



# การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในอนาคต

**Angkana Chaiprasert, Dr.rer.nat.  
Department of Microbiology  
Faculty of Medicine Siriraj Hospital  
Mahidol University**

**NAC 2013 “Towards AEC with Science and Technology” Science Park, 2<sup>nd</sup> April 2013**



## หัวข้อการนำเสนอ

**วิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรค:** ตรวจหาผู้ติดเชื้อ ตรวจหาผู้ป่วย และ  
ตรวจหา marker ในการพยากรณ์โรค

**Culture-based technologies**

- TREK Sensititre MYCOTB MIC plate
- MDR-XDRTB Color Test

**Molecular-based technologies: LAMP, LPA**

**Non-molecular-based technologies: TBD, TB LAM Antigen, VOC**

## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



การตรวจวินิจฉัยมุ่งเน้นความรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และราคาไม่แพง

### 1. **Culture-based:** TB liquid culture and DST

TREK Sensititre MYCOTB MIC Plate (Trek Diagnostic Systems, Thermo Fisher Scientific, USA) ใช้ในการหา MIC

ของยารักษาวัณโรค ทั้งที่เป็นยาหลักและยารอง Dr.Susan

Dorman นำเสนอผลการศึกษาที่เกาหลีใต้และอุกันดาในปี 2012

กับเชื้อวัณโรครวม 228 สายพันธุ์ 69 MDR, 52 XDR พบว่า

MYCOTB Plate ให้ผลสอดคล้องกับ APM

ประมาณ 95% ยกเว้น ethionamide 5.0 ug/ml (94%), rifabutin (92.4%,

moxifloxacin 0.5 ug/ml (87.3%)





## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า

**Solid Culture MDR-XDRTB Color Test: Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) and the London School of Hygiene and Tropical Medicine (LSHTM)**

เป็นชุดตรวจกรองหาการดื้อยาของเชื้อวัณโรคต่อ **isoniazid**, **rifampicin**, และ **ciprofloxacin** โดยหยดตัวอย่างเสมหะที่ผ่านการ **process** เพื่อย้อมและเพาะเชื้อตามปรกติลงบนผิวของ **selective thin layer agar** และบ่มเชื้อในบรรยากาศปรกติตรวจดูสีที่เปลี่ยนจะใช้ตรวจกรองหา **MDRTB** และ **XDRTB** ได้ โดยขณะนี้ได้เริ่มทำการศึกษาหา **operational feasibility** ที่เมือง **Brasov, Romania** และที่ **Lima, Peru** โดยจะเปรียบเทียบกับ **MGIT** และ **LJ AST**



# MDR-XDRTB Color Test



A complete MDR-XDRTB colour test: sputum is collected into disinfectant transport medium that is applied directly to the culture plate as soon as it reaches the laboratory, without any processing.



An MDR-XDRTB colour test for drug-susceptible TB that only grew in the clear detection quadrant (red dots), not the coloured antibiotic-containing quadrants

