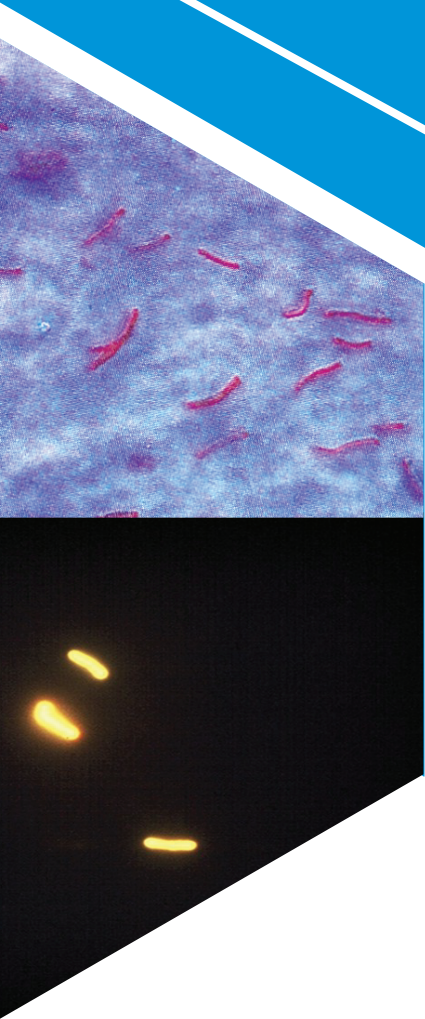
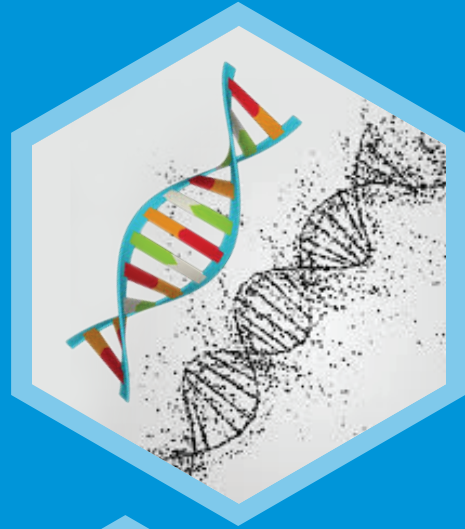




กรมควบคุมโรค
DEPARTMENT OF DISEASE CONTROL



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences



แนวทางบริหารจัดการ

และการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค

Management and practice guideline
for tuberculosis laboratory



กรมควบคุมโรค
DEPARTMENT OF DISEASE CONTROL



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติ ทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค

Management and practice guideline
for tuberculosis laboratory

พิมพ์ครั้งที่ 1

จำนวน

จัดทำโดย

หน่วยงานจัดพิมพ์

พิมพ์ที่

ISBN:

กันยายน 2562

1,000 เล่ม

กองวินโรค กรมควบคุมโรค

116 ถนนสุดประเสริฐ (ฝั่งขวา)

แขวงบางโคล่ เขตบางคอแหลม กทม. 10120

โทร : 02-212-2279 แฟกซ์ : 02-212-1408

กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์

978-616-11-4113-4

แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค (Management and practice guideline for tuberculosis laboratory)

คณะบรรณาธิการ

แพทย์หญิงมยุรา กุสุมภ์	
แพทย์หญิงศรีประพา เนตรนิยม	กรมควบคุมโรค
ดร.แพทย์หญิงเพชรวรรณ พึ่งรัมย์	กรมควบคุมโรค
แพทย์หญิงผลิน กมลวัฒน์	กรมควบคุมโรค
รองศาสตราจารย์ ดร.อังคณา ฉายประเสริฐ	มหาวิทยาลัยมหิดล
ดร.นายแพทย์สุรศักดิ์ มหาศิริมงคล	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
นางสาวสายใจ สมธิธิการ	กรมควบคุมโรค
ดร.นวลจันทร์ วิจักขณ์จินดา	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
เภสัชกรหญิง ดร.อารียา ดิษฐ์รุกิจ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
รองศาสตราจารย์ ดร.เกียรติไชย พักศรี	มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หลักการ

แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคนี้ไม่ใช่ข้อบังคับของการปฏิบัติ ผู้ใช้สามารถปฏิบัติแตกต่างไปจากคำแนะนำที่ระบุในเอกสารฉบับนี้ได้ ในกรณีที่สถานการณ์แตกต่างออกไป หรือมีข้อจำกัดทางทรัพยากร สถานที่ และบุคลากร โดยการปฏิบัติให้อยู่บนพื้นฐานหลักวิชาการ และมาตรฐานด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ

กลุ่มเป้าหมาย

แพทย์ บุคลากรห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค และ ผู้ประสานงานวัณโรคระดับเขตและจังหวัด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อใช้เป็นแนวทางการบริหารจัดการ และควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคตามมาตรฐานสากล โดยพิจารณาปรับให้เหมาะสมกับบริบทของประเทศไทย
2. เพื่อให้เข้าใจหลักการตรวจทางห้องปฏิบัติการ และการแปลผลการตรวจทางจุลชีววิทยา และเทคนิคทางโมเลกุล
3. เพื่อการสื่อสารองค์ความรู้ และนวัตกรรมทางด้านห้องปฏิบัติการ เพื่อป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมวัณโรค



สารจากอธิบดีกรมควบคุมโรค

ประเทศไทยติดอันดับในกลุ่ม 14 ประเทศที่มีปัญหาวัณโรคสูง ทั้งวัณโรค (TB) วัณโรคที่มีมีการติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย (TB/HIV) และวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) ในปี พ.ศ. 2559 องค์การอนามัยโลกได้กำหนดยุทธศาสตร์ยุติวัณโรค มีเป้าหมายลดอุบัติการณ์วัณโรคให้ต่ำกว่า 10 ต่อแสนประชากรโลกภายในปี พ.ศ. 2578 โดยประเทศไทยได้กำหนดแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560-2564 มีเป้าประสงค์เพื่อ ลดอุบัติการณ์วัณโรคให้เหลือ 88 ต่อประชากรแสนคน เมื่อสิ้นปี 2564 โดยมุ่งเน้น “ค้นให้พบ จบด้วยหาย พัฒนาระบบและเครือข่าย นโยบายมุ่งมั่น สร้างสรรค์นวัตกรรม”

การตรวจวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการ เป็นกระบวนการสำคัญในการขับเคลื่อนแผนงานวัณโรคให้ได้ตามเป้าหมายที่กำหนด ดังนั้นกรมควบคุมโรค ร่วมกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้จัดทำแนวทาง “แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค” เพื่อเป็นเครื่องมือหนึ่งในการสนับสนุนการขับเคลื่อนแผนงานวัณโรค โดยแนวทางฉบับนี้ได้รวบรวมเนื้อหาความรู้ทั่วไป แนวทางปฏิบัติ การจัดการข้อมูลสารสนเทศ รวมถึงนวัตกรรมด้านห้องปฏิบัติการ เพื่อป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมวัณโรค ซึ่งมีเนื้อหาสอดคล้องกับความก้าวหน้าทางวิชาการ และเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยสอดคล้องกับแนวทางขององค์การอนามัยโลก และบริบทของประเทศไทยที่เปลี่ยนแปลงไป

กรมควบคุมโรค หวังเป็นอย่างยิ่งว่า แนวทางฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคในการพัฒนาประสิทธิภาพการดำเนินงานวัณโรค อันเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมวัณโรคของประเทศไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป



(นายแพทย์สุวรรณชัย วัฒนายิ่งเจริญชัย)

อธิบดีกรมควบคุมโรค



สารจากอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วัณโรคเป็นอันดับหนึ่งของสาเหตุการตายจากโรคติดเชื้อในประเทศไทย ปัญหาของวัณโรครุนแรงขึ้นจากวัณโรคดื้อยา เนื่องจากการรักษาวัณโรคดื้อยาจำเป็นต้องใช้ยาต้านวัณโรคราคาแพง และระยะเวลาในการรักษานานขึ้น เพิ่มค่าใช้จ่ายต่อระบบสาธารณสุข และส่งผลกระทบต่อภาวะเศรษฐกิจและสังคมของประชาชน อย่างไรก็ตามวัณโรคเป็นโรคที่รักษาหายได้ ดังคำกล่าวที่ว่า “ค้นให้พบ จบด้วยหาย พัฒนา ระบบและเครือข่าย นโยบายมุ่งมั่น สร้างสรรค์นวัตกรรม”

การตรวจวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการ เป็นกระบวนการที่สำคัญในการสนับสนุนและยืนยันการวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคดื้อยา เป็นกลไกที่สำคัญและจำเป็น ในการดำเนินการให้สำเร็จตามเป้าหมายของแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560 – 2564 สอดคล้องกับพันธกิจของกระทรวงสาธารณสุข

“แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค” ฉบับนี้ นอกจากจะเป็นแนวทางสำหรับห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรค ยังได้รวบรวมผลสำเร็จของงานวิจัยและนวัตกรรมที่พัฒนาขึ้นภายใต้ความร่วมมือระหว่างกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กับมหาวิทยาลัยโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น และมหาวิทยาลัยมหิดล โครงการความร่วมมือไทย-ญี่ปุ่น เพื่อบูรณาการข้อมูลพันธุกรรมมนุษย์และเชื้อก่อโรค เพื่อช่วยให้การวินิจฉัยวัณโรคมีความแม่นยำและรวดเร็วขึ้น

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หวังเป็นอย่างยิ่งว่า เอกสารแนวทางฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคในการเพิ่มประสิทธิภาพการดำเนินงานวัณโรค รวมทั้งการพัฒนางานให้สอดคล้องกับสถานการณ์ของพื้นที่ สมเจตนาารมณของคณะผู้จัดทำทุกประการ



(นายแพทย์โอภาส การย์กวินพงศ์)

อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์



คำนำ

แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค ได้ดำเนินการจัดทำภายใต้ความร่วมมือของผู้เชี่ยวชาญ ผู้ทรงคุณวุฒิ และนักวิชาการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นแนวทางการบริหารจัดการ และควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคสอดคล้องกับมาตรฐานสากลและบริบทของประเทศไทย เพื่อให้แพทย์ บุคลากรห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค และผู้ประสานงานวัณโรคระดับเขตและจังหวัด เข้าใจหลักการและเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการแปลผลการตรวจ และเพื่อการสื่อสารองค์ความรู้ และนวัตกรรมทางห้องปฏิบัติการด้านการป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมวัณโรค

เอกสารแนวทางฉบับนี้ มิได้จำกัดเฉพาะแต่ห้องปฏิบัติการของกระทรวงสาธารณสุขเท่านั้น แต่มุ่งหวังให้ประยุกต์ใช้ได้กับห้องปฏิบัติการทุกภาคส่วน คณะผู้จัดทำขอรับรองความคิดเห็นจากทุกฝ่าย เพื่อนำมาปรับปรุงแนวทางการบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค ให้เกิดประโยชน์ต่อการควบคุมวัณโรคของประเทศไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

