

ความก้าวหน้าด้านเทคโนโลยีชีวการแพทย์ในการวินิจฉัยโรควัณโรค Advances in Biomedical Technology for Tuberculosis Diagnosis

ทวิวรรณ สารีบท*

บทคัดย่อ

วัณโรคยังคงเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของโลก โดยทั่วโลกมีผู้ป่วยรายใหม่ด้วยโรคนี้เป็นล้านคนในแต่ละปี รายงานล่าสุดขององค์การอนามัยโลกคาดว่าเมื่อปี 2555 และอัตราการเสียชีวิตจากวัณโรคประมาณ 1.3 ล้านคน (โดยแบ่งเป็นผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อ HIV ประมาณ 1 ล้านคนและผู้ติดเชื้อ HIV อีกประมาณ 3 แสนคน) วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่มีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ส่วนมากมักก่อโรคที่ปอด (วัณโรคปอด) แต่ก็สามารถก่อโรคที่อวัยวะอื่นๆในร่างกายได้ (วัณโรคนอกปอด) โรคนี้เป็นโรคที่ติดต่อทางเดินหายใจ ผู้ป่วยวัณโรคสามารถแพร่เชื้อไปสู่ผู้อื่นได้โดยผ่านการไอหรือจาม โดยทั่วไปแล้วในคนปกติที่ได้รับเชื้อ *M. tuberculosis* จะมีสัดส่วนน้อยมากที่จะป่วยเป็นโรควัณโรค แต่สัดส่วนการป่วยเป็นโรควัณโรคนี้จะเพิ่มมากขึ้นในผู้ติดเชื้อ HIV การวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคมีความสำคัญมาก เพราะไม่เพียงแต่จะช่วยรักษาผู้ป่วยวัณโรคให้หายจากโรค แต่ยังมีส่วนช่วยในการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อ

วัณโรคไปสู่นุคคลอื่นได้อีกทางหนึ่ง การวินิจฉัยโรควัณโรคในปัจจุบัน ยกตัวอย่างเช่น การถ่ายภาพรังสีทรวงอก, การตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะ, การเพาะเชื้อวัณโรคจากเสมหะและการทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยา การทดสอบเหล่านี้ต่างก็มีข้อจำกัดในการทดสอบ ภาพถ่ายรังสีทรวงอกเพียงอย่างเดียวยังไม่มี ความแม่นยำมากพอที่จะใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคได้ การตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะยังมีความไวต่ำในจากตรวจพบแบคทีเรียในเสมหะ การเพาะเชื้อวัณโรคจากเสมหะและการทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยาใช้เวลานานกว่าจะได้ผลการทดสอบ จึงยังคงมีการคิดค้นพัฒนาวิทยาการด้านเทคโนโลยีชีวการแพทย์ใหม่ๆ เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรควัณโรค ออกมาอย่างต่อเนื่อง ยกตัวอย่างเช่น Interferon-gamma release assay (IGRA), Polymerase chain reaction (PCR), Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) และเทคนิคอื่นๆ อีกมากมาย โดยมุ่งเน้นไปที่การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็วมากยิ่งขึ้น ซึ่งถือเป็นประตูสู่ความสำเร็จในการควบคุมโรควัณโรค

*อาจารย์ประจำสำนักวิชาอุปกรณ์ชีวการแพทย์และเทคโนโลยีชีวการแพทย์
คณะวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยคริสเตียน

Abstract

Tuberculosis (TB) remains a major global health problem. The latest WHO report estimates included in this report are that there were 8.6 million new TB cases in 2012 and 1.3 million TB deaths (just under 1.0 million among HIV-negative people and 0.3 million HIV-associated TB deaths). TB is an infectious disease caused by the bacillus mainly *Mycobacterium tuberculosis*. It typically affects the lungs (pulmonary TB) but can affect other sites as well (extrapulmonary TB). The disease is spread in the air when people who are sick with pulmonary TB expel bacteria, for example by coughing. In general, a relatively small proportion of people infected with *M. tuberculosis* will develop TB disease; however, the probability of developing TB is much higher among people infected with HIV. Diagnosis of TB infection is essential not only for treatment of the infected individual, but

also for controlling its spread among various populations. The current routine diagnostic tests for TB such as chest x-ray, sputum smear microscopy, sputum culture and drug susceptibility testing, have their limitations. A chest x-ray alone is inaccurate method for diagnosis of TB infection. Sputum smear microscopy has low sensitivity to detect bacteria in sputum. Sputum culture and drug susceptibility testing take too long time to produce a result. New biomedical technologies for TB diagnosis have been developed, such as Interferon-gamma release assay (IGRA), Polymerase chain reaction (PCR), Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) etc., to improve accuracy precision and rapidity to detect *M. tuberculosis*. That is the gateway to success in tuberculosis controlling.