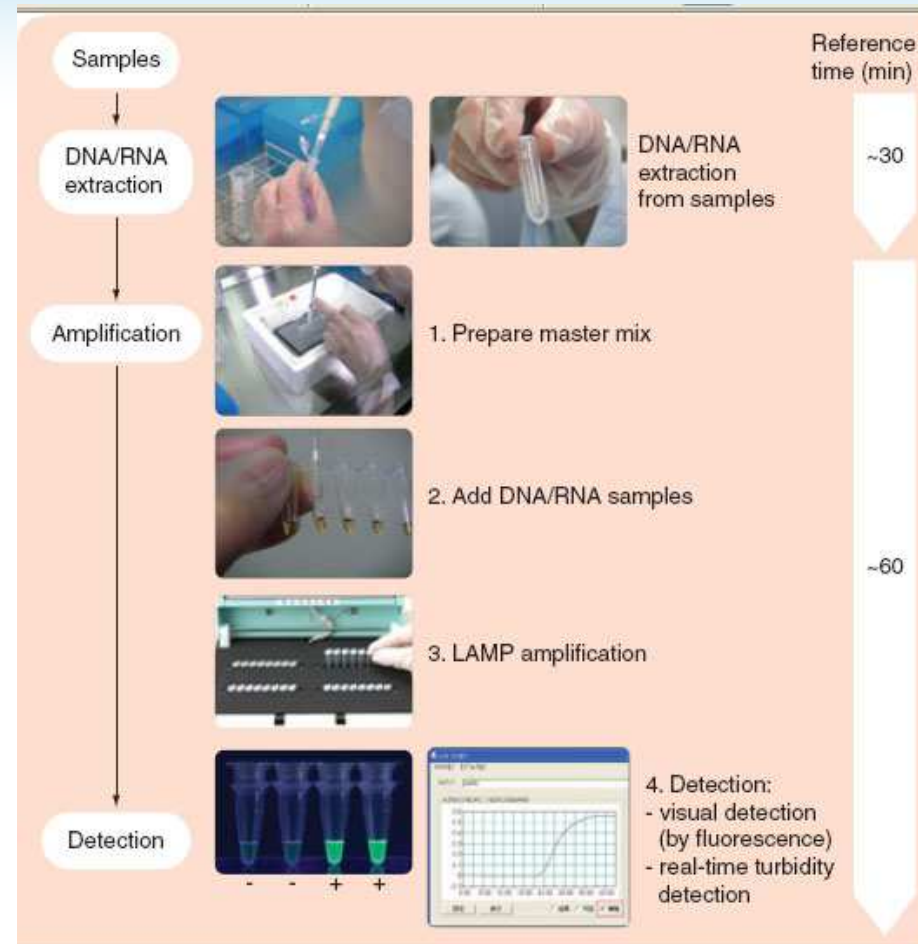


MDRTB grew in detection, isoniazid and rifampicin containing quadrants, but the quinolone (blue) prevented TB growth, ruling out XDRTB.

# การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



## 2. Molecular-based: Manual Isothermal NAAT for TB (LAMP)



**Figure 1. LAMP technology.** LAMP is characterized by its use of four different primers specifically designed to recognize six distinct regions on the target gene, and its process being performed at a constant temperature using a strand displacement reaction. Image courtesy of Eiken Genome Site, Eiken Chemical Co., Ltd (Tokyo, Japan) and reproduced with permission. LAMP: Loop-mediated isothermal amplification.

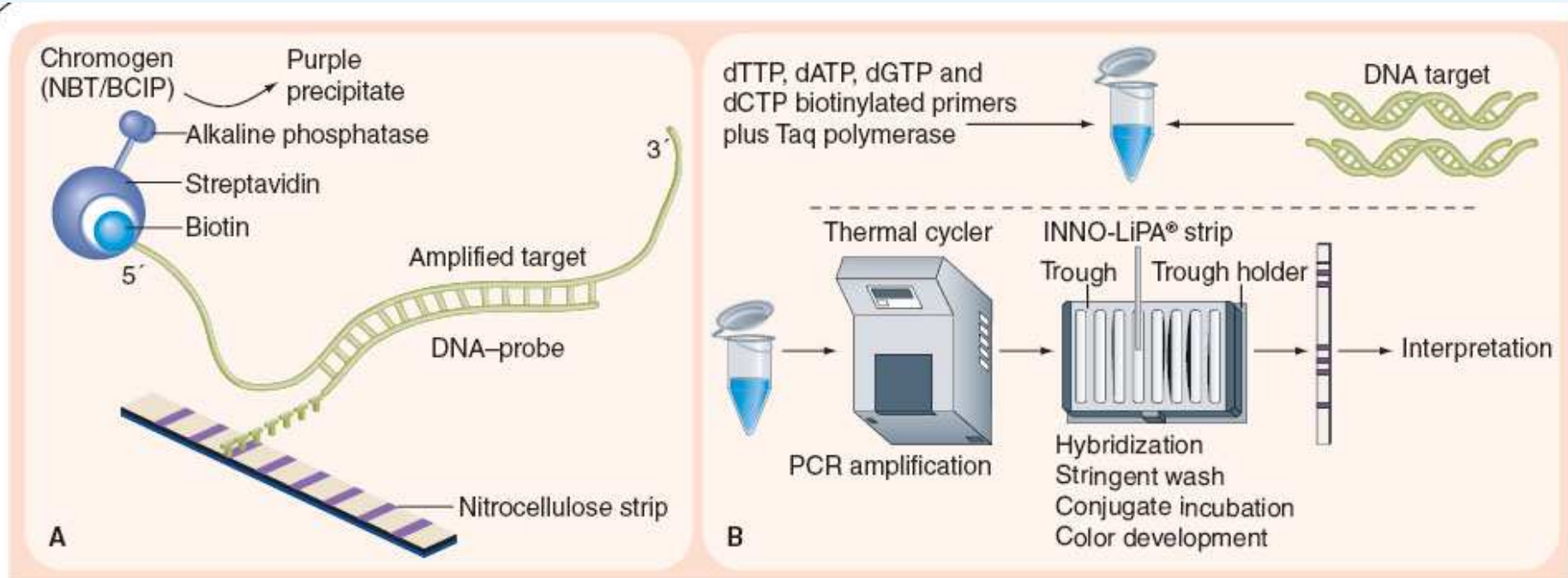
## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