คณะผู้จัดทำ
สิงหาคม 2562

สารบัญ

สารจากอธิบดีกรมควบคุมโรค	E
สารจากอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	G
คำนำ	I
นิยามคำย่อ	P
บทที่ 1 ความรู้ทั่วไปทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค	1
1.1 การตรวจทางห้องปฏิบัติการกับงานควบคุมวัณโรค	1
1.2 เครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคของประเทศไทย	3
1.3 เป้าหมายและตัวชี้วัดสำหรับห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค	9
บทที่ 2 แนวทางปฏิบัติด้านเทคนิคห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค	13
2.1 สิ่งส่งตรวจ และการจัดการสิ่งส่งตรวจ	13
2.2 การนำส่ง และการลงทะเบียนสิ่งส่งตรวจ	16
2.3 เทคนิคการชันสูตรและวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการ	18
2.3.1 การตรวจหาและเพาะเชื้อวัณโรค	18
2.3.2 การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรค	18
2.3.3 การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล	22
2.4 แนวทางการส่งตรวจวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคดื้อยาทางห้องปฏิบัติการ	28
2.4.1 แนวทางการตรวจวินิจฉัยวัณโรค	28
2.4.2 แนวทางการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา	29
2.4.3 แนวทางการตรวจทดสอบความไวต่อยาด้านวัณโรคแนวที่ 2	31
2.5 การตรวจการติดเชื้อวัณโรคโดยตรวจวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝง	32

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3	คุณภาพห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค	35
3.1	ระบบประกันคุณภาพ	35
3.1.1	องค์ประกอบหลักของระบบประกันคุณภาพ	35
3.1.2	กิจกรรมคุณภาพ	37
3.2	การพัฒนาบุคลากร	43
3.3	ความปลอดภัยทางชีวภาพ	44
3.4	อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการชันสูตรวัณโรค	46
บทที่ 4	นวัตกรรมด้านห้องปฏิบัติการ เพื่อป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมวัณโรค	49
4.1	นวัตกรรมสำหรับการวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคระยะแฝง	50
4.1.1	การตรวจระดับการแสดงออกของยีนในเลือดเพื่อสนับสนุนการวินิจฉัยวัณโรค	50
4.1.2	การวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง	50
4.2	นวัตกรรมสำหรับการรักษาวัณโรค	51
4.2.1	สายพันธุ์วัณโรคในประเทศไทยและผลต่อการรักษาวัณโรค	51
4.2.2	การถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อวัณโรคทั้งจีโนม	51
4.2.3	เภสัชจลนศาสตร์ของยาต้านวัณโรค	53
4.2.4	เภสัชพันธุศาสตร์เพื่อปรับขนาดยา Isoniazid และป้องกันภาวะตับอักเสบจากยาต้านวัณโรค	53
4.3	นวัตกรรมสำหรับการสอบสวนวัณโรคระบาด	54
4.3.1	การถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรคและการสอบสวนผู้สัมผัส	54
4.4	แนวทางการนำนวัตกรรมเข้าสู่แผนปฏิบัติการด้านการต่อต้านวัณโรค	54
ภาคผนวก		
1.	รายชื่อห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค และวิธีการตรวจ	58
2.	การลงทะเบียนส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการผ่านระบบออนไลน์ National Tuberculosis Information Program (NTIP)	68
3.	รายชื่อหน่วยงานที่มีนวัตกรรมด้านห้องปฏิบัติการ เพื่อป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมวัณโรค	74

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 2.1	การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรค	28
แผนภูมิที่ 2.2	การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาในผู้ป่วยวัณโรคที่มีความเสี่ยงสูง	29
แผนภูมิที่ 2.3	การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบความไวต่อยาแนวที่ 2	31

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1.1	หน้าที่และความรับผิดชอบของเครือข่ายห้องปฏิบัติการต้านวัณโรคสังกัดกระทรวงสาธารณสุข	6
ตารางที่ 1.2	หน้าที่และความรับผิดชอบของหน่วยงานทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการและวิจยวัณโรค	7
ตารางที่ 1.3	ตัวชี้วัดสำหรับสร้างความเข้มแข็งทางด้านห้องปฏิบัติการวัณโรค	9
ตารางที่ 2.1	ชนิดของสิ่งส่งตรวจและการเก็บตัวอย่าง	13
ตารางที่ 2.2	วิธีการตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli (AFB) การเพาะเชื้อวัณโรค การแปลผล และระยะเวลาการรายงานผล	19
ตารางที่ 2.3	วิธีการทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรคด้วยวิธี Phenotypic การแปลผล และระยะเวลาการรายงานผล	20
ตารางที่ 2.4	Critical concentration (CC) for first-line medicines recommended for the treatment of drug-susceptible TB.	21
ตารางที่ 2.5	Critical concentration (CC) and clinical breakpoint (CB) for medicines recommended for the treatment of RR-TB and MDR-TB. (Interim CC are in bold)	21
ตารางที่ 2.6	ความไวและความจำเพาะของการวินิจฉัยด้วยวิธีการต่าง ๆ	23
ตารางที่ 2.7	การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล การแปลผล และระยะเวลาการรายงานผล	27

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ 3.1	ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านทั่วไป และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงาน	38
ตารางที่ 3.2	ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์	38
ตารางที่ 3.3	ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อ	39
ตารางที่ 3.4	ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานทดสอบความไวต่อยา	40
ตารางที่ 3.5	ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานตรวจ FL-LPA และ SL-LPA	41
ตารางที่ 3.6	ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานตรวจ Xpert MTB/RIF	41
ตารางที่ 3.7	ระดับความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับกิจกรรมหรือขั้นตอนการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการวินโรค	37
ตารางที่ 3.8	อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการชันสูตรวินโรค	45

นิยามคำย่อ

รพช.	โรงพยาบาลชุมชน	รพท.	โรงพยาบาลทั่วไป
รพศ.	โรงพยาบาลศูนย์	รพ.สต.	โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล
สคร.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรค		
ADA	Adenosine Deaminase Activity	AFB	acid- fast bacilli
ALF	acute liver failure	ALT	alanine aminotransferase
Am	amikacin	BSC	biological safety cabinet
CC	critical concentration	CB	clinical breakpoint
Cfz	clofazimine	Cln	cilastatin
Clv	clavulanate	Cm	capreomycin
Cs	cycloserine	CXR	chest X-ray
DILI	drug-induced liver injury	DNA	deoxyribonucleic acid
DST	drug susceptibility testing	E, EMB	ethambutol
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	EQA	external quality assessment
Eto	ethionamide	FLD	first line drug
FL-DST	first-line drug susceptibility testing	FQs	fluoroquinolones
H, INH	isoniazid	HEPA	high-efficiency particulate air filter
IFN- γ	interferon gamma	IGRA	interferon-gamma release assay
Indel	Insertion / Deletion	lpm	imipenem
IPT	isoniazid preventive treatment	K, Km	kanamycin
LAMP	loop-mediated isothermal amplification	LED	light-emitting diode
Lfx	levofloxacin	LJ	Löewenstein–Jensen
LPA	line probe assay	LTBI	latent tuberculosis infection

Lzd	linezolid	SDGs	sustainable development goals
MDR-TB	multidrug resistant tuberculosis	Mfx	moxifloxacin
MGIT	Mycobacteria Growth Indicator Tube	Mtb	Mycobacterium tuberculosis
NAT2	N-Acetyltransferase 2	NTM	non-tuberculous mycobacterium
NTP	National Tuberculosis Control Programme	NTIP	National Tuberculosis Information Program
O, Ofx	ofloxacin	P, PAS	para-aminosalicylic acid
PPD	purified protein derivative	Pto	prothionamide
PT	proficiency test	R, RIF	rifampicin
RR-TB	rifampicin resistant tuberculosis	S, Sm	streptomycin
SEARO	South-East Asia Regional office	SLD	second line drug
SLIDs	second line injectable drugs	SL-DST	second-line drug susceptibility testing
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	TAT	turnaround time
TST	tuberculin skin test	UVGI	ultraviolet germicidal irradiation
WHO	World Health Organization	XDR-TB	extensively drug resistant tuberculosis
Z, PZA	pyrazinamide	ZN	Ziehl-Neelsen

บทที่ 1

ความรู้ทั่วไปทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค

1.1 การตรวจทางห้องปฏิบัติการกับงานควบคุมวัณโรค

แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ.2561 ระบุแนวทางการวินิจฉัยวัณโรคควรเริ่มต้นด้วยขั้นตอนการตรวจคัดกรองทางคลินิกที่เหมาะสมเพื่อระบุผู้ที่น่าจะเป็นวัณโรค (presumptive TB cases) ร่วมกับการใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการ ในการยืนยันผลการวินิจฉัย โดยการวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการ คือ การตรวจหาตัวเชื้อหรือส่วนประกอบของเชื้อวัณโรค ทั้งนี้ขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องผ่านการรับรองมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ เช่น ISO 15189 หรือ Laboratory Accredited (LA) เป็นต้น เพื่อให้ผลการตรวจนั้นถูกต้องแม่นยำ ทำให้ผู้รักษาเกิดความมั่นใจกับการรายงานผลการตรวจ^[1]

การตรวจหาเชื้อวัณโรคหรือส่วนประกอบของเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ ไม่ว่าจะเป็นสารคัดหลั่งจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น เสมหะ น้ำจากกระเพาะ หนอง น้ำไขสันหลัง หรือตัวอย่างที่ได้มาจากอวัยวะที่สงสัยว่าจะมีเชื้อวัณโรค เช่น ชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลือง หรือตรวจการตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ เช่น เลือด น้ำเหลือง การตรวจทางห้องปฏิบัติการนอกจากจะช่วยยืนยันในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคแล้ว ยังใช้ในการติดตามการรักษา การตรวจความมีชีวิตของเชื้อ และตรวจสอบรูปแบบการดื้อยาของเชื้อวัณโรค

ในประเทศที่มีข้อจำกัดด้านทรัพยากร การตรวจหาเชื้อวัณโรคขั้นพื้นฐานใช้การตรวจเสมหะด้วยกล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากวิธีการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ราคาไม่สูง ต้องการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับต่ำ แต่มีความไวไม่พอสำหรับการตรวจหาเชื้อในกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อเอชไอวี / โรคเอดส์ และเด็ก นอกจากนี้ การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ไม่สามารถจำแนก เชื้อวัณโรค และ เชื้อมัยโคแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรควัณโรค รวมถึงไม่ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการดื้อยา และการมีชีวิต การตรวจทางจุลชีววิทยาโดยการเพาะเชื้อจึงเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อวัณโรค แต่การเพาะเชื้อจะทราบผลหลายสัปดาห์หลังการเพาะเชื้อ ต้องการเครื่องมือที่พร้อม บุคลากรที่ได้รับการฝึกฝนเป็นอย่างดี และการขนส่งตัวอย่างที่รักษาความมีชีวิตของเชื้อวัณโรค วิธีตรวจทางจุลชีววิทยาสำหรับทดสอบความไวต่อยาแนวที่ 1 และ 2 (Phenotypic drug-susceptibility testing, DST) ของเชื้อที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ และ ระบบการเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชนิดเหลวที่ลดระยะเวลาการทดสอบความไวต่อยา เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง เป็นวิธีมาตรฐานที่ต้องการงบประมาณและโครงสร้างพื้นฐานมารองรับโดยเฉพาะในประเทศที่มีอุบัติการณ์วัณโรคสูง