วัณโรค (Tuberculosis)

วัณโรคเป็นโรคติดต่อเรื้อรังที่ยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของโลก ถือเป็นอันดับ 2 ของสาเหตุการเสียชีวิตจากโรคติดต่อเรื้อรังมาจากโรคเอดส์ ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ Human immunodeficiency virus (HIV) องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้คาดว่ามีความอุบัติการณ์ของผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ประมาณ 8.6 ล้านคน และอัตราการเสียชีวิตจากวัณโรคประมาณ 1.3 ล้านคน ส่วนในประเทศไทยพบว่ามีอุบัติการณ์ของผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ประมาณ 80,000 คน และอัตราการเสียชีวิตจากวัณโรคประมาณ 9,200 คนในปี ค.ศ. 2012

(Global tuberculosis report 2013)การแพร่ระบาดของโรคเอดส์ในปัจจุบัน ทำให้สถานการณ์วัณโรคทวีความรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากเชื้อวัณโรคเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่มักก่อโรคในผู้ป่วยโรคเอดส์ และประเทศไทยถือว่ามีความชุกของวัณโรคค่อนข้างสูงทำให้ผู้ป่วยโรคเอดส์มีโอกาสจะได้รับเชื้อวัณโรคจึงมีมากขึ้นด้วย ส่งผลให้อุบัติการณ์ของผู้ป่วยวัณโรคเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้วัณโรคในผู้ป่วยโรคเอดส์ถือว่าเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการควบคุมวัณโรค ไม่ว่าจะเป็นในแง่ของการวินิจฉัยและการรักษาที่ยากมากยิ่งขึ้น ผู้ป่วยโรคเอดส์จะมีโอกาสแพ้และดื้อยาต้านวัณโรคได้มากกว่าคนทั่วไป หากเชื้อวัณโรคที่แยกได้จากผู้ป่วยเอดส์คือ

วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีที่ ๒๐ ฉบับที่ ๒ (เมษายน - มิถุนายน) ๒๕๕๗

ต่อยาด้านวัณโรค จะทำให้การรักษาและการป้องกันมีความยากลำบากมากขึ้น ผู้ป่วยมีโอกาสแพร่เชื้อวัณโรคต่อยานี้ให้คนใกล้ชิดและชุมชนต่อไปได้

วัณโรคมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อในกลุ่ม *Mycobacterium* ซึ่งจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่มีการเจริญเติบโตช้ากว่าแบคทีเรียทั่วไปชนิดอื่นๆ และมีผนังเซลล์ที่สามารถทนทานต่อกรดได้ดี จึงอาจเรียกได้ว่า Acid fast bacilli (AFB) ไมโคแบคทีเรียมีหลายสายพันธุ์ซึ่งก่อให้เกิดวัณโรคได้ แต่สายพันธุ์ที่พบบ่อยและก่อปัญหาหนักที่สุดในมนุษย์คือ เชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* (กำพล สุวรรณพิมลกุล, 2557)

วัณโรคสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ

1. วัณโรคปอด (Pulmonary tuberculosis) ชนิดนี้จะพบได้บ่อยกว่า เนื่องจากติดต่อได้ง่ายผ่านทาง การหายใจเอาเชื้อที่แขวนลอยอยู่ในอากาศหรือละอองเสมหะที่เกิดจากการไอ จาม จากผู้ป่วยไปสู่คนใกล้ชิด
2. วัณโรคนอกปอด (Extra-pulmonary tuberculosis) เชื้ออาจแพร่กระจายจากปอดไปทาง เลือดหรือน้ำเหลืองไปยังอวัยวะอื่นๆ ได้ทั่วร่างกาย เช่น ต่อมน้ำเหลือง ตับ ม้าม กระดูก หรือเยื่อหุ้มสมอง เป็นต้น

โดยปกติระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายจะมีการตอบสนองต่อเชื้อวัณโรคที่เข้ามาอยู่ในร่างกายแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1. เชื้อวัณโรคจะถูกกำจัดได้หมดโดยภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้ไม่มีเชื้อวัณโรคอยู่ในร่างกาย
2. เชื้อวัณโรคจะเข้ามาอยู่ในร่างกาย แต่จะอยู่ในระยะแฝงของการติดเชื้อวัณโรค โดยจะมีเม็ดเลือดขาวจะโอบล้อมเชื้อวัณโรคอยู่ทำให้เชื้ออยู่ในระยะสงบหรือระยะแฝง ซึ่งจะไม่ก่อโรคหรือที่เรียกว่า Latent tuberculosis ผู้ติดเชื้อจะไม่แสดงอาการใดๆ และ

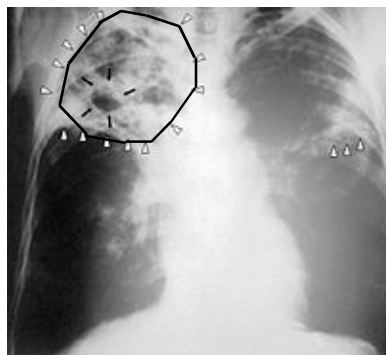
จะไม่มีอาการแพร่กระจายของเชื้อ แต่เมื่อไหร่ที่ร่างกายอ่อนแอ ภูมิคุ้มกันต่ำลง เม็ดเลือดขาวที่โอบล้อมเชื้ออยู่ไม่สามารถควบคุมเชื้อได้ก็จะทำให้ผู้ติดเชื้อป่วยเป็นโรควัณโรคได้

3. กลุ่มผู้ป่วยที่กลายเป็นโรควัณโรค (Active tuberculosis) หลังจากที่มีการสัมผัสเชื้อ ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้มักจะเป็นผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันโรคต่ำ เช่น ผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ติดเชื้อ HIV ผู้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เช่น ยารักษาโรคเอดส์หรือโรคภูมิแพ้ จะมีโอกาสเป็นวัณโรคได้ง่ายกว่าคนปกติ (กำพล สุวรรณพิมลกุล, 2557)

แนวทางการวินิจฉัยวัณโรคปอดในประเทศไทย

1. อาการและอาการแสดง (Sign and symptom) อาการที่น่าสงสัยว่าเป็นวัณโรคปอดได้แก่ ไอเรื้อรังโดยเฉพาะอาการไอนานเกิน 3 สัปดาห์ โดยจะเริ่มจากไอแห้งๆ ต่อมาจะมีเสมหะ จนอาจมีไอเป็นเลือดได้ อาการอื่นๆ ที่พบได้บ่อย คือ เจ็บหน้าอก มีไข้ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร น้ำหนักลดไม่ทราบสาเหตุ และเหงื่อออกตอนกลางคืน

2. การถ่ายภาพรังสีทรวงอก (Chest X-ray) พบลักษณะภาพถ่ายรังสีทรวงอกผิดปกติที่เข้าได้กับวัณโรคปอด เช่น พบรอยโรคเป็นลักษณะ Reticulonodular หรือ Cavity ที่ตำแหน่งปอดกลีบบน วิธีนี้เป็นการตรวจที่มีความไวสูง (High sensitivity) แต่ความเฉพาะเจาะจงต่ำ (Low specificity) กล่าวคือ ภาพถ่ายรังสีทรวงอกที่ผิดปกติที่เห็นนั้นอาจไม่ใช่เกิดจากวัณโรคก็ได้ โดยอาจเป็นเนื้องอกหรือมะเร็ง หรือเกิดจากโรคติดเชื้ออื่นๆ ดังนั้นการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยเป็นวัณโรคปอดหรือไม่ จำเป็นต้องมีการตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะด้วยเสมอ เพื่อหลีกเลี่ยงการวินิจฉัยผิดพลาด



รูปที่ 1 ภาพถ่ายรังสีทรวงอกของผู้ป่วยวัณโรค
(ที่มา : <http://en.wikipedia.org/wiki/Tuberculosis>)

3. การตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะ (Sputum smear microscopy) ควรทำในผู้ป่วยทุกรายที่สงสัยว่าเป็นวัณโรค เพื่อช่วยยืนยันการวินิจฉัย โดยให้ผู้ป่วยเก็บเสมหะมาทำการย้อมด้วยสีพิเศษที่เรียกว่า Acid fast stain โดยอาศัยหลักการที่ว่าผนังเซลล์ของ *Mycobacterium* จะมีความทนทานต่อกรดได้ดี จึงสามารถแยกแบคทีเรียชนิดนี้ออกจากแบคทีเรียชนิดอื่นได้ด้วยการย้อมสีที่นิยมได้แก่ Ziehl-Neelsen stain จากนั้นนำมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถรู้ผลได้ภายใน 30 นาที วิธีนี้เป็น การตรวจที่มีความเฉพาะเจาะจงสูง (High specificity)

แต่มีความไวต่ำ (Low sensitivity) เนื่องจากมีโอกาสตรวจพบเชื้อวัณโรคได้เพียง 50% ของผู้ป่วยเท่านั้น ดังนั้นผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบเชื้อวัณโรคในเสมหะก็ยังคงอาจเป็นโรควัณโรคปอดได้ การเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อวัณโรคจากเสมหะทำได้โดยสอนผู้ป่วยให้เก็บเสมหะให้ถูกต้อง เสมหะที่ดีควรเป็นเสมหะที่มาจากส่วนลึกของหลอดลมจริงๆ ไม่ใช่ใช้น้ำลายมาตรวจ ดังนั้นจึงควรเก็บเสมหะหลังตื่นนอนตอนเช้าเป็นเวลา 3 วัน ติดต่อกันเพื่อเพิ่มโอกาสในการพบเชื้อวัณโรคในเสมหะมากขึ้น



รูปที่ 2 ภาพแสดงเชื้อวัณโรค *Mycobacterium tuberculosis* (สีแดง)
ถูกย้อมด้วย Ziehl-Neelsen stain ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า
(ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Ziehl%E2%80%93Neelsen_stain)

4. การเพาะเชื้อวัณโรคจากเสมหะ (Sputum culture for TB) จะทำการส่งตรวจการเพาะเชื้อในรายสงสัยว่าจะเป็นวัณโรคแต่ไม่พบเชื้อเมื่อทำการตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะ (Sputum smear microscopy) เพื่อยืนยันการวินิจฉัย ข้อดีคือ วิธีนี้สามารถตรวจพบเชื้อได้สูงถึง 80-90% ของผู้ป่วย

วิธีการคือ นำเสมหะของผู้ป่วยมาใส่บนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะและนำไปบ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสม ใช้เวลาประมาณ 2 เดือนจึงทราบผลเนื่องจากเชื้อวัณโรคเป็นเชื้อที่มีการเจริญเติบโตช้า ถ้าในเสมหะของผู้ป่วยมีเชื่อน้อยๆ จะพบลักษณะโคโลนีสีฟางแห้ง ผิวขรุขระ คล้ายดอกกะหล่ำ ขึ้นบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 3 ภาพแสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อวัณโรค *Mycobacterium tuberculosis* ที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
(ที่มา: <http://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/chapter4.pdf>)

5. การทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยา (Drug susceptibility testing in TB) จะทำการส่งตรวจการทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยาในกรณีที่ผู้ป่วยมีปัจจัยเสี่ยงที่จะมีเชื้อวัณโรคดื้อยา ในกรณีต่อไปนี้

- 5.1 ผู้ป่วยที่มีประวัติรักษาไม่สม่ำเสมอ
- 5.2 ผู้ป่วยที่รักษาหายแล้วกลับมาเป็นซ้ำ
- 5.3 ผู้ป่วยที่มีการรักษาล้มเหลว
- 5.4 ผู้ป่วยที่มีสมาชิกในครอบครัวเป็นผู้ป่วยวัณโรคดื้อยา
- 5.5 ผู้ที่ติดยาเสพติด

การเพาะเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยาจะใช้เวลาประมาณ 3 เดือน การทดสอบนี้จะช่วยให้แพทย์สามารถเลือกใช้ชนิดของยาต้านเชื้อวัณโรคให้เหมาะกับผู้ป่วยในแต่ละรายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัณโรคเป็นโรคที่สามารถรักษาได้หายขาดได้ แต่ผู้ป่วยจะต้องรับประทานยาทุกวันอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันสูตรยามาตรฐานที่นิยมใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ คือ 2HRZE(S)/4 HR โดยตัวเลขข้างหน้าคือ จำนวนเดือน ส่วนตัวย่อและขนาดยาเป็นดังนี้ H = isoniazid 300 มก./วัน, R = rifampicin 10 มก./กก./วัน, Z = pyrazinamide 25 มก./กก./วัน, E = ethambutol 15 มก./กก./วัน, S = streptomycin 15 มก./กก./วัน จะใช้เวลารักษาประมาณ 6 เดือน (สำนักวัณโรค, 2551)

ถ้าผู้ป่วยรับประทานยาต้านวัณโรคไม่ครบตามที่แพทย์สั่ง ซึ่งอาจเกิดจากผลข้างเคียงของยา เช่น เมื่อผู้ป่วยรับประทานยาเข้าไปแล้วมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนรุนแรง ทำให้ผู้ป่วยไม่ยอมรับรับประทานยาอีก หรือรับประทานยาไม่ต่อเนื่อง เห็นว่าอาการไข้หรือไอดีขึ้นก็หยุดยาก่อนแพทย์สั่ง หรือผู้ป่วยไม่มา

พบแพทย์ตามนัด ทั้งหมดนี้จะทำให้เชื้อวัณโรคดื้อยา ผลที่ตามมาคือไม่สามารถรักษาด้วยยาเดิมได้ ต้องเปลี่ยนเป็นยาตัวใหม่ที่มีราคาแพงขึ้นและเข้าถึงยากยิ่งขึ้น รวมถึงใช้ระยะเวลาในการรักษานานยิ่งขึ้น นอกจากนี้ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาที่ขาดการรักษายังสามารถแพร่เชื้อที่ดื้อยาไปสู่คนอื่น ๆ ในสังคมได้ ทำให้การควบคุมโรคลำบากมากยิ่งขึ้นเป็นเท่าทวีคูณ

แนวทางการป้องกันวัณโรค

1. ควรรักษาสุขภาพให้แข็งแรง โดยการออกกำลังกายพักผ่อนให้พอเพียง รับประทานอาหารที่มีประโยชน์ ไม่ใช้ของใช้ส่วนตัว เช่น ผ้าเช็ดหน้า ผ้าเช็ดตัว ร่วมกับผู้อื่น และควรตรวจสุขภาพเป็นประจำทุกปี
2. ควรฉีดวัคซีน BCG ให้ทารกแรกเกิดทุกราย วัคซีนชนิดนี้มีผลในการป้องกันวัณโรคชนิดรุนแรงในเด็กเล็ก แต่ไม่สามารถป้องกันวัณโรคปอดในผู้ใหญ่ ผู้ที่เคยฉีด BCG มาแล้วก็ยังมีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นวัณโรคปอดได้
3. ถ้ามีอาการผิดปกติที่สงสัยว่าจะเป็นวัณโรค เช่น ไอเรื้อรัง มีไข้ เจ็บ หน้าอก เหงื่อออกกลางคืน เหนื่อยหอบเมื่ออาหาร น้ำหนักลด ควรปรึกษาแพทย์ (วีระเดช สุวรรณลักษณ์, 2557)

เป้าหมายของการควบคุมวัณโรค

1. อัตราการค้นหาผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ (Case finding) ไม่ต่ำกว่า 70% ของผู้ป่วยที่คาดว่าจะมีการวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรค นั่นคือมีความจำเป็นอย่างมาก ไม่เพียงแต่จะช่วยรักษาผู้ติดเชื้อให้หายจากโรคแล้ว ยังช่วยในการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรคไปยังคนอื่นได้อีกทางหนึ่งด้วย
2. อัตราการรักษาหาย (Cure rate) ในผู้ป่วยวัณโรคเสมหะพบเชื้อ ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85 (อย่างน้อยในผู้ป่วยใหม่) โดยแผนงานการควบคุมวัณโรคแห่งชาติ (National Tuberculosis Program, NTP) ได้นำนวัตกรรมในการควบคุมวัณโรค

ด้วยระบบยาระยะสั้นภายใต้การสังเกตโดยตรง Directly Observed Treatment, Short Course (DOTS) มาใช้กับผู้ป่วยวัณโรคในประเทศไทย