### 2. **Molecular-based:** Manual Isothermal NAAT for TB (LAMP)

**FIND (Switzerland) and Eiken Chemical Co., Ltd. (Japan)** ได้พัฒนาวิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่อุณหภูมิเดียวโดยไม่ต้องอาศัย **Thermal cycler** และตรวจดูผลได้ด้วยตาเปล่า เพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคจากเสมหะ ผลสรุปในปี **2011** จากการศึกษาในอินเดีย อูกันดา และ เปรู พบว่าผลการศึกษาในอินเดียต่างจากในอีกสองประเทศ **FIND and Eiken** จึงตกลงที่จะดำเนินการศึกษาซ้ำในประเทศอัฟริกาใต้ เวียดนาม บราซิล และเปรู โดยได้เพิ่มเครื่องมือในการเก็บและขนส่งเสมหะเพื่อให้มั่นใจว่าจะได้ตัวอย่างเสมหะในปริมาณที่พอเพียง **WHO expert group** ได้ทบทวนผลการศึกษานี้เมื่อเดือนเมษายน **2012** แต่ก็ไม่ได้มีข้อเสนอแนะหรือข้อวิจารณ์ใดๆ ออกมาในเดือน มิถุนายน ปีเดียวกัน

# Line Probe Assay



**Figure 4. Line-probe assays for detection of drug resistance.** (A) Principle of reverse hybridization. (B) INNO-LiPA<sup>®</sup> assay. The INNO-LiPA test contains ten oligonucleotide probes (one specific for the *Mycobacterium tuberculosis* complex, five overlapping wild-type S probes, and four R probes for detecting specific mutations) that are immobilized on nitrocellulose strips. LiPA is performed by extracting DNA and amplifying the rifampicin resistance-determining region of the *rpoB* gene using PCR. The PCR products are then hybridized with the immobilized probes, and results are determined by colorimetric development. Image adapted from Innogenetics NV (Gent, Belgium) © 2006 Innogenetics Group.



# Identification of the *M. tuberculosis* complex and its resistance to Rifampicin and/or Isoniazid using the GenoType® MTBDRplus