ในปัจจุบัน วิธีการตรวจทางโมเลกุลที่รวดเร็วและมีความไวในการตรวจหาเชื้อวัณโรค เช่น Xpert® MTB/RIF TB-LAMP และ line probe assays ถูกนำมาใช้เพื่อทดแทนหรือเสริมกับวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา นอกจากนี้ยังมีการทดสอบ point-of-care โดยการตรวจปัสสาวะด้วย lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) ที่ช่วยการตรวจวินิจฉัยวัณโรคในกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อเอชไอวี / โรคเอดส์ที่มีอาการรุนแรง ถึงแม้ว่าวิธีทางโมเลกุลจะมีข้อดีในการตรวจหาเชื้อวัณโรค แต่ไม่แนะนำให้ใช้ในการติดตามผลการรักษา การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ และการเพาะแยกเชื้อยังใช้สำหรับการติดตามการตอบสนองต่อการรักษาวัณโรคในกลุ่มประเทศที่มีอุบัติการณ์วัณโรคสูงเป็นส่วนใหญ่

ยุทธศาสตร์ยุติวัณโรคขององค์การอนามัยโลก (End TB Strategy 2015-2035) ระบุให้การวินิจฉัยแรกเริ่มของวัณโรค (Early diagnosis) และครอบคลุมการทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรค (Universal DST) เป็นตัวบ่งชี้สำคัญของการยุติวัณโรค โดยทุกคนที่มีความเสี่ยงและอาการบ่งบอกวัณโรคควรได้รับการวินิจฉัยเริ่มแรกด้วย WHO-recommended rapid TB diagnostics และผู้ป่วยวัณโรคที่มีผลยืนยันทางจุลชีววิทยาควรได้รับการทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรคอย่างน้อยต่อยา rifampicin และผู้ป่วยวัณโรคที่ตรวจพบเชื้อวัณโรคคือยาต่อ rifampicin ควรได้รับการทดสอบความไวต่อยาควิโนโลน และยาฉีดแนวที่ 2 ดังนั้น National TB control Programmes (NTPs) ของทุกประเทศ ต้องให้ความสำคัญกับการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการในการใช้ชุดทดสอบที่ทันสมัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทดสอบที่รวดเร็ว และมีความไวในการให้ข้อมูลการดื้อยา และตรวจหาเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) มีระบบการส่งตัวอย่างที่มีมาตรฐานการปฏิบัติงาน และระบบประกันคุณภาพที่เหมาะสม มีระบบความปลอดภัยที่มีประสิทธิภาพ รวมทั้งกำลังคนที่เพียงพอ ความต้องการเหล่านี้ควรระบุให้ชัดเจนในแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรคและความพร้อมด้านงบประมาณ โดยดำเนินการผ่านกระทรวงสาธารณสุข และการสนับสนุนโดยองค์กรในภูมิภาค และองค์กรระหว่างประเทศ^[2]

1.2 เครื่อง่ายห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคของประเทศไทย

เครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคของประเทศไทย ประกอบด้วย หน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชน ดังแสดงในรูปที่ 1.1 รูปที่ 1.2 ตารางที่ 1.1 และ ตารางที่ 1.2

1.2.1 ห้องปฏิบัติการภาครัฐ ประกอบด้วย

1.2.1.1 หน่วยงานสังกัดกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ดังต่อไปนี้

- (1) ห้องปฏิบัติการระดับอำเภอ ได้แก่ โรงพยาบาลชุมชน
- (2) ห้องปฏิบัติการระดับจังหวัด ได้แก่ โรงพยาบาลทั่วไป และ โรงพยาบาลศูนย์
- (3) ห้องปฏิบัติการระดับเขต ได้แก่ สำนักงานป้องกันควบคุมโรค (สคร.) เขต 1 - 12 และ สถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง (สปคม.)
- (4) ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับประเทศ ได้แก่ กองวัณโรค กรมควบคุมโรค

กลุ่มปฏิบัติการอ้างอิงชันสูตรวัณโรคแห่งชาติ กองวัณโรค กรมควบคุมโรค เป็นแห่งเดียวในประเทศไทย ที่ได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลก (WHO) ให้เป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงนานาชาติด้านวัณโรค ใน 33 แห่งทั่วโลก และเป็นหนึ่งในภูมิภาค SEARO รวมทั้งเป็นศูนย์การฝึกอบรมทางห้องปฏิบัติการชันสูตรวัณโรค ทั้งภายในและภายนอกประเทศ ห้องปฏิบัติการชันสูตรวัณโรคแห่งชาติให้บริการพิสูจน์ยืนยันเชื้อมัยโคแบคทีเรียและเชื้อวัณโรคด้วยเทคโนโลยีที่มีมาตรฐาน รวดเร็ว มีการผลักดันให้เกิดระบบการควบคุมคุณภาพของงานห้องปฏิบัติการวัณโรคของประเทศและระดับนานาชาติโดยอาศัยความร่วมมือกับองค์กรต่าง ๆ ทั้งภาครัฐและภาคเอกชน มีการวางแผนระบบการจัดเก็บสายพันธุ์เชื้อสำหรับอ้างอิงที่มีความสำคัญต่อการศึกษาวิจัยในการป้องกันและควบคุมวัณโรค การสนับสนุนหน่วยงานเครือข่ายทางห้องปฏิบัติการวัณโรคเพื่อแก้ปัญหาในการตรวจวินิจฉัยในผู้ป่วยที่มีปัญหาซับซ้อนต่อการรักษา ได้แก่ ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก (XDR-TB) วางแผนการเฝ้าระวังวัณโรคดื้อยาของประเทศที่สะท้อนสถานการณ์ปัจจุบันอย่างต่อเนื่องเพื่อใช้เป็นแนวทางให้กับประเทศในการวางแผนงานป้องกันและควบคุมวัณโรค ตลอดจนการสร้างระบบการพัฒนาคุณภาพรวมถึงการเป็นห้องปฏิบัติการที่ทำการจัดเตรียมและควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ (ISO 17043) และศักยภาพบุคลากรโดยการพัฒนาหลักสูตรในการอบรมทางห้องปฏิบัติการวัณโรคให้สอดคล้องกับบริบทและนโยบายของประเทศ และการเพิ่มศักยภาพของห้องปฏิบัติการวัณโรคในการนำข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการฯ มาวิเคราะห์เพื่อใช้ในการนิเทศติดตามงานทางด้านห้องปฏิบัติการวัณโรคให้มีการพัฒนาและแก้ปัญหาเฉพาะด้าน

1.2.1.2 หน่วยงานนอกสังกัดกระทรวงสาธารณสุข เช่น โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย โรงพยาบาลในสังกัดกรุงเทพมหานคร สำนักงานชั้นสูงตรสาธารณสุข สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร

นอกจากนี้ ยังมีห้องปฏิบัติการของภาครัฐที่ทำการตรวจวินิจฉัยวัณโรคและโรคติดต่ออีกหลายแห่ง ดังแสดงในภาคผนวก 1

1.2.2 ห้องปฏิบัติการภาคเอกชน เช่น โรงพยาบาลเอกชน และห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ภาคเอกชน

รูปที่ 1.1 โครงสร้างเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคของประเทศไทย



รูปที่ 1.2 เครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านโรคของสังกัดกระทรวงสาธารณสุข



ตารางที่ 1.1 หน้าที่และความรับผิดชอบของเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคสังกัดกระทรวงสาธารณสุข

หน้าที่ และความรับผิดชอบ	เครื่องมือ และ วิธีการตรวจ	หน่วยงาน
ห้องปฏิบัติการระดับอำเภอ - คัดกรอง และค้นหาผู้ป่วยวัณโรค - ชั้นสุตรวินิจฉัยขั้นพื้นฐาน - ส่งต่อตัวอย่างเพื่อการเพาะเชื้อ และทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรค	- ตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli ด้วยกล้องจุลทรรศน์ - การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคด้วยเทคนิคทางโมเลกุล ด้วย Xpert®MTB/RIF (เฉพาะห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อม)	โรงพยาบาลชุมชน
ห้องปฏิบัติการระดับจังหวัด - คัดกรอง และค้นหาผู้ป่วยวัณโรค - ชั้นสุตรวินิจฉัยขั้นพื้นฐาน - ชั้นสุตรวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคดื้อยา - ส่งต่อตัวอย่างเพื่อทดสอบความไวต่อยาด้วยการเพาะเชื้อ	- ตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli ด้วยกล้องจุลทรรศน์ - การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อ - การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล ด้วย Xpert®MTB/RIF	- โรงพยาบาลทั่วไป - โรงพยาบาลศูนย์
ห้องปฏิบัติการระดับเขต - ชั้นสุตรวินิจฉัยขั้นพื้นฐาน - ชั้นสุตรวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคดื้อยา - เฝ้าระวังเชื้อวัณโรคดื้อยา - ฝึกอบรมเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและนิเทศงานระดับอำเภอ - ส่งต่อตัวอย่างเพื่อทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรคแนวที่ 2 ด้วยการเพาะเชื้อ	- ตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli ด้วยกล้องจุลทรรศน์ - การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อ - การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล ด้วย FL-LPA SL-LPA และ/หรือ Real-time PCR - ทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรคแนวที่ 1 ด้วยการเพาะเชื้อ - การนิเทศห้องปฏิบัติการระดับจังหวัดและอำเภอ	- สคร. เขต 1 - 12 - สปคม.

