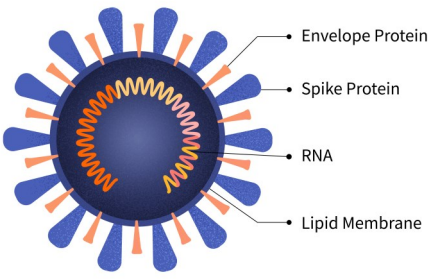
การตรวจสารอินทรีย์ระเหยง่ายจากเหงื่อหลังได้รับวัคซีน COVID-19

ผู้เรียบเรียง : ดร. ณัฐนี ตั้งกิจอนันต์สิน และ ผศ.ดร. ชฎิล กุลสิงห์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

โรคติดเชื้อโคโรนาไวรัสเกิดจากเชื้อไวรัสโคโรนาซึ่งกลุ่มอาการทางเดินทางหายใจเฉียบพลันรุนแรง (Severe Acute Respiratory Syndrome) โรคนี้ได้ทำการปรากฏขึ้นในช่วงปลายปี 2562 ที่นครอู่ฮั่น ประเทศจีน ทำให้ในช่วงแรกของการระบาดหลายคนมักเรียกโรคนี้ว่า “ไวรัสอู่ฮั่น” หลังจากนั้นไม่นาน โรคนี้ได้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ไปทั่วโลก ส่งผลให้องค์การอนามัยโลก (WHO) ประกาศตั้งชื่ออย่างเป็นทางการสำหรับเชื้อนี้ว่า COVID-19 ซึ่งย่อมาจาก“COrona VIrus Disease starting in 2019” โรค COVID-19 สามารถแพร่ระบาดได้ระหว่างบุคคล จากการสัมผัสหรืออยู่ใกล้ชิดเป็นหลัก โดยผ่านละอองฝอย จากการไอ จาม หรือการสัมผัสสารคัดหลั่ง อาทิ น้ำลาย น้ำมูก เสมหะ บุคคลอาจติดเชื้อได้จากการสัมผัสพื้นผิวที่ปนเปื้อนแล้วนำมาแตะตา จมูก หรือปากของตน โดยอาการของผู้ที่ได้รับเชื้อนี้แตกต่างกันไป บางคนไม่แสดงอาการใด ๆ บางรายอาจมีอาการเล็กน้อย บางรายมีอาการรุนแรง เช่น ติดเชื้อรุนแรงในปอด หรือมีอาการแทรกซ้อนรุนแรงและนำไปสู่การเสียชีวิต โดยเฉพาะผู้สูงอายุรวมถึงคนที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคหอบ เบาหวาน โรคหัวใจ แต่โดยส่วนใหญ่จะเป็นอาการที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ เช่น ไอ หายใจลำบาก และมีไข้สูง รวมถึงอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ รู้สึกเหมือนมีไข้ เจ็บคอ เมื่อเชื้อ COVID-19 เข้าสู่ร่างกายจะเริ่มต้นด้วยระยะฟักตัวจนกระทั่งเริ่มมีอาการ (ค่าเฉลี่ยประมาณ 5 วัน) และจะมีอาการหลังได้รับเชื้อประมาณ 7 - 12 วัน จึงควรกักตัวอย่างน้อย 14 วันทันทีหลังเสี่ยงรับเชื้อ ซึ่งนี้เป็นที่มาของการกำหนดมาตรการให้กักตัวผู้มีความเสี่ยงสูงเมื่อสัมผัสผู้ติดเชื้อเป็นเวลา 14 วัน



รูปที่ 1 แสดงองค์ประกอบเชื้อไวรัส COVID-19

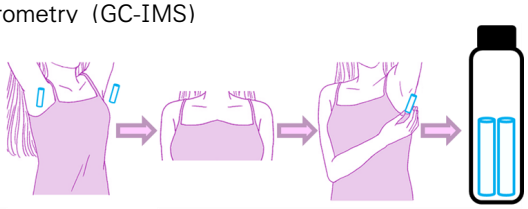
จากการที่มีผู้ติดเชื้อทั่วโลกมากกว่าร้อยล้านคน และมีผู้เสียชีวิตมากกว่า 2 ล้านคน ทำให้การแพร่ระบาดถูกจัดเป็นสถานการณ์ฉุกเฉินระดับโลก ส่งผลให้มีการผลิตและพัฒนาวัคซีนเป็นจำนวนมากเพื่อใช้ในการควบคุมการแพร่ระบาด อีกทั้งสามารถลดความรุนแรงของอาการป่วยและลดอัตราการเสียชีวิตได้ สำหรับเทคโนโลยีการผลิตวัคซีน COVID-19 ในปัจจุบันแบ่งออกเป็น 4 แบบหลัก ประกอบไปด้วย