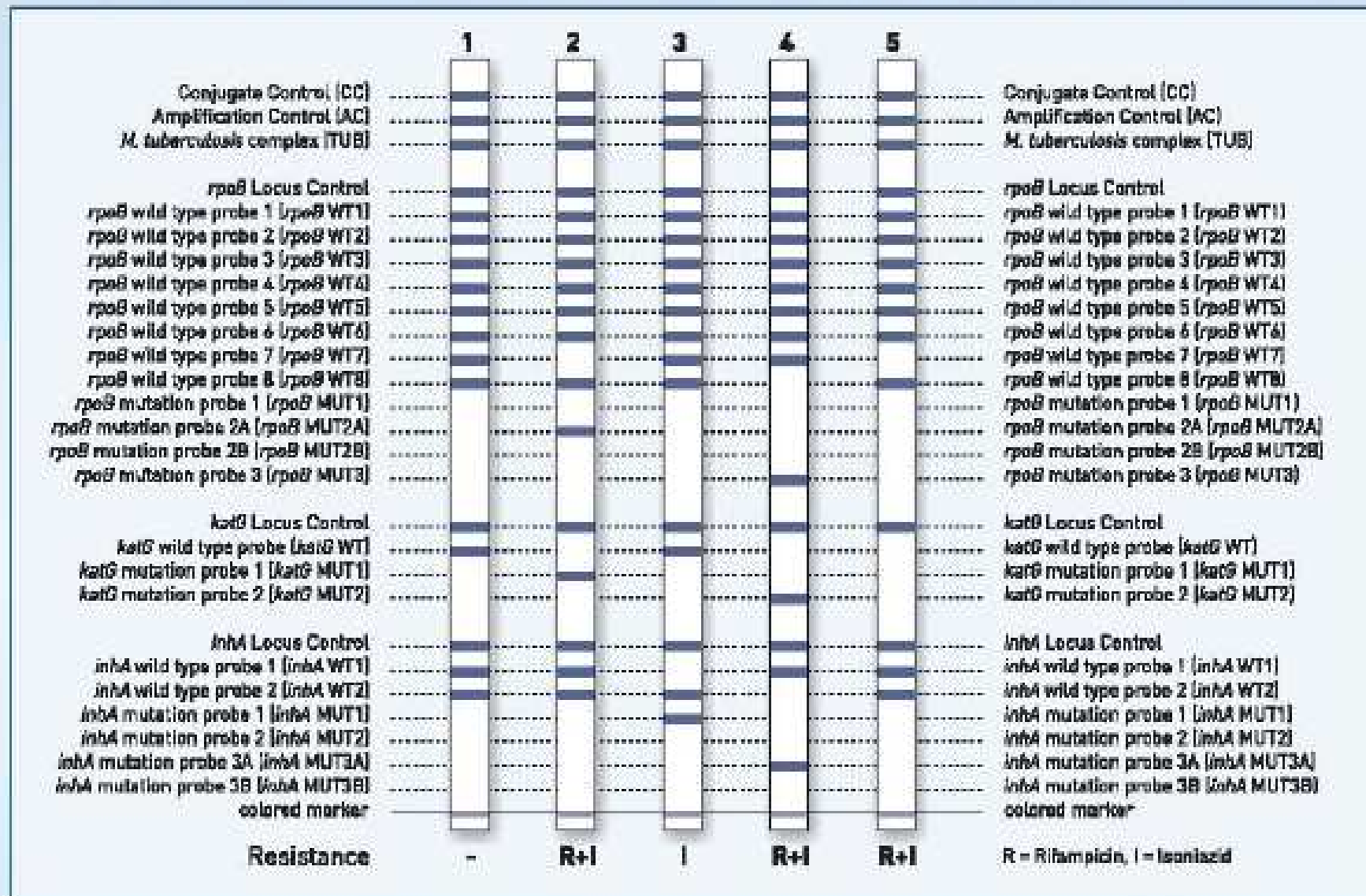


Fig. 1: Reaction zones of the GenoType® MTBDRplus

## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



### Line Probe Assay Technologies: GenoType MTBDRPlus

Hain, Germany เป็นชุดทดสอบว่าเชื้อวัณโรคมียีนที่ดื้อต่อยา isoniazid และ rifampicin หรือไม่ มีผลการศึกษาที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดีทั้งกับเชื้อบริสุทธิ์และเชื้อในตัวอย่างเสมหะ และใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจคัดกรองอย่างรวดเร็วเพื่อหา MDRTB Hain Company ได้ผลิตชุดทดสอบหา XDRTB ออกมาชื่อ GenoType MTBDRs/ เพื่อตรวจคัดกรองหาเชื้อวัณโรคดื้อยาในกลุ่ม fluoroquinolone, aminoglycoside/ cyclic peptides และ ethambutol

## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



การศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบนี้ใน ห้องปฏิบัติการ 4 แห่งในยุโรปตะวันออก เปรียบเทียบกับการเพาะเชื้อด้วยระบบ MGIT960 ได้ค่าความไวในการตรวจพบการติดต่อ quinolone, ethambutol, amikacin และ capreomycin อยู่ระหว่าง 77.3-92.3% โดยพบความไวในการตรวจพบการติดต่อ kanamycin เพียง 42.7% และความไวโดยรวมในการตรวจหา XDRTB อยู่ที่ 22.6% และความจำเพาะอยู่ที่ 82% ชุดทดสอบนี้จำเป็นต้องมีการพัฒนาต่อไป

## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



### 3. Non-Molecular Diagnostic Technologies: Biomarkers; pathogen-specific or host-based markers

**TBDx (Signature Mapping Medical Sciences, Inc., USA)** เป็นระบบอัตโนมัติในการอ่านผลการย้อมสไลด์ โดยสามารถ load slides และอ่านได้เอง มีระบบในการปรับความคมชัดและแปลงภาพเป็นสัญญาณดิจิทัลเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ นับจำนวน AFB และแปลผลการอ่านเป็น บวก หรือ ลบ ได้ ซึ่ง Dr.Gavin Churchyard ได้นำเสนอผลการศึกษาที่ทำใน Aurum Institute, S. Africa และ Guardian Technologies International ในการประชุม Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections (CROI) ในปี 2012



## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า



ผลสรุปคือ TBDx มีความไวสูงแต่ความจำเพาะต่ำเมื่อเทียบกับผลการเพาะเชื้อ โดยการใช้เครื่องอ่านได้ค่าความไว 75.8% ความจำเพาะ 43.5% และถ้าใช้คนอ่านได้ค่าความไว 52.8% ความจำเพาะ 98.6% Dr.Churchyard สรุปว่าเทคนิคนี้น่าจะได้รับการพัฒนาต่อเพื่อให้สามารถนำมาใช้ได้จริงในอนาคต



## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า

Alere Determine TB LAM Ag (Alere, USA) ใช้หลักการ Lateral Flow ในการตรวจหา lipoarabinomannan (LAM) protein ที่ถูกปล่อยออกมาในปัสสาวะของผู้ป่วยวัณโรค

โดยสรุปของนักวิจัย 3 กลุ่ม เห็นว่า LAM strip test สามารถตรวจพบผู้ป่วยวัณโรคได้ 2/3 ในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ที่มี CD4 น้อยกว่า 100 เซลล์ต่อไมโครลิตร และการทดสอบนี้น่าจะใช้ร่วมกับการตรวจวินิจฉัยทางคลินิกเพื่อช่วยการวินิจฉัยวัณโรคในผู้ป่วย setting ดังกล่าว และนี่จะเป็นตัวอย่างแรกของ **point of care test for TB**



## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในปัจจุบันและใน 1-2 ปีข้างหน้า

**Volatile Organic Compound (VOC) Analysis** เป็นการตรวจหาสารไอระเหยที่ผลิตจากเชื้อวัณโรคในลมหายใจของผู้ป่วย โดยใช้เครื่อง **Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)**

การศึกษาของ **Kolk et al** และ **Phillips et al** ในฟิลิปปินส์ อังกฤษ และอินเดีย ได้ผลสอดคล้องกัน คือพบว่าการตรวจหา VOC ในลมหายใจของผู้ป่วยวัณโรค และไม่ได้ป่วย ได้ผลถูกต้อง **79%** และสามารถตรวจพบ VOC แม้ในผู้ป่วยที่เสมหะตรวจไม่พบเชื้อโดยการย้อม แต่เพาะได้เชื้อวัณโรค แต่อย่างไรก็ตามควรมีการวิจัยและพัฒนาต่อไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจ VOC



## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคใน 2-3 ปีข้างหน้า

- ❖ **TrueNAT MTB test (Bigtec labs and Molbio Diagnostics; India)** ผลิตภัณฑ์ตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อวัณโรคในเสมหะได้ภายใน 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องมือกึ่งอัตโนมัติแบบพกพา ทำงานโดยใช้แบตเตอรี่ ขณะนี้ทางบริษัทอยู่ระหว่างการประเมินผลการใช้งานจริงทางคลินิกที่ประเทศอินเดียและแอฟริกาใต้



## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคใน 2-3 ปีข้างหน้า



- ❖ **Genedrive: A point-of-need genotyping and sequencing analysis** ผลิตโดย **Epistem (United Kingdom)**