หน้าที่ และ ความรับผิดชอบ	เครื่องมือ และ วิธีการตรวจ	หน่วยงาน
ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับประเทศ • ขั้นสุดตรวจวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคดื้อยา ครอบคลุม ทั้ง first line และ second line drugs ด้วยการเพาะเชื้อ และ เทคนิคทางชีวโมเลกุล • ผูกอบรมเจ้าหน้าที่จากห้องปฏิบัติการและนิเทศงานระดับเขต • การควบคุม และประกันคุณภาพของเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค • จัดให้มีการเฝ้าระวังเชื้อวัณโรคดื้อยา • พัฒนาและจัดทำวิธีมาตรฐานสำหรับการชันสูตรวินิจฉัยวัณโรคตามข้อกำหนดในแนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย • จัดเก็บเชื้ออ้างอิงที่มีความสำคัญในการควบคุมวัณโรค	• ตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli ด้วยกล้องจุลทรรศน์ • การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อ • ทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรคแนวที่ 1 และ 2 ด้วยการเพาะเชื้อ • การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล ด้วย Xpert[®] MTB/RIF FL-LPA และ SL-LPA • การนิเทศห้องปฏิบัติการระดับเขต • การถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค (TB-WGS)	• กองวัณโรค กรมควบคุมโรค • สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (เฉพาะ TB-WGS)

ตารางที่ 1.2 หน้าที่และความรับผิดชอบของหน่วยงานทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการและวิจัยด้านวัณโรค

หน้าที่ และ ความรับผิดชอบ	เครื่องมือ และ วิธีการตรวจ	หน่วยงาน
ทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ	• ตัวอย่างเสมหะที่ป้ายบนแผ่นกระจก สำหรับการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียด้วยการย้อมสีทึบ (3) • โปรแกรมการประกันคุณภาพ (External Quality Assessment, EQA) เช่น ชุดประกันคุณภาพการตรวจชันสูตรวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ได้แก่ Xpert MTB/RIF และ Line Probe Assay	• สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ • กลุ่มปฏิบัติการอ้างอิงชันสูตรวัณโรคแห่งชาติ กองวัณโรค กรมควบคุมโรค

หน้าที่ และ ความรับผิดชอบ	เครื่องมือ และ วิธีการตรวจ	หน่วยงาน
- พัฒนาและดำเนินงานชุดงานวิจัยวัณโรค - พัฒนาศักยภาพนักวิจัย	กรอบประเด็นวิจัยเพื่อয়উวัณโรคในประเทศไทย ประกอบด้วย - วิจัยและพัฒนาการบูรณาการระบบข้อมูลเพื่อการบริหารจัดการที่มีประสิทธิภาพ - การวิจัยและพัฒนาการให้บริการ - การศึกษาเชื่อมโยงโรคต่อยาทั้งแบบ genotypic และ phenotypic - การวิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคแฝงและการวินิจฉัยวัณโรค - การศึกษาระบบระบาดวิทยาเชิงโมเลกุล เพื่อการควบคุมวัณโรค	- กลุ่มปฏิบัติการอ้างอิงชั้นสูงวัณโรคแห่งชาติ กองวัณโรค สตร. เขต 1 – 12 และ สป.คม. กรมควบคุมโรค - สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข และ สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ - มหาวิทยาลัย - สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

1.3 เป้าหมายและตัวชี้วัดสำหรับสร้างความเข้มแข็งทางด้านห้องปฏิบัติการวัณโรค

ยุทธศาสตร์ยุติวัณโรคขององค์การอนามัยโลก ต้องวินิจฉัยวัณโรคร่วมกับการทดสอบความไวต่อยา rifampicin อย่างรวดเร็ว ในรายที่มีผลการทดสอบพบว่าดื้อต่อยา rifampicin ต้องได้รับการทดสอบการดื้อต่อยากลุ่ม Fluoroquinolone (FQs และ SLIDs) ภายใต้กรอบยุทธศาสตร์ดังกล่าว ทุกประเทศต้องพัฒนาแผนการเสริมสร้างห้องปฏิบัติการในช่วงปี พ.ศ. 2559 - 2568

เพื่อให้บรรลุเป้าหมายดังกล่าว ประเทศไทยจึงกำหนดตัวชี้วัดภาพรวมของประเทศระยะเวลา 5 ปี (พ.ศ.2560 – 2564) ที่ครอบคลุมการสร้างเครือข่ายห้องปฏิบัติการที่สนับสนุนการวินิจฉัยอย่างรวดเร็วและมีคุณภาพ และตั้งตัวชี้วัดที่ช่วยในการติดตามและประเมินผล ดังแสดงในตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 ตัวชี้วัดสำหรับสร้างความเข้มแข็งทางด้านห้องปฏิบัติการวัณโรค^[4]

ตัวชี้วัดสำหรับสร้างความเข้มแข็งทางด้านห้องปฏิบัติการวัณโรคตามยุทธศาสตร์หยุดยั้งวัณโรคขององค์การอนามัยโลกในประเทศไทย		ตัวชี้วัดในแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560 - 2564				
วัตถุประสงค์ที่ 1 การเพิ่มการตรวจหาวัณโรคที่รวดเร็วและแม่นยำ		60	61	62	63	64
1.	มีขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยที่รวดเร็วที่ใช้เทคนิคโมเลกุลเพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคที่แนะนำโดยองค์การอนามัยโลก (WHO-recommended rapid diagnostic; WRD) ^a สำหรับทุกคนที่มีอาการหรืออาการแสดงสงสัยเป็นวัณโรค ในแผนงานการควบคุมวัณโรคชาติ	มี	มี	มี	มี	มี
2.	ร้อยละของผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วย WRD ^a	30	40	50	60	70
	ร้อยละของผู้ป่วยวัณโรคที่เคยรักษามาก่อนได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วย WRD ^a	50	60	70	80	90
3.	ร้อยละของผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ก่อนที่มีผลยืนยันแบคทีเรียวิทยา	30	40	50	60	70
	ร้อยละของผู้ป่วยวัณโรคที่เคยรักษามาก่อนที่มีผลยืนยันแบคทีเรียวิทยา	50	60	70	80	90
4.	ร้อยละของสถานบริการที่ให้บริการ WRD ^a ที่สามารถเชื่อมต่อข้อมูลเพื่อส่งผลทางอิเล็กทรอนิกส์เพื่อประโยชน์ทางคลินิกและการบริหารข้อมูลเข้าสู่ระบบสารสนเทศของประเทศ	20	40	60	80	100
5.	ประเทศไทยมีนโยบายให้การตรวจวินิจฉัยวัณโรคและการติดตามผลการตรวจวัณโรคผ่านแผนงานการควบคุมวัณโรคแห่งชาติเป็นบริการที่ผู้ป่วยไม่เสียค่าบริการ และหรือสามารถจ่ายค่าธรรมเนียมผ่านทางประกันสุขภาพได้อย่างครบถ้วนสำหรับทุกคนที่มีอาการสงสัยเข้าได้กับวัณโรค	มี	มี	มี	มี	มี

ตัวชี้วัดสำหรับสร้างความเข้มแข็งทางด้านห้องปฏิบัติการวัณโรคตามยุทธศาสตร์หยุดยั้งวัณโรคขององค์การอนามัยโลกในประเทศไทย		ตัวชี้วัดในแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560 - 2564				
วัตถุประสงค์ที่ 2 การเข้าถึงการทดสอบการดื้อยา		60	61	62	63	64
6.	มีนโยบายแห่งชาติและขั้นตอนวิธีการวินิจฉัยให้เข้าถึง DST ทั่วประเทศ	มี	มี	มี	มี	มี
7.	จำนวนร้อยละของผู้ป่วยวัณโรค ที่มีผล DST ของยา rifampicin เทียบกับผู้ป่วยทั้งหมดในระบบรายงานที่มีผลยืนยันแบบที่เรียวยิทยา	30	40	50	60	70
8.	จำนวนร้อยละของผู้ป่วยที่มีผลการทดสอบพบว่าดื้อต่อยา rifampicin (RR-TB) และมีผลการทดสอบการดื้อต่อยากลุ่ม FQs และ SLIDs	30	50	70	90	90
วัตถุประสงค์ที่ 3 เสริมสร้างคุณภาพของห้องปฏิบัติการ		60	61	62	63	64
9.	จำนวนร้อยละของห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจวินิจฉัยวัณโรค ทั้งหมดที่ดำเนินการและเข้าสู่ที่ระบบประเมินคุณภาพภายนอก (EQA)	80	85	90	95	100
10.	จำนวนร้อยละของห้องปฏิบัติการที่มีการทดสอบประสิทธิภาพของ DST ผ่าน EQA panel เปรียบเทียบกับจำนวนห้องปฏิบัติการทั้งหมดที่เปิดให้บริการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา	85	90	95	100	100
11.	จำนวนร้อยละของห้องปฏิบัติการที่ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค ให้บริการ DST โดยวิธี LPA และ/หรือ phenotypic DST มีระบบการจัดการคุณภาพอย่างเป็นทางการ (Quality Management System, QMS) เพื่อให้ได้รับการรับรองมาตรฐานสากล	85	90	95	100	100
12.	ห้องปฏิบัติการอ้างอิงชั้นสูงวัณโรคแห่งชาติได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO15189	มี	มี	มี	มี	มี

^a WHO-recommended rapid diagnostic; WRD คือ molecular techniques for the detection of TB ได้แก่ Xpert® MTB/RIF TB-LAMP และ line probe assays

ที่มา: แผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560-2564^[4]

สำหรับแนวทางการทดสอบการดื้อยาของเชื้อวัณโรคตามแนวทางการดำเนินงานชั้นสูงวัณโรคตามแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560 - 2564 เน้นให้ผู้ป่วยวัณโรคได้รับการทดสอบความไวของเชื้อต่อยารักษาวัณโรคด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา และ/หรือ Phenotypic DST โดยเพิ่มอัตราการได้รับการตรวจ DST ในผู้ป่วยที่เคยรักษาวัณโรคทุกราย และได้เพิ่มตัวชี้วัดการทดสอบ DST ในผู้ป่วยรายใหม่ที่มีผลการตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย Mycobacterium และขึ้นทะเบียนรักษาวัณโรคในระบบ National Tuberculosis Information Program (NTIP) ทุกราย ปริมาณการเพิ่มการทดสอบ DST ในผู้ป่วยรายใหม่จะเพิ่มขึ้นทุกปีตามตัวชี้วัดในแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค โดยเริ่มจากปีงบประมาณ 2560

บรรณานุกรม

- [1] สำนักวัณโรค. แนวทางการดำเนินงานควบคุมวัณโรคแห่งชาติ พ.ศ. 2561. 2018.
- [2] World Health Organization. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening 2017:130.
- [3] สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ. คู่มือสมาชิกการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ สาขาจุลชีววิทยาคลินิก ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 Participant manual for National External Quality Assessment in Clinical Microbiology 2019.
- [4] สำนักวัณโรค. แผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค พ.ศ. 2560-2564. 2017.