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าการวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคได้อย่างถูกต้องและรวดเร็วคือประตูสู่ความสำเร็จในการควบคุมวัณโรค ในขณะที่การทดสอบทางห้องปฏิบัติการแบบดั้งเดิม (Conventional method) ที่คิดค้นมากกว่า 100 ปี ไม่ว่าจะเป็นการตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะ (Sputum smear microscopy) หรือการเพาะเชื้อวัณโรคจากเสมหะ (Sputum culture for TB) ถึงแม้จะเป็นการตรวจที่ไม่ยุ่งยากและราคาถูก แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในแง่ของความไวในการตรวจ (Sensitivity) ต่อมาได้มีการคิดค้นพัฒนาหลักการหรือเทคนิคใหม่ๆ ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) ออกมามากมาย โดยมุ่งเน้นไปที่การตรวจที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็วมากยิ่งขึ้น ยกตัวอย่างเช่น

1. การตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา เป็นการตรวจหาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันวิทยาของร่างกายต่อเชื้อวัณโรค

1.1 Interferon-gamma (IFN- γ) release assay (IGRA) โดยหลักการก็คือเมื่อเชื้อวัณโรคเข้ามาในร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte ที่จำเพาะกับแอนติเจนนั้นๆ จะถูกกระตุ้นให้มีการสร้าง Interferon-gamma (IFN- γ) ขึ้นมา สามารถตรวจวัดได้ในเลือด โดยใช้เวลาประมาณ 1 วัน ปัจจุบัน Interferon-gamma (IFN- γ) release assay (IGRA) มีอยู่ 2 รูปแบบด้วยกัน คือ

- 1) การตรวจวัดความเข้มข้นของ Interferon-gamma (IFN- γ) ด้วยหลักการ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เช่น QuantiFERON®-TB test โดยในชุดทดสอบนี้จะมีโปรตีนสังเคราะห์ที่เป็นแอนติเจนบนผิวของ

วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีที่ ๒๐ ฉบับที่ ๒ (เมษายน - มิถุนายน) ๒๕๕๗

เชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) 3 แอนติเจนด้วยกัน คือ ESAT-6, CFP-10 และ TB7.7 จากนั้นหยดเลือดของผู้ที่ต้องการทดสอบลงไป ถ้าคนนั้นเคยได้รับเชื้อวัณโรคมาก่อน ในร่างกายจะมี memory T-lymphocyte อยู่ เมื่อพบแอนติเจน สิ่งกระตุ้นที่อยู่ในชุดทดสอบอีกครั้ง จะตอบสนองอย่างรวดเร็วโดยการหลั่ง Interferon-gamma (IFN- γ) ออกมา สามารถตรวจวัดได้โดยใช้เทคนิค ELISA ร่วมด้วย

2) การนับจำนวนของ T-lymphocyte ที่ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนบนผิวของเชื้อวัณโรคให้หลั่ง Interferon-gamma (IFN- γ) ด้วยหลักการ Enzyme-linked immunospot assay (ELISPOT) เช่น T-SPOT[®] -TB test โดยในชุดทดสอบนี้จะมีโปรตีนสิ่งกระตุ้นที่เป็นแอนติเจนบนผิวของเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) 2 แอนติเจนด้วยกัน คือ ESAT-6 และ CFP-10

การฉีดวัคซีน BCG จะไม่มีผลต่อการตรวจ Interferon-gamma (IFN- γ) release assay (IGRA) เนื่องจากใช้แอนติเจนคนละชนิดในการกระตุ้น กล่าวคือ แอนติเจน ESAT-6 และ CFP-10 ที่ใช้ใน IGRA นั้น จะพบเป็นแอนติเจนบนผิวของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* เท่านั้น ไม่พบในไมโคแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่ไม่ก่อโรควัณโรค (non-tuberculous mycobacteria) หรือในวัคซีน BCG ผลที่ได้จึงมีความเฉพาะเจาะจง (Specificity) มากกว่า Tuberculin skin test (TST) (ShuQi Wang et al., 2013)

2. การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรค

2.1 Polymerase chain reaction (PCR)

ในปี ค.ศ. 1983 มีการคิดค้นกระบวนการในการสังเคราะห์ชิ้นส่วนของ DNA ในหลอดทดลองขึ้นมา หรือที่เรียกว่า Polymerase chain reaction (PCR) ใน 1 วนรอบของปฏิกิริยา (Cycle) จะมีอยู่ 3 ขั้นตอน คือ

