษาในอดีต พบว่าการที่ตัวอย่างน้ำไขสันหลังถูกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องแบบไม่สัมผัสอากาศนาน 8 วัน ไม่มีผลกระทบต่อ การตรวจ RT-QuIC (Cramm, 2016) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้แตกต่างกันที่การสัมผัส และไม่สัมผัสอากาศ

ผู้วิจัยได้ทำการคำนวณจุดสูงสุดของปฏิกิริยา (Maximum Fluorescent signal) โดยทำการคำนวณจาก 100% คือ 260,000 relative fluorescent unit ซึ่งเป็นจุดสูงสุดที่เครื่องสามารถตรวจพบได้ เราพบว่าการสัมผัส อากาศอนุพันธ์ออกซิเจนหรืออากาศธรรมดา ไม่ได้เปลี่ยนแปลงค่าจุดสูงสุดของปฏิกิริยา ภาพที่ 2 ปฏิกิริยา RT-QuIC ยังคงเกิดขึ้นเหมือนเดิม เพียงแต่จำนวนหลุมที่เกิดปฏิกิริยา RT-QuIC จะน้อยลงตามเวลาที่ได้สัมผัสกับอนุ พันธ์ออกซิเจน

แม้การทดลองนี้จะไม่สามารถสรุปถึงการลดการติดเชื้อได้อย่างชัดเจนเท่ากับโมเดลหนูทดลอง แต่สามารถ อนุมานได้ว่าอนุพันธ์ออกซิเจนในรูปแบบอากาศที่ผลิตจากปฏิกิริยา TiO_2 photocatalyst ก็สามารถยับยั้งปฏิกิริยา การเหนี่ยวนำการม้วนพับของโปรตีนได้เช่นกัน ซึ่งอาจนำไปสู่รูปแบบการออกและทดลองในหลักการนี้เพื่อฆ่า เชื้อหรืออนได้ในอนาคต ซึ่งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปว่าอนุพันธ์ออกซิเจนในอากาศสามารถฆ่าเชื้อหรืออนได้ มากน้อยแค่ไหนและสามารถลดการติดเชื้อในรูปแบบโมเดลหนูได้หรือไม่

บทสรุป

การสัมผัสสิ่งติดเชื้อโปรตีนพรีออนกับอนุพันธ์ออกซิเจนผ่านทางอากาศ ช่วยยับยั้งความสามารถในการ เหนี่ยวนำโปรตีนม้วนพับผิดปกติ (Seeding Activity) ในปฏิกิริยา RT-QuIC ได้อย่างมีนัยยะสำคัญ ดังนั้นการ ทดลองนี้ สามารถสรุปได้ว่าการยับยั้งเชื้อจำพวกโปรตีนอาจสามารถกระทำผ่านกระบวนการทางอากาศได้ ซึ่งอาจ นำไปสู่การศึกษาวิจัยในอนาคตเพื่อตัดแปลงไปสู่การใช้ฆ่าเชื้อพรีออนกับอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ไม่มีสามารถใช้ การฆ่าเชื้อพรีออนมาตรฐานทั่วไปได้ ตลอดจนใช้ทำความสะอาดห้องที่อาจมีการปนเปื้อนของโปรตีนม้วนพับ ผิดปกติพรีออน

กิตติกรรม-ประกาศ

การทดลองนี้ได้รับการสนับสนุนทุนการวิจัยจากระบบวิจัยสาธารณสุข (สวรส.)

เอกสารอ้างอิง

Caughey, Byron, et al. "Amplified detection of prions and other amyloids by RT-QuIC in diagnostics and the evaluation of therapeutics and disinfectants." *Progress in molecular biology and translational science* 150 (2017): 375-388.

Cramm, Maria, et al. "Stability and reproducibility underscore utility of RT-QuIC for diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease." *Molecular neurobiology* 53 (2016): 1896-1904.

Lee, Seul-Yi, and Soo-Jin Park. "TiO₂ photocatalyst for water treatment applications." *Journal of industrial and engineering chemistry* 19.6 (2013): 1761-1769.

Llewelyn, Charlotte A., et al. "Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion." *The Lancet* 363.9407 (2004): 417-421.