บทที่ 2

แนวทางปฏิบัติด้านเทคนิคห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค

2.1 สิ่งส่งตรวจ และการจัดการสิ่งส่งตรวจ

การเก็บสิ่งส่งตรวจที่มีคุณภาพดี และการนำส่งตัวอย่างในสภาวะที่เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้การตรวจวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการมีความถูกต้อง แม่นยำ

ตารางที่ 2.1 ชนิดของสิ่งส่งตรวจและการเก็บตัวอย่าง

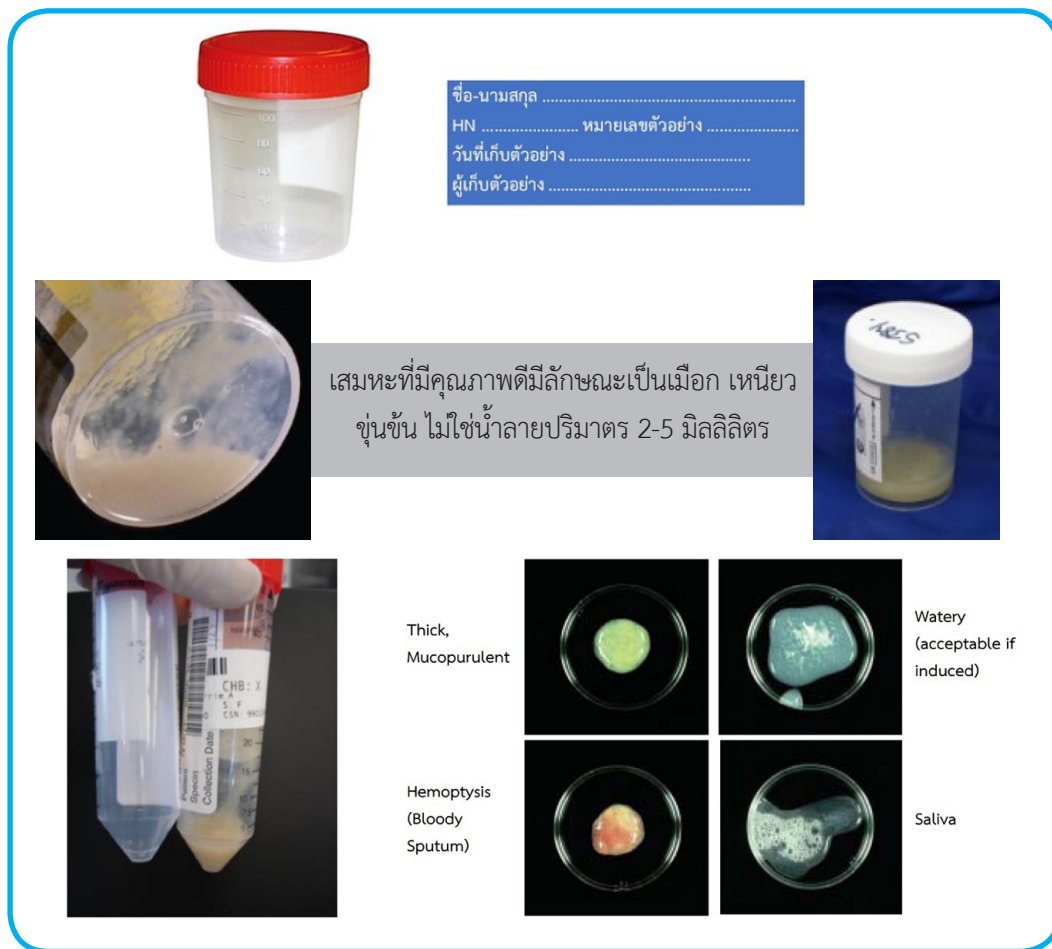
ชนิดสิ่งส่งตรวจ	วิธีการเก็บ
เสมหะ (sputum)	การเก็บเสมหะควรปฏิบัติดังนี้ ให้ผู้ป่วยหายใจลึกๆ 2-3 ครั้ง ไอลจากส่วนลึกของทรวงอกและบ้วนเสมหะใส่ถ้วยเก็บเสมหะ ภาชนะบรรจุ ลักษณะปากกว้างและลึก หรือ 50 มิลลิลิตร conical tube เพื่อให้ผู้ป่วยบ้วนเสมหะได้สะดวก และมีฝาเกลียวปิดได้แน่น เพื่อป้องกันเสมหะหกออกมานอกถ้วยในช่วงการขนส่ง เป็นถ้วยปราศจากเชื้อและสามารถมองเห็นตัวอย่างด้านใน การนำส่ง • ควรนำส่งทันที ภายใน 2 ชั่วโมง • กรณีไม่สามารถส่งได้ทันที ควรเก็บตัวอย่างเสมหะไว้ในอุณหภูมิ 4 ถึง 8 องศาเซลเซียส ห้ามแช่แข็งและห้ามเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพราะจะทำให้คุณภาพของตัวอย่างเสมหะลดลง

ชนิดสิ่งส่งตรวจ	วิธีการเก็บ
สารน้ำจากร่างกาย (body fluids) เช่น น้ำไขสันหลัง (cerebrospinal fluid) น้ำในช่องท้อง (peritoneal fluid) น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด (pleural effusion)	การเก็บสารน้ำจากร่างกายควรเก็บด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ • น้ำไขสันหลัง ปริมาตรไม่น้อยกว่า 2 มิลลิลิตร โดยปริมาตรที่เหมาะสม คือ 10 มิลลิลิตร • สารน้ำจากร่างกายอื่นๆ ปริมาตรไม่น้อยกว่า 10 มิลลิลิตร โดยปริมาตรที่เหมาะสม คือ 10 – 15 มิลลิลิตร ภาชนะบรรจุ ขวดแก้ว หรือ ขวดพลาสติกปราศจากเชื้อ การนำส่ง • ควรนำส่งทันที • กรณีไม่สามารถส่งได้ทันที สำหรับน้ำไขสันหลังควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามแช่เย็น) สำหรับสารน้ำจากร่างกายอื่นๆ ควรเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 ถึง 8 องศาเซลเซียส และส่งตัวอย่างภายใน 24 ชั่วโมง
ชี้นเนื้อ เช่น ต่อมมน้ำเหลือง (lymph node)	การเก็บชี้นเนื้อควรเก็บด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ โดยตัดชี้นเนื้อให้มีขนาด 1 – 2 ตารางเซนติเมตร และเติมน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 2 – 3 มิลลิลิตร (no formalin, preservatives, or fixatives) ภาชนะบรรจุ ขวดแก้ว หรือ ขวดพลาสติกปราศจากเชื้อ การนำส่ง • ควรนำส่งทันที • กรณีไม่สามารถส่งได้ทันที ควรเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามแช่เย็น) และส่งตัวอย่างภายใน 24 ชั่วโมง
น้ำล้างกระเพาะ (gastric aspirate)	การเก็บน้ำล้างกระเพาะควรเก็บในตอนเช้าก่อนรับประทานอาหารเช้าขณะที่อยู่บนเตียงผู้ป่วย ปริมาตรที่เหมาะสม คือ 5 – 10 มิลลิลิตร และไม่เกิน 15 มิลลิลิตร ภาชนะบรรจุ ขวดแก้ว หรือ ขวดพลาสติกปราศจากเชื้อ การนำส่ง • ควรนำส่งทันที • กรณีไม่สามารถส่งได้ทันที ควรเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามแช่เย็น) และเติม 100 mg sodium carbonate เพื่อปรับสภาพ pH ให้เป็นกลาง

ที่มา: Mcgee P. Morbidity and Mortality Weekly Report Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, 2005. vol. 54. 2005.^[1]

สำหรับการเก็บเสมหะ ถ้วยเก็บเสมหะต้องมีการระบุชื่อ และรายละเอียดก่อนทำการเก็บเสมหะจากผู้ป่วยทุกครั้ง นอกจากนี้ยังต้องมีการตรวจคุณภาพเสมหะทุกครั้งก่อนทำการทดสอบ เพื่อปฏิเสธเสมหะที่ไม่มีคุณภาพ ในกรณีที่ส่งเสมหะตรวจเพื่อการวินิจฉัยวัณโรค เสมหะต้องมีคุณภาพดี ไม่ใช่ น้ำลาย ควรปฏิเสธตัวอย่างเสมหะที่ไม่มีคุณภาพ และให้เก็บเสมหะส่งตรวจใหม่

สถานที่เก็บเสมหะควรเก็บในที่โล่งแจ้ง อากาศถ่ายเทดี หรือ เก็บในตู้เก็บเสมหะที่มีการระบายอากาศที่ดี และมีการบำรุงรักษาอย่างต่อเนื่อง



ที่มา: Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria. CLSI guideline M48. 2nd ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.^[2]

2.2 การนำส่ง และการลงทะเบียนสิ่งส่งตรวจ

การขนส่งสิ่งส่งตรวจให้บรรจุรูปแบบสามชั้นที่เรียกว่า “triple packing system” ซึ่งประกอบด้วย

- (1) Primary receptacles ได้แก่ ภาชนะบรรจุตัวอย่าง
- (2) Secondary packaging ได้แก่ บรรจุภัณฑ์ที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มภาชนะบรรจุตัวอย่าง
- (3) Outer packaging ได้แก่ บรรจุภัณฑ์ชั้นนอกเพื่อป้องกันความเสียหายระหว่างการขนส่ง

ภาชนะที่ใช้เก็บเสมหะต้องปิดฝาให้แน่น ก่อนห่อด้วยวัสดุที่ดูดซับ (สำลี หรือกระดาษเช็ดมือ) จากนั้นนำไปใส่ถุงซีปล็อก และบรรจุในภาชนะกันกระแทกชั้นนอก โดยเจ้าหน้าที่ส่งตัวอย่างควรได้รับการฝึกอบรมด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ และมีชุดเครื่องมือป้องกันกรณีเกิดอุบัติเหตุตัวอย่างหก หล่น

กระบวนการส่งเพาะเชื้อที่ดี ควรจัดส่งด้วยระบบ cold chain และนำส่งตัวอย่างภายใน 3 วัน โดยเริ่มนับจากวันที่เก็บตัวอย่างจนถึงจุดหมายปลายทาง หรืออย่างมากไม่ควรเกิน 5 วัน



ที่มา: World Health Organization. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening 2017:130^[3]

การลงทะเบียนสิ่งส่งตรวจ สามารถลงทะเบียนในรูปแบบฟอร์มส่งตรวจเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค และทดสอบความไวของเชื้อต่อยารักษาวัณโรค โดยลงทะเบียนผ่านระบบออนไลน์ National Tuberculosis Information Program (NTIP) ได้ที่เว็บไซต์ <http://tbcmtailand.ddc.moph.go.th> แบบฟอร์มดังกล่าวแยกผู้ป่วยออกเป็นผู้ป่วยใหม่สำหรับการวินิจฉัย หรือผู้ป่วยที่ต้องทำการติดตามผลการรักษา ประกอบด้วยข้อมูลจากคลินิกวัณโรค ระบุข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับผู้ป่วย ข้อบ่งชี้กรณีส่งตรวจเพื่อการวินิจฉัย และหัวข้อทดสอบที่ต้องการตรวจ ข้อบ่งชี้กรณีส่งตรวจเพื่อติดตามการรักษาผู้ป่วย MDR-TB และข้อมูลจากห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล

การกรอกข้อมูลที่ครบถ้วนสมบูรณ์เป็นสิ่งสำคัญมาก เพื่อเก็บข้อมูลเป็นงานประจำของกิจกรรมเฝ้าระวัง และการจัดการบันทึกผู้ป่วยที่เหมาะสม ดังแสดงใน ภาคผนวก 2

2.3 เทคนิคการชันสูตรและวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการ

2.3.1 การตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli (AFB) และ การเพาะเชื้อวัณโรค

(1) การตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli (AFB) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination)

เป็นการตรวจหาเชื้อติดสีทนกรด หรือ acid fast bacilli (AFB) จากสิ่งส่งตรวจต่าง ๆ โดยการย้อมสีทนกรดและนำไปตรวจหาเชื้อ AFB ผ่านกล้องจุลทรรศน์ การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่นิยมใช้ มี 2 วิธี คือ

- กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscope)
- กล้องจุลทรรศน์แบบเรืองแสง (fluorescence microscope)

(2) การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อ (mycobacterial culture and identification)

การเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจเป็นการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูง โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเชื้อ เมื่อตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดเชื้อปนเปื้อนแล้วยังพบว่ามีเชื้อที่มีชีวิตอยู่เพียง 1-10 เซลล์ ก็สามารถเพาะเชื้อขึ้น นอกจากนี้วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อยังถือว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคสามารถทำได้ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งอาหารชนิดแข็ง (solid media) และอาหาร ชนิดเหลว (liquid media)

2.3.2 การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรค

การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคเป็นการทดสอบทางห้องปฏิบัติการว่าเชื้อวัณโรคสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบนั้นมีความไวต่อยาที่ใช้ทดสอบหรือไม่ เรียกว่า phenotypic DST การทดสอบการดื้อยาของเชื้อวัณโรคในห้องปฏิบัติการใช้การเจริญของเชื้อในอาหารที่ไม่มียาเทียบกับอาหารที่มีส่วนผสมของยาโดยการทดสอบทำได้ทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคในอาหารแต่ละชนิดและแต่ละวิธีที่มีใช้ในประเทศ มีดังนี้

(1) การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคในอาหารแข็ง

ได้แก่ อาหารที่เตรียมจากไข่ เช่น Löwenstein-Jensen (LJ) หรือ อาหารที่เตรียมจาก agar เช่น Middlebrook 7H10 (M7H10) และ M7H11 สามารถทดสอบยาทั้ง FL-DST และ SL-DST

(2) การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคในอาหารเหลว

ที่นิยมใช้ คือ เครื่อง BACTEC 960 system ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MGIT (mycobacterial growth indicator tube) สามารถทดสอบความไวต่อยา FL-DST รวม PZA และ SL-DST บางตัวยา ส่วนวิธีอื่นมีการศึกษาเพื่อการใช้งานในบางหน่วยงานเท่านั้น เช่น MODS (microscopic observation drug susceptibility testing) และ การทดสอบ Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

ตารางที่ 2.2 วิธีการตรวจหาเชื้อ acid-fast bacilli (AFB) การเพาะเชื้อวัณโรค การแปลผล และระยะเวลาการรายงานผล

วิธีการตรวจ		Turnaround time (TAT)	ระดับห้องปฏิบัติการ	การแปลผล	ข้อสังเกต
การตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination)	Conventional light microscopy with Ziehl-Neelsen staining	24 ชั่วโมง	ทุกระดับ ได้แก่ ระดับอำเภอ ระดับจังหวัด ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- ผลบวก (positive) - ผลลบ (negative)	ความไวต่ำกว่า fluorescence microscopy
	LED fluorescence microscopy	24 ชั่วโมง	ทุกระดับ ได้แก่ ระดับอำเภอ ระดับจังหวัด ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- ผลบวก (positive) - ผลลบ (negative)	- มีความไวเพิ่มขึ้นร้อยละ 10 - ใช้เวลาในการส่องกล้องตรวจน้อยกว่าวิธีดั้งเดิม - ไม่ต้องใช้ห้องมืด - กรณีพบเชื้อน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1+ ควรยืนยันด้วยวิธี Ziehl-Neelsen
การเพาะเชื้อ (culture)	Solid media (อาหารแข็ง) Löwenstein-Jensen และ Ogawa media	2-9 สัปดาห์	ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- Growth: MTB / Non-TB - No growth	- Contamination rate ร้อยละ 3-5 - สามารถจำแนกการปนเปื้อนของเชื้อได้ โดยดูจากเชื้อที่ขึ้นบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ
	Liquid media (อาหารเหลว)	1-7 สัปดาห์	ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- Growth: MTB / Non-TB - No growth	- Contamination rate ร้อยละ 8-10 - เชื้อวัณโรคบางสายพันธุ์เจริญไม่ได้ในอาหารเหลว (อาจเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของไข่ร่วมด้วย)

ตารางที่ 2.3 วิธีการทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรคด้วยวิธี Phenotypic การแปลผล และระยะเวลาการรายงานผล

วิธีการตรวจ		Turnaround time (TAT)	ระดับห้องปฏิบัติการ	การแปลผล	ข้อสังเกต
การทดสอบความไวต่อยา first line (FL phenotypic DST: Sm, INH, RIF และ EMB)	Using solid media (LJ หรือ Middlebrook 7H10 หรือ 7H11)	4-7 สัปดาห์ หรือ 4-5 สัปดาห์	• ระดับเขต และ ระดับประเทศ	• Susceptible • Resistance (INH, RIF, EMB และ Sm)	• สามารถจำแนกการปนเปื้อนของเชื้อได้ โดยดูจากเชื้อที่ขึ้นบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ • ใช้ pure culture ของ M. tuberculosis ในการทดสอบ
	Using liquid media-FL-DST (commercial and non-commercial)	1-3 สัปดาห์	• ระดับเขต และ ระดับประเทศ	• Susceptible • Resistance (INH, RIF, EMB Sm และ PZA)	
การทดสอบความไวต่อยา second line (SL phenotypic DST: Km, Am, Cm, Ofx, Mfx, Eto, Pto, Cs, PAS, Cfx และ Lzd)	Using solid media-SL-DST (LJ หรือ Middlebrook 7H10 หรือ 7H11)	4-7 สัปดาห์ หรือ 4-5 สัปดาห์	• ระดับประเทศ	• Susceptible • Resistance (Km, Am, Cm, Ofx, Lfx, Mfx, Eto, Pto, Cs, PAS, Cfx และ Lzd)	• สามารถทดสอบยาแต่ละตัวได้ • สามารถจำแนกการปนเปื้อนของเชื้อได้ โดยดูจากเชื้อที่ขึ้นบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ • ใช้ pure culture ของ M. tuberculosis ในการทดสอบ
	Using liquid media-SL-DST (commercial and non-commercial)	1-3 สัปดาห์	• ระดับประเทศ	• Susceptible • Resistance (Km, Am, Cm, Ofx, Lfx, Mfx)	

(3) ความเข้มข้นของยาที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคโดยวิธี Phenotypic

การทดสอบความไวต่อยาด้านวัณโรคพิจารณาจากการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหารแข็ง หรือ ในอาหารเหลวที่มียาที่ความเข้มข้นเท่ากับ critical concentration เทียบกับบน อาหารที่ไม่มียา

Critical concentration ที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคโดยวิธี Phenotypic ดังแสดงในตารางที่ 2.4 Critical concentration ของกลุ่มยารักษาวัณโรคแนวที่ 1 และ ตารางที่ 2.5 Critical concentration ของกลุ่มยารักษาวัณโรคดื้อยา

ตารางที่ 2.4 Critical concentration (CC) for first-line medicines recommended for the treatment of drug-susceptible TB.^[4]

Medicine	Abbrevia- tion	Critical concentration (µg/ml) for DST by medium			
		Löwenstein- Jensen	Middlebrook 7H10	Middlebrook 7H11	MGIT liquid culture
Rifampicin	RIF	40.0	1.0	1.0	1.0
Isoniazid	INH	0.2	0.2	0.2	0.1
Ethambutol	EMB	2.0	5.0	7.5	5.0
Pyrazinamide	PZA	-	-	-	100

ตารางที่ 2.5 Critical concentration (CC) and clinical breakpoint (CB) for medicines recommended for the treatment of RR-TB and MDR-TB. (Interim CC are in bold)^[5]

Group	Medicine	Critical concentration (µg/ml) for DST			
		LJ	7H10	7H11	MGIT
A. Fluoroquinolone	Levofloxacin (CC)	2.0	1.0	-	1.0
	Moxifloxacin (CC)	1.0	0.5	0.5	0.25
	Moxifloxacin (CB)	-	2.0	-	1.0
	Gatifloxacin (CC)	0.5	-	-	0.25
B. Second-line injectable agents	Amikacin	30.0	2.0	-	1.0
	Capreomycin	40.0	4.0	-	2.5
	Kanamycin	30.0	4.0	-	2.5
	(Streptomycin)	4.0	2.0	2.0	1.0

Group	Medicine		Critical concentration (µg/ml) for DST			
			LJ	7H10	7H11	MGIT
C. Other second-line agents	Ethionamide		40.0	5.0	10.0	5.0
	Prothionamide		40.0	-	-	2.5
	Cycloserine		-	-	-	-
	Linezolid		-	1.0	1.0	1.0
	Clofazimine		-	-	-	1.0
D. Add-on agents	D1	Pyrazinamide	-	-	-	100.0
		Ethambutol	2.0	5.0	7.5	5.0
	D2	Bedaquiline	-	-	0.25	1.0
		Delamanid	-	-	0.016	0.06
	D3	p-aminosalicylic acid	-	-	-	-
		Imipenem-cilastatin	-	-	-	-
		Meropenem	-	-	-	-
		Amoxicillin-clavulonate	-	-	-	-
		(Thioacetazone)	-	-	-	-

2.3.3 การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล

การตรวจทางชีวโมเลกุลอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอของเชื้อวัณโรค *M. tuberculosis* เพื่อให้ตรวจพบได้ง่ายขึ้น และได้เร็วขึ้น ปัจจุบันการตรวจทางชีวโมเลกุล ที่องค์การอนามัยโลกแนะนำมีเทคนิค 2 วิธี คือ

- เทคนิคการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (amplification) มีทั้งแบบ
 - ➡ Real-time PCR ที่เป็น cartridge-based เช่น Xpert MTB/RIF assay, Xpert MTB/RIF assay (ultra)
 - ➡ Isothermal amplification เช่น loop-mediated isothermal amplification (TB –LAMP)
 - ➡ Real-time PCR เช่น Anyplex™ II MTB/MDR/XDR kit
- เทคนิค amplification and reverse hybridization เช่น Line probe assay (LPA) ใช้ในการตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยา

(1) เทคนิคการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (amplification)

(1.1) การตรวจด้วยวิธี real-time PCR ที่เป็น cartridge-based

เป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบอัตโนมัติด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction ที่เป็น cartridge-based สำหรับการเพิ่มจำนวน DNA ให้มากขึ้นและสามารถเพิ่มจำนวน DNA ในส่วนของ rpoB gene ของเชื้อซึ่งเป็น gene ที่เกิดจากการกลายพันธุ์จะทำให้เชื้อมีความสามารถในการดื้อยา rifampicin

ข้อดีในการทดสอบด้วย Xpert MTB/RIF ได้แก่ สามารถตรวจวินิจฉัยได้ทั้งวัณโรคและการดื้อยา rifampicin และใช้เวลาในการตรวจประมาณ 2 ชั่วโมงตรวจได้ทั้งในตัวอย่างเสมหะที่มีผล AFB smear บวกและลบ