1) Denaturing

เป็นขั้นตอนการเพิ่มอุณหภูมิเพื่อแยก DNA สายคู่ให้เป็นสายเดี่ยว อุณหภูมิที่ใช้อยู่ในช่วง 94-98 องศาเซลเซียส

2) Annealing

เป็นขั้นตอนการลดอุณหภูมิลง เพื่อให้ specific primer สามารถจับกับ Template DNA ได้ โดยอุณหภูมิที่ใช้อยู่ในช่วง 50-65 องศาเซลเซียส

3) Extension

เป็นขั้นตอนการต่อสาย DNA ต่อจาก primer ด้วยการทำงานของเอนไซม์ Taq DNA polymerase โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 70-72 องศาเซลเซียส ในการทำ PCR จะทำซ้ำๆ หลายวนรอบของปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของ DNA เป้าหมาย จากนั้นจะนำไปทำการตรวจสอบ DNA เป้าหมายด้วยการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า หรือที่เรียกว่า Gel electrophoresis ต่อไป

สำหรับการประยุกต์ใช้เทคนิค PCR ในการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรคในตัวอย่างตรวจนั้น เป็นการนำความรู้ด้านอณูชีววิทยา (Molecular biology) มาใช้ในการออกแบบ specific primer ที่มีความจำเพาะกับลำดับเบสของเชื้อวัณโรค โดยนำมาทำปฏิกิริยากับ DNA ที่สกัดจากสิ่งส่งตรวจจากผู้ต้องสงสัยว่าจะเป็นวัณโรค เช่น จากเลือด เสมหะ ชิ้นเนื้อ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการ PCR และ Gel electrophoresis แล้ว ถ้าผู้ต้องสงสัยรายใดมีชิ้นส่วนของ DNA ของเชื้อวัณโรคอยู่ แสดงว่าผู้ต้องสงสัยรายนั้นมีการติดเชื้อวัณโรคจริง ฯลฯ วิธีนี้มีความไวและความเฉพาะเจาะจงสูง อีกทั้งยังสามารถทราบผลได้อย่างรวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดอยู่ที่ค่าใช้จ่ายสูงเนื่องจากอุปกรณ์และน้ำยามีราคาแพง และต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจ ทำให้ค่าใช้จ่ายต่อผลประโยชน์จะไม่คุ้มค่า ยกเว้นในบางกรณี โดยเฉพาะการวินิจฉัยวัณโรคนอกปอด เช่น การใช้ PCR ในการวินิจฉัยวัณโรคเยื่อหุ้มสมอง หรือการตรวจเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน Multi-drug-resistant tuberculosis (MDR-TB) ในระดับยีน เป็นต้น

ปัจจุบันเทคนิค Real-time Polymerase chain reaction (Real-time PCR) หรือที่รู้จักกันในชื่อ Quantitative PCR (QPCR) ได้ถูกพัฒนาจากการทำ PCR แบบดั้งเดิม (conventional PCR) โดยใช้การติดฉลากด้วยสารเรืองแสงประเภท fluorochrome ทำให้สามารถวัดปริมาณของ DNA เป้าหมายตั้งแต่ต้นจนถึงปลายทางได้และสามารถวัดปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นในแต่ละรอบของปฏิกิริยาได้ทันทีโดยไม่ต้องรอให้กระบวนการเสร็จสิ้นก่อนจึงช่วยลดระยะเวลาในการตรวจลงไปได้อีก

2.2 Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) ในปีค.ศ. 2000 ได้มีการพัฒนาวิธีเพิ่มขยายยีนด้วยเทคนิค Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) ขึ้นมาโดยซึ่งเทคนิคนี้ได้ไม่ต้องใช้เครื่อง PCR thermal cycler ที่มีราคาแพง จึงเหมาะกับห้องปฏิบัติการที่มีขนาดเล็ก หรือสำหรับปฏิบัติการในภาคสนาม (อมรรัตน์ ร่มพฤกษ์, 2554)