1. วัคซีนชนิดสารพันธุกรรม จำพวกวัคซีนดีเอ็นเอ (DNA) หรือเอ็มอาร์เอ็นเอ (messenger RNA, mRNA) ที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อไวรัส ทำหน้าที่พา mRNA เข้าเซลล์และกระตุ้นให้เซลล์ผลิตโปรตีนหนาม (Spike Protein) ของเชื้อไวรัสเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สร้างแอนติบอดีขึ้นมาต่อต้านเชื้อ เช่น วัคซีน Pfizer และ Moderna เฉพาะเจาะจงกับเชื้อไวรัส ทำหน้าที่พา mRNA เข้าเซลล์และกำกับให้เซลล์ผลิตสารโปรตีนสไปค์ของเชื้อไวรัสเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สร้างแอนติบอดีขึ้นมาต่อต้านเชื้อ เช่น วัคซีน Pfizer และ Moderna
2. วัคซีนชนิดใช้ไวรัสเป็นพาหะ (Viral Vector) โดยใช้ไวรัสที่ปลอดภัยมาตัดแต่งใส่สารพันธุกรรมของไวรัส COVID-19 เพื่อกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยไม่ก่อให้เกิดโรคเช่น วัคซีน Astra Zeneca และ Johnson & Johnson

3. วัคซีนที่ทำจากโปรตีนส่วนหนึ่งของเชื้อ (Protein Subunit) โดยผลิตโปรตีนหนามของ COVID-19 ผสมกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เมื่อฉีดเข้าสู่ร่างกายจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีมาต่อต้านเชื้อ เช่น วัคซีน Novavax
4. วัคซีนชนิดเชื้อตาย (Inactivated Virus) โดยนำเชื้อ COVID-19 มาฆ่าด้วยสารเคมีหรือความร้อนเพื่อให้เชื้อตาย เมื่อฉีดวัคซีนจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสเชื้อตายดังกล่าว เช่น วัคซีน Sinovac

อย่างไรก็ตามวัคซีนแต่ละชนิดมีผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคลแตกต่างกัน และยังมีรายงานการติดเชื้อ COVID-19 ในผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน COVID-19 ไปแล้ว ดังนั้นการติดตามการเปลี่ยนแปลงของร่างกายมนุษย์หลังจากได้รับวัคซีนจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการศึกษาให้เข้าใจถึงผลกระทบของวัคซีนที่เกิดขึ้นต่อร่างกายมนุษย์

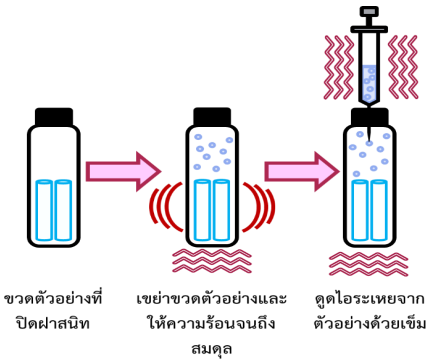
เหงื่อจากร่างกายของมนุษย์เป็นตัวอย่างที่น่าสนใจสำหรับการนำมาวิเคราะห์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของร่างกายหลังจากการฉีดวัคซีน เนื่องจากเหงื่อจากร่างกายนั้นจัดเป็นสารคัดหลั่งประเภทหนึ่ง โดยในเหงื่อของมนุษย์จะมีสารระเหยหรือ Volatile organic compounds (VOCs) ซึ่งมีความสัมพันธ์เชื่อมโยงถึงกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย นอกจากนี้ยังเป็นตัวอย่างที่เก็บง่ายไม่ทำให้เกิดความเจ็บปวดต่อผู้ที่ได้รับการเก็บตัวอย่าง โดยในงานวิจัยนี้ใช้แท่งสำลีสองแท่งเก็บเหงื่อจากบริเวณรักแร้ โดยการหนีบสำลีไว้ 15 นาทีแล้วเก็บใส่ขวดที่มีฝาปิดสนิท (รูปที่ 2) เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยเทคนิค Gas Chromatography - Ion Mobility Spectrometry (GC-IMS)



รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเหงื่อ

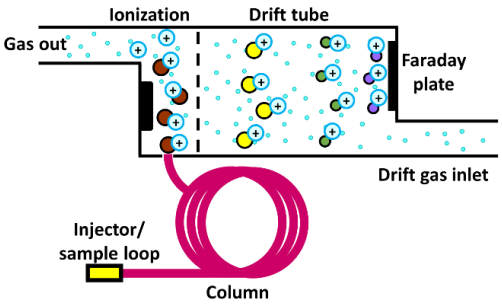
GC-IMS เป็นเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการใช้วิเคราะห์และแยกสาร VOCs เมื่อเทียบกับเทคนิคแบบเดิมที่นิยมใช้คือ Gas chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS) เนื่องจาก GC-IMS จะให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็วและใช้สารปริมาณตัวอย่างน้อยกว่า สำหรับการสกัดสาร VOCs ที่ใช้กับ GC-IMS จะใช้วิธีการสกัดแบบเฮดสเปซ (Headspace: HS) ดังแสดงในรูปที่ 3 โดยตัวอย่างจะถูกให้ความร้อน ทำให้ VOCs ระเหยขึ้นมาจากตัวอย่างเหงื่อ (รูปที่ 4) จากนั้น VOCs จะถูกแยกด้วย GC และตรวจวัดด้วย IMS ที่สามารถตรวจวัดไอออนของสารที่แตกต่างกันได้อย่างดี

รูปที่ 3 แสดงเครื่อง HS-GC-IMS



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคเฮดสเปซ

สำหรับการแยกสารด้วย GC-IMS แสดงดังรูปที่ 5 โดย VOCs จะถูกแยกด้วยคอลัมน์ใน GC ตามสภาพขั้วหรือจุดเดือด จากนั้นจะถูกแยกอีกครั้งด้วย IMS



รูปที่ 5 แสดงการทำงานของการแยกสองมิติของ GC-IMS

เครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์

Incubation Temp (°C)	40
Incubation Time (min)	20
Syringe Temp (°C)	70
Injection volume (µL)	100

ตารางที่ 1 การตั้งค่าของเครื่องเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติชนิดเฮดสเปซ

Column	FS-SE-54-CB-1,ID 0.53mm,15m
Injector Temp (°C)	80
Column Flow (mL min^{-1})	2
Oven Temp (°C)	40
Run time (min)	25