ข้อควรคำนึงในการเลือกใช้ Xpert MTB/RIF

- การทำงานของเครื่องตรวจต้องใช้ระบบไฟฟ้าคงที่อย่างน้อย 2 ชั่วโมง
- การใช้เครื่องตรวจที่อุณหภูมิไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส
- การเก็บ cartridge ควรเก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส
- ไม่สามารถใช้ในการติดตามการรักษาผู้ป่วยวัณโรค
- ค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาโดยมีการตรวจสอบความแม่นยำของเครื่องมือ (calibrate instrument)

จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก ได้รวบรวมผลการศึกษามากมาย รายงาน (ดังตารางที่ 2.6) พบว่าความไวและความจำเพาะของการวินิจฉัยด้วย Xpert MTB/RIF มีค่าสูงมากเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในขณะที่การตรวจด้วย AFB smear หรือใช้อาการทางคลินิกจะมีความไวต่ำ องค์การอนามัยโลกจึงแนะนำให้มีการตรวจวินิจฉัยด้วย Xpert MTB/RIF ในการคัดกรองค้นหาผู้ป่วยวัณโรคมากขึ้น

ตารางที่ 2.6 ความไวและความจำเพาะของการวินิจฉัยด้วยวิธีการต่าง ๆ

Diagnostic test	Pool sensitivity	Pool specificity
Liquid culture (gold standard)	100	100
Conventional sputum smear microscopy	61 (31-89)	98 (93-100)
Xpert MTB/EIF assay	92 (10-100)	99 (91-100)
Clinical diagnosis	24 (10-51)	94 (79-97)

ที่มา: World Health Organization. Systematic screening for active tuberculosis: an operational guide. Geneva, Switzerland: WHO, 2015^[6]

(1.2) การตรวจด้วยวิธี loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

เป็นการตรวจวิเคราะห์ DNA โดยการเพิ่มขยายปริมาณของ 16S rRNA gene ด้วยอุณหภูมิคงที่ จึงไม่จำเป็นต้องใช้เครื่อง thermal cycler และการอ่านผลสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าผ่านหลอด ultraviolet light การตรวจใช้เสมหะในการตรวจ 60 ไมโครลิตร รายงานผลประมาณ 1 ชั่วโมง อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้สามารถเก็บที่ อุณหภูมิห้องได้ มีความไวในการตรวจสูง

ข้อควรคำนึงในการเลือกใช้ loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

TB-LAMP เป็น point of care test (POC) เพื่อใช้ตรวจวินิจฉัยวัณโรค แต่ไม่สามารถใช้ตรวจการดื้อยาได้ จึงไม่ควรใช้ในพื้นที่ที่มีความชุกของ MDR-TB หรือพื้นที่ ๆ มีการใช้ Xpert MTB/RIF ได้ดีอยู่แล้ว

(1.3) การตรวจด้วยวิธี real-time PCR^[7-9]

เป็นการเพิ่มจำนวนและตรวจวัดปริมาณของสารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ โดยหลักการติดฉลากสารเรืองแสงเข้ากับสารพันธุกรรมตั้งต้น สำหรับวัดปริมาณสารพันธุกรรมที่เพิ่มขึ้นระหว่างการตรวจวิเคราะห์ ในการตรวจหาเชื้อวัณโรค *M. tuberculosis* อาศัยการตรวจหาอิน IS6110 และ MPB64 ซึ่งเป็นยีนที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อวัณโรคที่มีความคงตัวและการเปลี่ยนแปลงแปลงต่ำ (conserved gene) และการจำแนกเชื้อ non-tuberculous mycobacteria (NTM) อาศัยการวิเคราะห์ยีน 16S rRNA

การตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน ใช้ตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ใน ยีน rpoB สำหรับตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยาริฟampicin และยีน *katG* ร่วมกับยีน *inhA* สำหรับเชื้อดื้อยา Isoniazid ตามลำดับ

การตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง ใช้ตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ใน ยีน *gyrA* สำหรับตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยา fluoroquinolones และยีน *rrs* ร่วมกับยีน *eis* สำหรับเชื้อดื้อยา second-line injectable drugs ตามลำดับ

ทั้งนี้วิธีนี้จำเป็นต้องมีห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ที่มีศักยภาพสำหรับงานเทคนิคทางโมเลกุล

(2) เทคนิค amplification and reverse hybridization

(2.1) การตรวจด้วยวิธี line probe assay (LPA)

อาศัยหลักการ polymerase chain reaction/reverse hybridization เพื่อตรวจ DNA ของเชื้อวัณโรคในสิ่งส่งตรวจโดยตรง และตรวจการกลายพันธุ์ของ nucleotide (single nucleotide polymorphisms: SNPs) ในยีนที่สัมพันธ์กับการดื้อยา โดยต้องมีจำนวนเชื้ออย่างน้อย 160 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้วิธีนี้จำเป็นต้องมีห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ที่มีศักยภาพสำหรับงานเทคนิคทางโมเลกุล และบุคลากรต้องมีความชำนาญ

รูปที่ 2.1 การจัดเรียงของ specific oligonucleotide probes
ซึ่งตั้งเรียงอยู่บน (a) FL-LPA และ (b) SL-LPA^[10]

a (14)		b (15)	
Line		Line	
1	Conjugate Control	1	Conjugate Control
2	Amplification Control	2	Amplification Control
3	<i>M. tuberculosis</i> complex TUB	3	<i>M. tuberculosis</i> complex TUB
4	<i>rpoB</i> Locus Control <i>rpoB</i>	4	<i>gyrA</i> Locus Control <i>gyrA</i>
5	<i>rpoB</i> wild type probe 1 <i>rpoB</i> WT1	5	<i>gyrA</i> wild type probe 1 <i>gyrA</i> WT1
6	<i>rpoB</i> wild type probe 2 <i>rpoB</i> WT2	6	<i>gyrA</i> wild type probe 2 <i>gyrA</i> WT2
7	<i>rpoB</i> wild type probe 3 <i>rpoB</i> WT3	7	<i>gyrA</i> wild type probe 3 <i>gyrA</i> WT3
8	<i>rpoB</i> wild type probe 4 <i>rpoB</i> WT4	8	<i>gyrA</i> mutation probe 1 <i>gyrA</i> MUT1
9	<i>rpoB</i> wild type probe 5 <i>rpoB</i> WT5	9	<i>gyrA</i> mutation probe 2 <i>gyrA</i> MUT2
10	<i>rpoB</i> wild type probe 6 <i>rpoB</i> WT6	10	<i>gyrA</i> mutation probe 3A <i>gyrA</i> MUT3A
11	<i>rpoB</i> wild type probe 7 <i>rpoB</i> WT7	11	<i>gyrA</i> mutation probe 3B <i>gyrA</i> MUT3B
12	<i>rpoB</i> wild type probe 8 <i>rpoB</i> WT8	12	<i>gyrA</i> mutation probe 3C <i>gyrA</i> MUT3C
13	<i>rpoB</i> mutation probe 1 <i>rpoB</i> MUT1	13	<i>gyrA</i> mutation probe 3D <i>gyrA</i> MUT3D
14	<i>rpoB</i> mutation probe 2A <i>rpoB</i> MUT2A	14	<i>gyrB</i> Locus Control <i>gyrB</i>
15	<i>rpoB</i> mutation probe 2B <i>rpoB</i> MUT2B	15	<i>gyrB</i> wild type probe <i>gyrB</i> WT
16	<i>rpoB</i> mutation probe 3 <i>rpoB</i> MUT3	16	<i>gyrB</i> mutation probe 1 <i>gyrB</i> MUT1
17	<i>katG</i> Locus Control <i>katG</i>	17	<i>gyrB</i> mutation probe 2 <i>gyrB</i> MUT2
18	<i>katG</i> wild type probe <i>katG</i> WT	18	<i>rrs</i> Locus Control <i>rrs</i>
19	<i>katG</i> mutation probe 1 <i>katG</i> MUT1	19	<i>rrs</i> wild type probe 1 <i>rrs</i> WT1
20	<i>katG</i> mutation probe 2 <i>katG</i> MUT2	20	<i>rrs</i> wild type probe 2 <i>rrs</i> WT2
21	<i>inhA</i> Locus Control <i>inhA</i>	21	<i>rrs</i> mutation probe 1 <i>rrs</i> MUT1
22	<i>inhA</i> wild type probe 1 <i>inhA</i> WT1	22	<i>rrs</i> mutation probe 2 <i>rrs</i> MUT2
23	<i>inhA</i> wild type probe 2 <i>inhA</i> WT2	23	<i>eis</i> Locus Control <i>eis</i>
24	<i>inhA</i> mutation probe 1 <i>inhA</i> MUT1	24	<i>eis</i> wild type probe 1 <i>eis</i> WT1
25	<i>inhA</i> mutation probe 2 <i>inhA</i> MUT2	25	<i>eis</i> wild type probe 2 <i>eis</i> WT2
26	<i>inhA</i> mutation probe 3A <i>inhA</i> MUT3A	26	<i>eis</i> wild type probe 3 <i>eis</i> WT3
27	<i>inhA</i> mutation probe 3B <i>inhA</i> MUT3B	27	<i>eis</i> mutation probe 1 <i>eis</i> MUT1
	Colored marker		Colored marker

ข้อควรคำนึงในการเลือกใช้ line probe assay (LPA)

- การทดสอบการดื้อยาในกลุ่ม FLD (rifampicin and isoniazid) เพื่อตรวจหา MDR-TB จากเสมหะโดยตรง แต่มีข้อจำกัด คือสามารถใช้ได้ดีในรายที่มีผล AFB smear บวก หรือใช้กับเชื้อที่เพาะขึ้นแล้ว (culture isolate)
- การทดสอบการดื้อยาในกลุ่ม SLD (FQs, SLIDs) สามารถตรวจได้จากเสมหะโดยตรง ใช้ได้ดีในรายที่มีผล AFB smear บวก หรือ culture isolate เพื่อตรวจหา pre-XDR-TB หรือ XDR-TB ในกลุ่มที่ตรวจพบ RR/MDR-TB อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถใช้ในการตรวจหา SLD ตัวอื่นแทน phenotypic เช่น cycloserine, linezolid เป็นต้น

การตรวจโดยวิธีอณูชีววิทยาที่สามารถทดสอบความไวต่อยา ไม่ว่าจะเป็นวิธีใดรวมเรียกว่า genotypic DST