ความแตกต่างของ LAMP กับ PCR มีอยู่ด้วยกันหลายอย่าง ได้แก่ LAMP ใช้อุณหภูมิเดียวตลอดทั้งปฏิกิริยาการเพิ่มขยาย DNA เป้าหมาย (Isothermal) ส่วน PCR นั้นต้องใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกันหลายอย่างในหนึ่งวงจรของปฏิกิริยา (Thermal cycling) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เทคนิค LAMP ต้องการเพียงแค่อุปกรณ์พื้นฐานอย่าง water bath ในขณะที่ PCR ต้องการอุปกรณ์ที่สามารถปรับเปลี่ยนอุณหภูมิได้อย่างรวดเร็ว จึงต้องใช้

เครื่อง PCR thermal cycler ที่มีราคาแพง เทคนิค LAMP จะใช้ specific primer จำนวน 4 เส้น ในการตรวจสอบ DNA เป้าหมายที่มีความจำเพาะถึง 6 ตำแหน่ง ทำให้ LAMP มีความเฉพาะเจาะจงมากกว่า PCR ที่ใช้ specific primer เพียง 2 เส้นเท่านั้น ในส่วนของ enzyme DNA polymerase นั้น เทคนิค LAMP ใช้เอนไซม์ *Bst* DNA polymerase ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษเพิ่มเติมคือ สามารถแยก DNA สายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวได้ (strand displacement) ซึ่ง *Taq* DNA polymerase ที่ใช้ในเทคนิค PCR ไม่มีคุณสมบัตินี้ ข้อดีของ LAMP อีกประการหนึ่งคือ สามารถดูผลการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า ไม่จำเป็นต้องมีกระบวนการ Gel electrophoresis ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มขยาย DNA เป้าหมายในเทคนิค LAMP ทำให้มีสาร pyrophosphate เป็น by product สารดังกล่าวสามารถจับกับ magnesium กลายเป็น magnesium pyrophosphate ซึ่งจะตกตะกอนเป็นสีขาวสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า จะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นกับปริมาณการเพิ่มขยาย DNA เป้าหมายนั้นๆ (จิรายุทธ์ วัฒนา, 2555) นอกจากนี้เทคนิคที่กล่าวมาข้างต้น ยังคงมีการคิดค้นพัฒนาวิทยาการด้านเทคโนโลยีชีวการแพทย์ใหม่ๆ เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโรคไวรัสที่อยู่ในขั้นการทดลอง เช่น Biosensors, nanotechnology โดยมุ่งเน้นไปที่การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยที่มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว และตรวจได้ง่ายมากยิ่งขึ้น ซึ่งถือเป็นประตูสู่ความสำเร็จในการควบคุมโรคไวรัส

บรรณานุกรม

- กำพล สุวรรณพิมลกุล. (2557). “ไวรัสโรค” สำคัญกว่าที่คุณคิด. [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อวันที่ 12 พฤษภาคม 2557 จาก <http://www.manager.co.th/qol/viewnews.aspx?NewsID=9570000035337>.
จิรายุทธ์ วัฒนา ธารินทร์ ภูพัฒน์ และ เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์. (2555). ประสิทธิภาพและความไวของวิธี Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) สำหรับการตรวจระบุเพศจากตัวอย่างเลือดมนุษย์. วารสารนิติเวชศาสตร์ (พฤษภาคม-สิงหาคม) : 234-243.

วารสารมหาวิทยาลัยคริสเตียน

ปีที่ ๒๐ ฉบับที่ ๒ (เมษายน - มิถุนายน) ๒๕๕๗

- วีระเดช สุวรรณลักษณ์. (2557). วัณโรค (*Tuberculosis*). [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อวันที่ 14 พฤษภาคม 2557 จาก <http://haamor.com/th/วัณโรค/>.
- สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2551). แนวทางการดำเนินงานควบคุมวัณโรคแห่งชาติ (ฉบับปรับปรุง). กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- อมรรัตน์ ร่มพฤษ. (2554). เทคนิค Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP). วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต (กรกฎาคม-กันยายน) : 201-206.
- Global tuberculosis report*. (2013). [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อวันที่ 10 พฤษภาคม 2557 จาก http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
- ShuQi Wang, Fatih Inci, Gennaro De Libero, Amit Singhal, Utkan Demirci. (2013). Point-of-care assays for tuberculosis: Role of nanotechnology/microfluidics. *Biotechnology Advances*, 31: 438-449.