**Genedrive** มีลักษณะเป็นเครื่องมือถือหรือแบบพกพาที่ออกแบบมาเพื่อการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมและโปรตีนจากตัวอย่างส่งตรวจที่เก็บใหม่หรือที่เก็บรักษาเพื่อการศึกษาวิจัย ขณะนี้ **Genedrive** ที่ใช้กับการตรวจวินิจฉัยวัณโรคกำลังทำการศึกษาในประเทศสเปน อินเดีย และ ออฟริกาใต้ **Epistem** พยายามที่จะให้ได้รับการรับรองจาก **European Union Accreditation for medical device**

## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคใน 2-3 ปีข้างหน้า



- ❖ **B-SMART (Sequella, Inc., USA)** เป็นเครื่องมือที่ใช้ตรวจหาเชื้อวัณโรคพร้อมทั้งรายงานผลความไวต่อยารักษาวัณโรคชุดแรกทั้ง 4 ชนิดแบบรวดเร็วได้แก่ **isoniazid, rifampicin, streptomycin and ethambutol** จากตัวอย่างเสมหะโดยตรงทาง **Sequella** สามารถผลิตเครื่อง **B-SMART prototype** ที่สามารถตรวจพบ **TB cells** ได้น้อยกว่า **1,000** เซลล์และกำลังมุ่งพัฒนาต่อให้สามารถตรวจพบได้ที่น้อยกว่า **50** เซลล์