Nakata, Kazuya, and Akira Fujishima. "TiO₂ photocatalysis: Design and applications." *Journal of photochemistry and photobiology C: Photochemistry Reviews* 13.3 (2012): 169-189.

National CJD Research & Surveillance Unit. 30th Annual Report 2021. Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance in the UK (2021)
<https://www.cjd.ed.ac.uk/sites/default/files/report30.pdf>

Puopolo, Maria, et al. "Transmission of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion: risk factor or possible biases." *Transfusion* 51.7 (2011): 1556-1566.

Paz, Yaron. "Application of TiO₂ photocatalysis for air treatment: Patents' overview." *Applied Catalysis B: Environmental* 99.3-4 (2010): 448-460.

Raymond, Gregory J., et al. "Transmission of CJD from nasal brushings but not spinal fluid or RT-QuIC product." *Annals of Clinical and Translational Neurology* 7.6 (2020): 932-944.

Rutala, William A., and David J. Weber. "Guideline for disinfection and sterilization of prion-contaminated medical instruments." *Infection Control & Hospital Epidemiology* 31.2 (2010): 107-117.

Tarrac, Shauna Ely. "Application of the updated CDC isolation guidelines for health care facilities." *AORN journal* 87.3 (2008): 534-546.

Tateishi, Jun, et al. "First experimental transmission of fatal familial insomnia." *Nature* 376.6539 (1995): 434-435.

Hughson, Andrew G., et al. "Inactivation of prions and amyloid seeds with hypochlorous acid." *PLoS pathogens* 12.9 (2016): e1005914.

Thanapornsanguth, Poosanu, et al. "Real-time quaking-induced conversion assay using a small-scale substrate production workflow for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease." *Journal of Neurochemistry* 166.2 (2023): 403-413.

Urwin, P. J. M., et al. "Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion: updated results of the UK Transfusion Medicine Epidemiology Review Study." *Vox sanguinis* 110.4 (2016): 310-316.

US Food and Drug Administration. "Revised preventive measures to reduce the possible risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) by blood and blood products. US Dept of Health and Human Services/FDA." *Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)* (2002).

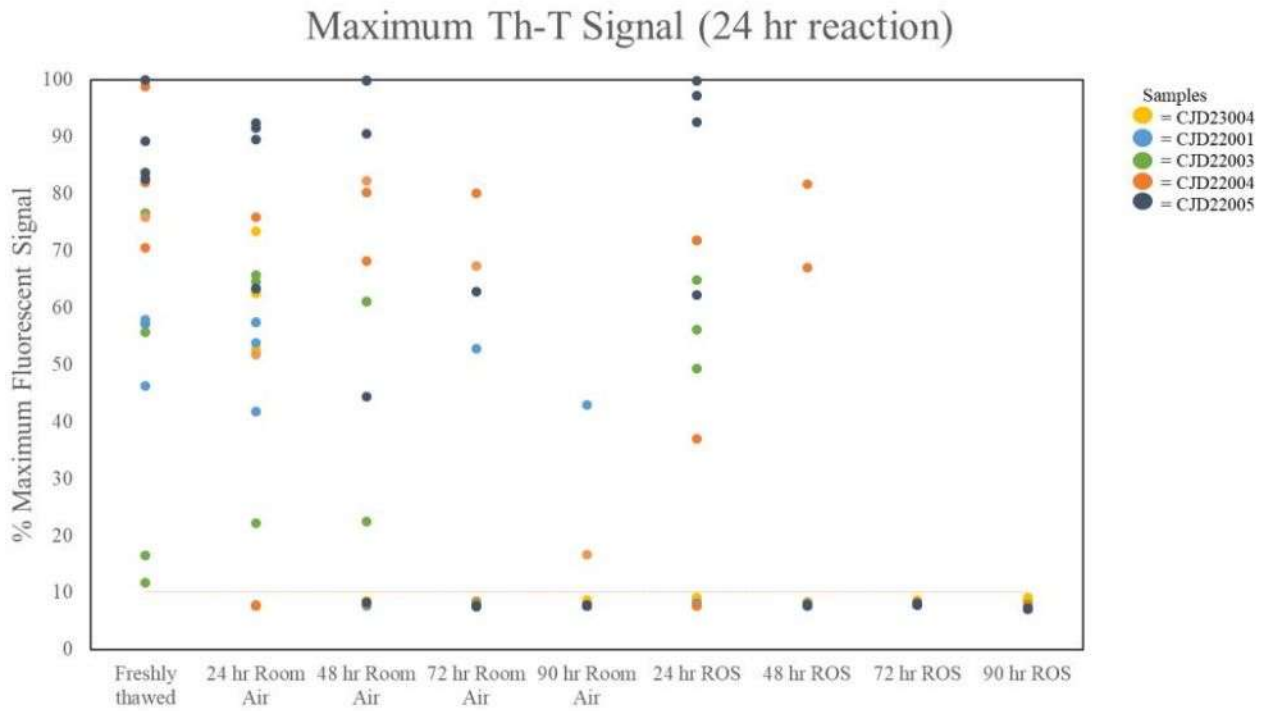
Vascellari, Sarah, et al. "Prion seeding activities of mouse scrapie strains with divergent PrP^{Sc} protease sensitivities and amyloid plaque content using RT-QuIC and eQuIC." *PloS one* 7.11 (2012): e48969.

