การศึกษาจุลินทรีย์บนผิวหนัง (SKIN MICROBIOTA) บริเวณมือของนักเรียน TRACK แพทยศาสตร์ และ กลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนศรีสุวิช จังหวัดชลบุรี

นางสาวศิรินันท์ วิบูลย์จันทร์[1], นางสาวเกวลิน หาญฟ้าเลื่อน[1], นายณัฐภัทร อิทธิปิยะนิธิ[1], นายศิราธนากรณ์ โนนกงกลาง[1], นายจุนฮยอก ลี,[1] ผศ.ดร.กนกพร ศรีสุจริตพานิช [2]
[1]นักเรียนใน TRACK แพทยศาสตร์และกลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนศรีสุวิช
[2] คณะสหเวชศาสตร์ สาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

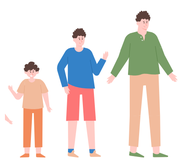
ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีพื้นที่ใหญ่ที่สุดของร่างกาย มีหน้าที่ปกป้องอวัยวะภายในจากสภาวะแวดล้อม เปรียบเสมือนเครื่องกีดขวางทางกายภาพที่ป้องกันการรุกรานจากเชื้อก่อโรคที่จะเข้าสู่ร่างกาย ในขณะเดียวกันผิวหนังก็เป็นที่อยู่อาศัยแก่เชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal flora) ผิวหนังของมนุษย์เป็นแหล่งรวมของแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัสที่ประกอบเป็นไมโครไบโอตาของผิวหนัง คล้ายกับในลำไส้ของคน เมื่อผิวหนังถูกรบกวนจะทำให้เสียสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ การตรวจสอบไมโครไบโอมของผิวหนัง นักวิจัยด้านจุลชีววิทยาเริ่มใช้เทคนิคสมัยใหม่ เช่น การทดสอบหาลำดับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียเพื่อระบุและกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ต่างๆ ที่มีอยู่บนผิวหนัง เพื่อประเมินความหลากหลายของแบคทีเรีย และเพื่อทำความเข้าใจว่าความหลากหลายของจุลินทรีย์อาจส่งผลต่อสุขภาพผิวหนังและภาวะผิวหนังได้อย่างไร งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้ภาพรวมความรู้เกี่ยวกับไมโครไบโอต้าของผิวหนัง โดยเริ่มจากการเก็บตัวอย่างผิวหนังด้วยไม้พันสำลีชนิดพิเศษ ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างอาสาสมัครสุขภาพดีในเขตจังหวัดชลบุรี ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ ด้วยการวัดความเข้มข้นที่ OD260 nm ตรวจสอบความบริสุทธิ์ดู ratio OD260/280 จากนั้นทำเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์เพื่อตรวจสอบเบื้องต้น ก่อนส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย Next-generation sequencing ต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นบนผิวหนังบริเวณผิวมือของประชากรจังหวัดชลบุรี

วิธีการดำเนินงานวิจัย

CLINICAL STUDY



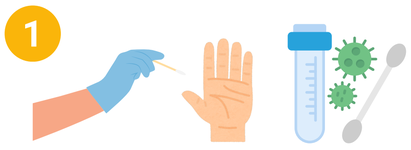
อายุ 15 - 20 ปี

สุขภาพแข็งแรง

ผิวสุขภาพดี
(ไม่เป็นโรคผิวหนัง)

MICROBIOME CHARACTERIZATION

1

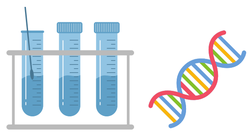


HAND SWAB NSS AND COLLECTED SAMPLE IN NAP BUFFER

2

EXTRACTED DNA USING THE ZYMOBIOMICS DNA MINIPREP KIT

3



DNA EXTRACTION

4

QUALITY CHECK

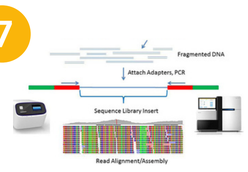
5

AMPLITICATION BY PCR 16S rRNA

6

EXAMINE THE QUALITY OF PCR PRODUCT

7

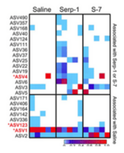


LIBRARY CONTRUCTION

8

DNA SEQUENCING

9



BIOINFORMATICS
TAXONOMY ABUNDANCE,
ALPHA DIVERSITY, BETA DIVERSITY

ผลการดำเนินงานวิจัย

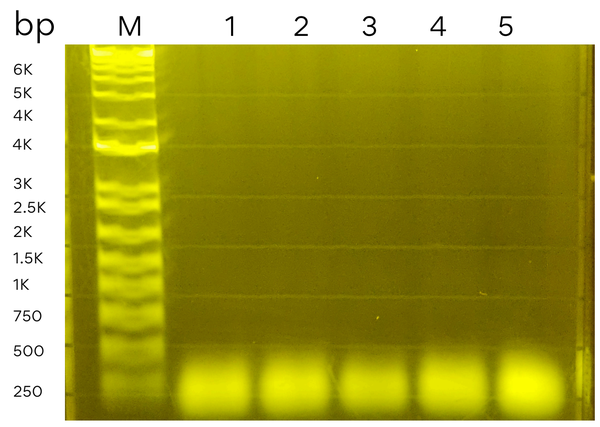
ผลการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างผิวหนังของอาสาสมัคร

ตารางแสดงความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ

Sample	Conc. ng/µL	OD 260/280
01	16	0.71
02	15	0.64
03	15	0.65
04	12	0.63
05	17	0.89

A limitation of NGS is the requirement for DNA with a concentration of more than 15 ng/µL and high purity (OD260/280 >=1.8)

ผลการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์



Gel Electrophoresis จากเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนังบริเวณมือของนักเรียนใน Track แพทยศาสตร์และกลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพ

ข้อเสนอแนะการวิจัย

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนังซึ่งมีปริมาณน้อย ทำให้สกัดดีเอ็นได้น้อย ดังนั้นควรเพิ่มบริเวณที่ทำการเก็บและปรับขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอเพื่อให้ได้ปริมาณดีเอ็นเอที่มากพอในการไปทำการทดลองขั้นต่อไป ข้อมูลชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนัง (บริเวณมือ) จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประเมินความเสี่ยงต่อโรคผิวหนัง พัฒนาเวชสำอาง ที่ช่วยรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ เช่น การพัฒนาโปรไบโอติกสำหรับผิวที่ส่งเสริมแบคทีเรียที่มีประโยชน์ และยับยั้งเชื้อก่อโรคที่อาจก่อให้เกิดการอักเสบหรือการติดเชื้อ แนวทางนี้จะช่วยลดปัญหาผิวอักเสบและส่งเสริมสุขภาพผิวอย่างยั่งยืน

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาจุลินทรีย์บนผิวหนังบริเวณมือของนักเรียนTrackแพทยศาสตร์และกลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพ พบว่าสามารถสกัด DNA ได้และเมื่อนำสารพันธุกรรมที่เตรียมไว้มาตรวจหายีน 16S rRNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และตรวจสอบด้วย Gel Electrophoresis เพื่อเทียบขนาดของชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนัง ซึ่งสามารถนำไปตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์เมื่อตรวจหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ต่อไปได้