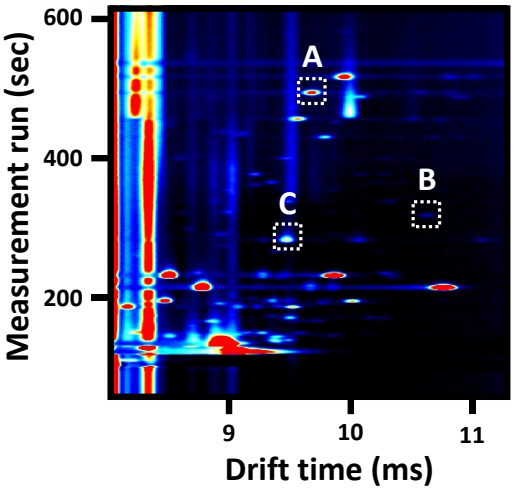
ตารางที่ 2 การตั้งค่าของ GC

IMS Temp (°C)	45
Drift Gas Flow (mL min^{-1})	150

ตารางที่ 3 การตั้งค่าของเครื่อง IMS

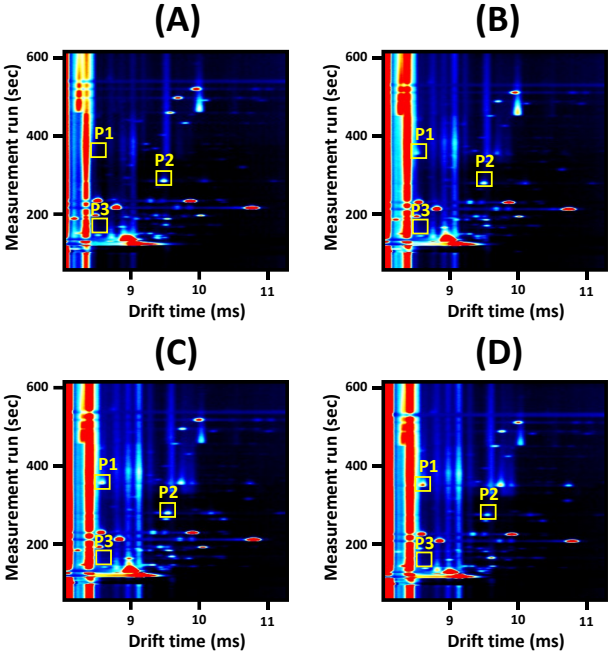
ผลการวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์เหงื่อของผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน COVID -19 ด้วยเทคนิค HS-GC-IMS ที่แสดงผลเป็นเป็น Contour Plot โดยมีแกน X คือ ผลในการแยกของ IMS และแกน Y คือ การแยกใน GC ตำแหน่งและความเข้มของสี หมายถึง ตำแหน่งที่สารถูกแยกในระบบ และปริมาณสารในจุดสีนั้นๆตามลำดับ ความเข้มของสีจะบ่งบอกถึงปริมาณสารที่มีมากตามความเข้มของสี ดังรูปที่ 6 จากตำแหน่งของแต่ละจุด A,B และ C ขึ้นคนละตำแหน่งบนโครมาโตแกรมของเหงื่อ ซึ่งแปลว่าเป็น VOCs คนละชนิดกัน โดยความเข้มของ A มีมากกว่า C และ B ตามลำดับ ดังนั้น ปริมาณสาร A มีมากกว่า C และ B นั้นเอง (ปริมาณสาร A > C > B)



รูปที่ 6 โครมาโตแกรมแสดงสาร VOCs ที่ตรวจพบในตัวอย่างเหงื่อของมนุษย์

สำหรับผลของการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของ VOCs ในเหงื่อของมนุษย์หลังจากการฉีดวัคซีน จากคนเดียวกัน พบว่ามีบริเวณที่สนใจ 3 ตำแหน่ง คือ (รูปที่ 7) ที่ตำแหน่ง P1-P3 มีความเข้มที่แตกต่างกันและมีบางจุดเพิ่มขึ้นหรือจางหายไปในแต่ละช่วงเวลา ซึ่งหมายถึงการเปลี่ยนแปลงของสารเคมี หรือ VOCs ในเหงื่อหลังจากฉีดวัคซีนที่เวลาแตกต่างกัน



รูปที่ 7 โครมาโตแกรมแสดงสาร VOCs ที่ตรวจพบในตัวอย่างเหงื่อของมนุษย์ที่เวลาแตกต่างกัน (A) 24 ชั่วโมง ก่อนฉีดวัคซีน และ (B) 6 ชั่วโมง (C) 24 ชั่วโมง และ (D) 48 ชั่วโมง หลังการฉีดวัคซีน

โดยข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HS-GC-IMS สามารถนำไปศึกษาและวิเคราะห์ทางสถิติต่อเพื่อดูปริมาณ VOCs ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่างๆหลังจากรับวัคซีน COVID-19 ได้

สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์กลิ่นของตัวอย่างเหงื่อด้วยเทคนิค HS-GC-IMS สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารระเหย หรือ VOCs ที่เปลี่ยนแปลงไป ณ เวลาต่างๆ ก่อนและหลังจากฉีดวัคซีน COVID -19 ได้ โดยสามารถทำการศึกษาโดยอัตโนมัติจากเครื่องนี้ และยังปลอดภัยต่อผู้ทำการวิจัย เนื่องจากตัวอย่างเหงื่อมีปริมาณไวรัสน้อยกว่าตัวอย่างน้ำลาย หรือลมหายใจของมนุษย์ และการเก็บเหงื่อวิธีนี้ไม่สร้างความเจ็บปวดต่อมนุษย์แต่อย่างใด

เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคแบบเดิม พบว่า GC-IMS สามารถวิเคราะห์ผลได้ในเวลาอันรวดเร็วกว่าเทคนิค GC-MS ที่โดยทั่วไปอาจใช้เวลาในการแยกสารนานกว่า นอกจากนี้การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี HS สามารถทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน ไม่ต้องใช้ตัวดูดซับสาร ที่มีราคาสูง และยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย เพราะไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารเคมี ในการสกัดสารจากตัวอย่าง สำหรับ GC-IMS เราสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านการวิเคราะห์ VOCs ทั้งเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณเช่นเดียวกับเทคนิคทางโครมาโตกราฟีอื่นๆ

ติดตามแอพพลิเคชั่นอื่น ๆ ได้ที่ https://www.scispec.co.th

บริษัท ซายน์ สเปค จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533
scispec @scispec

ISSUED: 23071001