Watson, Neil, et al. "The importance of ongoing international surveillance for Creutzfeldt-Jakob disease." *Nature Reviews Neurology* 17.6 (2021): 362-379.

ตารางที่ 1 แสดงการกำเนิดของแสงฟลูออเรสเซนส์ในปฏิกิริยา 24 ชั่วโมงของ RT-QuIC ในการทดลองได้ทำซ้ำเป็นจำนวน 4 ซ้ำ ตัวอย่างที่ใช้เป็นน้ำไขสันหลังของผู้ป่วย sCJD ที่ถูกละลายจากการแช่แข็งทันที หรือถูกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรือถูกตั้งทิ้งไว้ในห้องที่มีการปลดปล่อยอนุพันธ์ออกซิเจน เป็นเวลา 24, 48, 72, 90 ชั่วโมง

Conditions	<u>24 h Cut-off time of reaction</u>				
	NEGATIVE control Freshly Thawed NO210066	0/4	0/4	0/4	0/4
Sample Codes	<u>CJD23004</u>	<u>CJD22001</u>	<u>CJD22003</u>	<u>CJD22004</u>	<u>CJD22005</u>
No Oxygen Derivatives Exposure					
0 hr Freshly Thawed	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
24 hr Room Air	4/4	3/4	4/4	2/4	4/4
48 hr Room Air	0/4	2/4	3/4	3/4	3/4
72 hr Room Air	0/4	1/4	3/4	2/4	1/4
90 hr Room Air	0/4	1/4	0/4	1/4	0/4
Oxygen Derivatives Exposure					
24 hr ROS	0/4	0/4	4/4	2/4	4/4
48 hr ROS	0/4	0/4	0/4	2/4	0/4
72 hr ROS	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
90 hr ROS	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

รูปภาพที่ 2 แสดงค่าสูงสุดที่สุดของแสงฟลูออเรสเซนส์ในปฏิกิริยา 24 ชั่วโมงของ RT-QuIC ของตัวอย่างนำไขสันหลังผู้ป่วย sCJD 5 ตัวอย่าง พบว่าการที่ตัวอย่างผ่านการตั้งทิ้งไว้กับเครื่องฟอกอากาศ สามารถลดการเหนี่ยวนำได้อย่างมีนัยยะสำคัญ



รูปภาพเพิ่มเติม

กราฟแสดงปฏิกิริยาของ RT-QuIC ของตัวอย่างผู้ป่วย sCJD (ก.) เมื่อตัวอย่างถูกตั้งเปิดสัมผัสอากาศทิ้งไว้ (ข.) เมื่อตัวอย่างถูกตั้งทิ้งเปิดสัมผัสอากาศที่มีอนุพันธ์ออกซิเจนทิ้งไว้ เป็นเวลา 0 (—), 24 (—), 48 (—), 72 (—), 90 (—) ชั่วโมง ตัวอย่างควบคุมแสดงโดย (- - -)