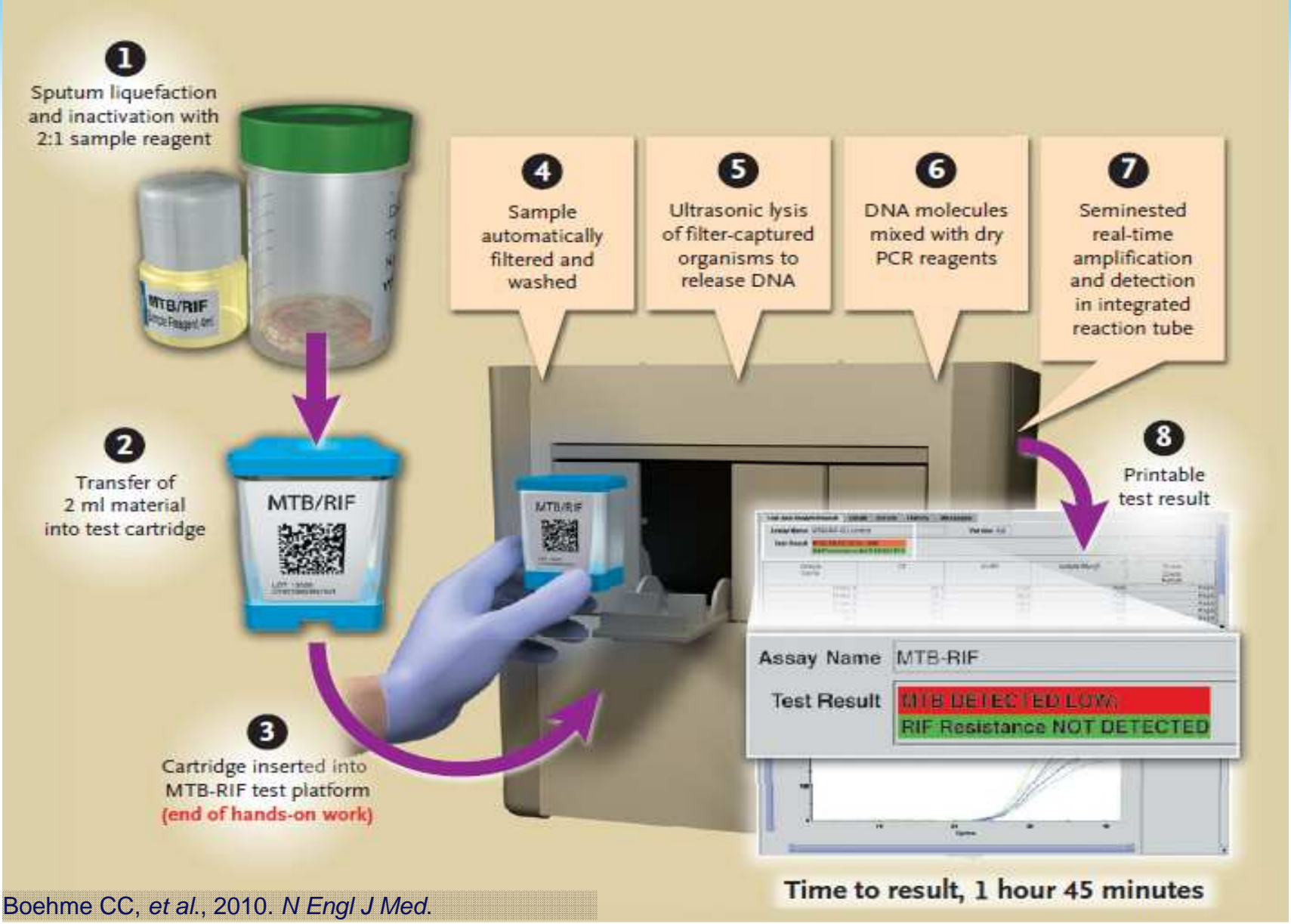


## การตรวจวินิจฉัยวัณโรคใน 2-3 ปีข้างหน้า

- ❖ FIND (Switzerland) and MBio Diagnostics, Inc. (USA) ตัดสินใจที่จะเลือกพัฒนาชุดตรวจหา antigens ของเชื้อวัณโรค เพื่อการตรวจหาผู้ป่วยวัณโรค โดยมุ่งเน้นพัฒนาเป็น POC assay format และวางแผนว่าจะประเมินผลการศึกษาชุดทดสอบใหม่นี้ในประเทศกำลังพัฒนาอีก 2 ประเทศ ในปี 2012



# GeneXpert MTB/RIF



Boehme CC, et al., 2010. *N Engl J Med.*



## ผลการศึกษาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วย GeneXpert



- ❖ การศึกษาแบบไปข้างหน้าใน Cape Town, S.Africa เพื่อวินิจฉัยวัณโรคในเด็กอายุน้อยกว่า 15 ปี พบว่าการใช้ GeneXpert ให้ผลการตรวจที่แม่นยำกว่าการย้อมและตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเปรียบเทียบกับผลการเพาะเชื้อคือตรวจได้ผลบวกสูง 76% ในขณะที่การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบผลบวกเพียง 38% แต่เนื่องจากผู้ป่วยที่เพาะเชื้อขึ้นอีกประมาณ 24% ให้ผลลบด้วย GeneXpert คณะผู้วิจัยจึงสรุปว่า วิธีนี้ดีกว่าวิธีตรวจหาเชื้อด้วยกล้องแต่ยังไม่สามารถทดแทนวิธีการเพาะแยกเชื้อได้



## ผลการศึกษาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วย GeneXpert

- ❖ การศึกษาใน Tanzania กับผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้อ HIV ที่สงสัยเป็นวัณโรคด้วย ก็ได้ผลทำนองเดียวกัน คือ GeneXpert สามารถตรวจพบผลบวก ทั้งในผู้ป่วยที่ย้อมพบ และไม่พบเชื้อ แต่เพาะแยกเชื้อได้ ทีมผู้วิจัยเสนอว่าควรมีการศึกษาเพิ่มขึ้นในเด็กกลุ่มต่างๆ เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีนี้สามารถใช้ช่วยการวินิจฉัยวัณโรคในเด็กได้จริง

## ผลการศึกษาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วย GeneXpert



- ❖ จากรายงานของ WHO และ FIND ในเดือนมีนาคม 2012 มีการสั่งซื้อเครื่องแล้วทั้งหมด 611 เครื่อง (2,979 modules) และสั่งซื้อ cartridges ไปใช้งานแล้วทั้งหมด 863,790 ชุด
- ❖ Chang *et al* รายงานการศึกษาจาก 18 study sites รวม 10,224 ตัวอย่าง สรุปว่า โดยภาพรวม GeneXpert สามารถใช้ตรวจวินิจฉัยวัณโรคปอด ด้วยความไวประมาณ 90.4% และความจำเพาะ 98.4% และการดื้อยา rifampicin มีความไวที่ 94.1% และความจำเพาะที่ 97% ส่วน extrapulmonary TB ได้ความไว 80% ความจำเพาะ 86%

## ผลการศึกษาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วย GeneXpert



- ❖ **South Africa experience** รายงานในเดือนมีนาคม 2012 โดย **National Health Laboratory Service** ซึ่งมีการตั้งเครื่องที่หน่วยตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ 25 แห่ง จำนวน 30 เครื่อง และทำการทดสอบกับตัวอย่างไปแล้วทั้งหมด 311,117 ตัวอย่าง ตรวจพบผลบวกประมาณ 16.7% (52,068) ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อคือต่อ rifampicin 7% นอกจากนี้ยังมี การวางแผนที่จะศึกษา impact และ cost-effectiveness จากการนำเครื่องมือนี้มาใช้ในงานบริการด้วย

## ผลการศึกษาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วย GeneXpert



- ❖ **Patient outcome** จะรวมทั้งผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นวัณโรค และผู้ป่วยวัณโรค โดยดูอัตราการตายของผู้ป่วยที่สงสัยเป็นวัณโรคภายใน 6 เดือนแรก และประเมินว่าการนำ **GeneXpert** มาใช้ เปลี่ยนพฤติกรรมของผู้ให้บริการ โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นวัณโรคหรือไม่อย่างไร และประเมินค่าใช้จ่ายในส่วนของผู้ป่วย
- ❖ **Comprehensive economic cost** รวมทั้งค่าใช้จ่ายของ **health system** ก็จะมีการศึกษาควบคู่ไปด้วย เช่นการศึกษาของ **Andrew et al** ได้ใช้ **modeling system** ลองประเมินผลของ **GeneXpert** ในกลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับ **ART** พบว่าสามารถเพิ่ม **life expectancy** ของผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ **1.6-6.6 m**





## สิ่งที่ฝากถึงผู้เข้าร่วมประชุมและข้อเสนอแนะ

- ❖ แพทย์ มีวิธีทางห้องปฏิบัติการให้เลือกใช้เพื่อช่วยการวินิจฉัยวัณโรค จำนวนมากขึ้นในอนาคต ให้พิจารณาเลือกวิธีที่ให้ผลถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็ว ราคาไม่แพง
- ❖ นักวิจัยยังสามารถทำงานวิจัยเพื่อพัฒนา วิธีตรวจวินิจฉัยวัณโรคใหม่ๆ เพื่อให้สามารถช่วยผู้ป่วยวัณโรค ให้ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องและรวดเร็ว และตัดวงจรการแพร่เชื้อ โดยเฉพาะ **Point of care test** ยังเป็นที่ต้องการในตลาดโลก และตลาด **Asia**
- ❖ ผู้บริหาร ควรมีนโยบายสนับสนุนการวิจัย และการควบคุมวัณโรค ในภาพรวม ควรเอื้อให้มีความร่วมมือระหว่างหน่วยงานภาครัฐ และระหว่างภาครัฐกับภาคเอกชน ทั้งภายในประเทศและกับประเทศเพื่อนบ้าน



## สิ่งที่ฝากถึงผู้เข้าร่วมประชุมและข้อเสนอแนะ

- ❖ ในระดับชาติและ **Asean Economic Community** เมื่อคำนึงถึงการตรวจวินิจฉัยโรค ควรจัดตั้งคณะกรรมการทางด้านเทคนิค เพื่อช่วยกันศึกษาและประเมินวิธีต่างๆ ที่จะนำมาใช้ในประเทศ หรือภูมิภาค เพื่อให้ได้วิธีที่ดี และนำเสนอต่อคณะกรรมการเชิงนโยบาย หรือผู้มีอำนาจต่อรองกับบริษัทผู้ผลิต หรือโดยประสานกับองค์การอนามัยโลกเพื่อให้สามารถซื้อผลิตภัณฑ์ ที่คุณภาพดีในราคาที่ถูกลง หรือเหมาะสม
- ❖ ให้ความรู้เรื่องโรคแก่ประชาชน นักข่าว นักการเมือง นักวิชาการ อาสาสมัคร เพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้อง เพื่อสร้างทีมงาน ช่วยกันรณรงค์ให้ปัญหาโรคได้รับการแก้ไข และลดปัญหาภาระโรคให้ได้โดยเร็ว ตามแผน **MDG** ต่อไป

ขอบคุณและสวัสดิ์ค่ะ



# Thank you