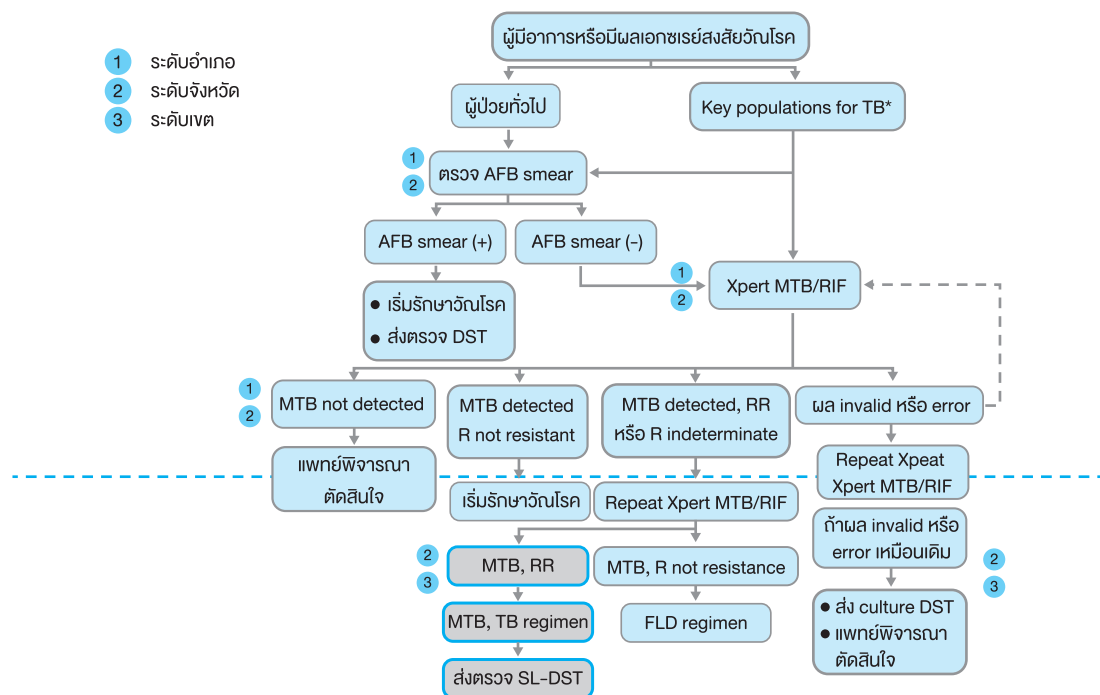
ตารางที่ 2.7 การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคติดต่อด้วยเทคนิคทางโมเลกุล การแปลผล และระยะเวลาการรายงานผล

วิธีการตรวจ		Turnaround time (TAT)	ระดับห้องปฏิบัติการ	การแปลผล	ข้อสังเกต
การตรวจด้วยเทคนิคทางโมเลกุล (Molecular testing)	Xpert MTB/RIF	1-2 วัน	ทุกระดับ ได้แก่ ระดับอำเภอ ระดับจังหวัด ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- MTB not detected - MTB detected; R not Resistant - MTB detected; RR หรือ R indeterminate - ผล invalid หรือ error	- สามารถวินิจฉัยโรคและทดสอบการดื้อยา Rifampicin - ตรวจได้ทั้งเสมหะที่มีผล AFB smear บวกหรือลบ - กลุ่มผู้ป่วยใหม่ที่ไม่มีความเสี่ยง - ดื้อยาอาจพบ false positive ของการดื้อยาต่อ Rifampicin จึงแนะนำให้ตรวจซ้ำ - ไม่สามารถใช้ติดตามการรักษา
	Line probe assay (LPA) for FLDs (FL-LPA)	5-7 วัน	ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- Susceptible - Resistance (INH และ RIF)	- แนะนำให้ตรวจกับเสมหะที่มีผล AFB smear บวก หรือ จากเชื้อที่เพาะขึ้น (culture isolates) - ไม่สามารถใช้ติดตามการรักษา
	Line probe assay (LPA) for SLDs (SL-LPA)	5-7 วัน	ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- Susceptible - Resistance (FOs และ SLIDs)	ตรวจได้กับเสมหะที่มีผล AFB smear บวกหรือลบ
	TB-LAMP	2 วัน	ทุกระดับ ได้แก่ ระดับอำเภอ ระดับจังหวัด ระดับเขต และ ระดับประเทศ	- MTB not detected - MTB detected	วินิจฉัยโรคได้ แต่ไม่สามารถทดสอบดื้อยา

2.4 แนวทางการส่งตรวจวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคดื้อยาทางห้องปฏิบัติการ

2.4.1 แนวทางการตรวจวินิจฉัยวัณโรค

แผนภูมิที่ 2.1 การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรค^[11]



หมายเหตุ * กรณี key populations แนะนำให้ส่งตรวจทั้ง AFB smear และ Xpert MTB/RIF

• ผู้มีอาการหรือมีผลเอกซเรย์สงสัยวัณโรค ในกลุ่มผู้ป่วยทั่วไป ควรส่งเสมหะ 2 ตัวอย่าง ตรวจ AFB smear ถ้าผลเป็นบวก วินิจฉัยวัณโรค ให้เริ่มการรักษาและส่งตรวจ DST แต่ถ้าผล AFB smear เป็นลบ ส่งเสมหะตรวจวิธี Xpert MTB/RIF

• แต่ในกลุ่มเสี่ยงที่เป็น key populations เมื่อสงสัยวัณโรค แนะนำให้ส่งตรวจทั้งวิธี AFB smear และ Xpert MTB/RIF

• ตัวอย่างเสมหะที่ผลตรวจเป็นบวก และมีผลดื้อยา rifampicin (RR) หรือผล R indeterminate แนะนำให้ตรวจยืนยันด้วย Rapid test (Xpert MTB/RIF หรือตรวจด้วยวิธี line probe assay) ซ้ำ

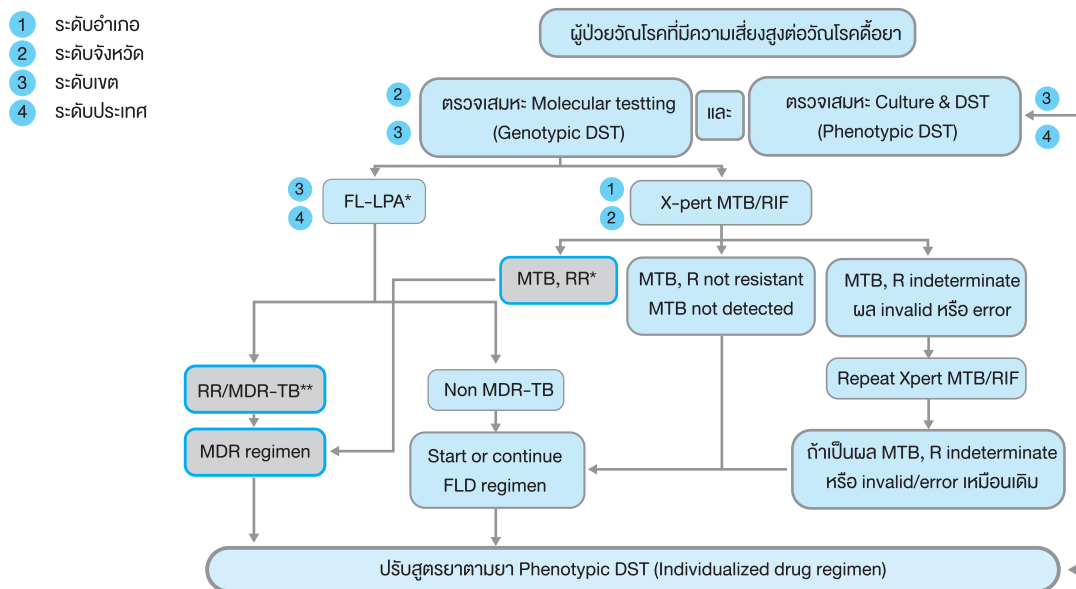
➡ ถ้าผลยืนยันเป็น RR-TB หรือ MDR-TB ควรส่งตรวจ SL-DST และพิจารณาการรักษาด้วยสูตรยาระยะสั้นสำหรับ MDR-TB

➡ ถ้าผลตรวจ Xpert MTB/RIF ซ้ำ ไม่ดื้อยา RIF แนะนำให้รักษาด้วยสูตรยา FLD ก่อน และส่งตรวจเพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบความไวต่อยา (phenotypic DST)

- ถ้าผลการทดสอบเป็น invalid หรือ error ควรตรวจ Xpert MTB/RIF ซ้ำอีกครั้ง กรณีให้ผลเหมือนเดิม ซึ่งแปลผลไม่ได้ ควรส่งตรวจเพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบความไวต่อยา (phenotypic DST)
- สำหรับ FL-LPA แนะนำให้ใช้ตัวอย่างจากเสมหะ AFB smear บวก

2.4.2 แนวทางการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา

แผนภูมิที่ 2.2 การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาในผู้ป่วยวัณโรคที่มีความเสี่ยงสูง^[11]



หมายเหตุ * ตรวจตัวอย่างเสมหะที่มีผล AFB smear บวก

** ส่งตรวจ second-line DST

กลุ่มผู้ป่วยที่เสี่ยงต่อการดื้อยาสูง มีแนวปฏิบัติในการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการดังนี้

- ผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงดื้อยาสูง ได้แก่ผู้ป่วยที่มีประวัติสัมผัสวัณโรคดื้อยา (MDR-TB contact) ผู้ป่วยที่เคยรักษาวัณโรคมาก่อน (previously treated) หรือ ผู้ป่วยที่เสมหะยังคงเป็นบวก เมื่อสิ้นสุดระยะเข้มข้น (non-converters)
- ส่งเสมหะตัวอย่างแรกที่เป็น spot sputum เพื่อตรวจการดื้อยาแบบ genotypic DST โดยพิจารณา ดังนี้

- ➡ ถ้าตัวอย่างเสมหะมีผล AFB smear บวก ให้ส่งตรวจด้วยวิธี line probe assay (LPA) ถ้าผลพบว่าดื้อต่อยา H และ R ให้ตรวจ SL-LPA ทุกสาย ถ้าวินิจฉัย MDR-TB ให้การรักษาด้วย MDR regimen หรือ Shorter MDR regimen แต่ถ้าผลไม่ใช่ MDR-TB ให้รักษาด้วยสูตรยาเดิมต่อไปก่อน (กรณีกำลังรักษา) หรือเริ่มรักษาด้วยสูตรยาแนวที่หนึ่ง

- ➡ สำหรับตัวอย่างเสมหะที่มีผล AFB smear ลบ ให้ส่ง Xpert MTB/RIF ถ้าผลเป็น MTB detected, R resistant สามารถให้การรักษาด้วย MDR regimen ถ้าผลเป็น MTB detected, R not resistant หรือ MTB not detected ให้รักษาด้วยสูตรยาเดิมต่อไปก่อน (กรณีกำลังรักษา) หรือเริ่มรักษาด้วยสูตรยาแนวที่หนึ่งก่อน ถ้าผลเป็น R indeterminate หรือ invalid หรือ error ให้ประสานกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุและส่งเสมหะตรวจ Xpert MTB/RIF ซ้ำ ถ้าผลยังเหมือนเดิมให้รักษาด้วยสูตรยาแนวที่หนึ่ง ปรับยาเมื่อมีผล phenotypic DST
- ส่วนอีกตัวอย่างที่เป็น collected หรือ morning sputum จะส่งเพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบความไวต่อยา (phenotypic DST) แล้วปรับยาตามผล phenotypic DST
 - กรณีที่ผลตรวจพบว่าเป็น RR/MDR-TB แนะนำให้ส่งตรวจทดสอบความไวต่อยาแนวที่ 2 (second-line drug DST: SL-DST) ด้วยเสมอ

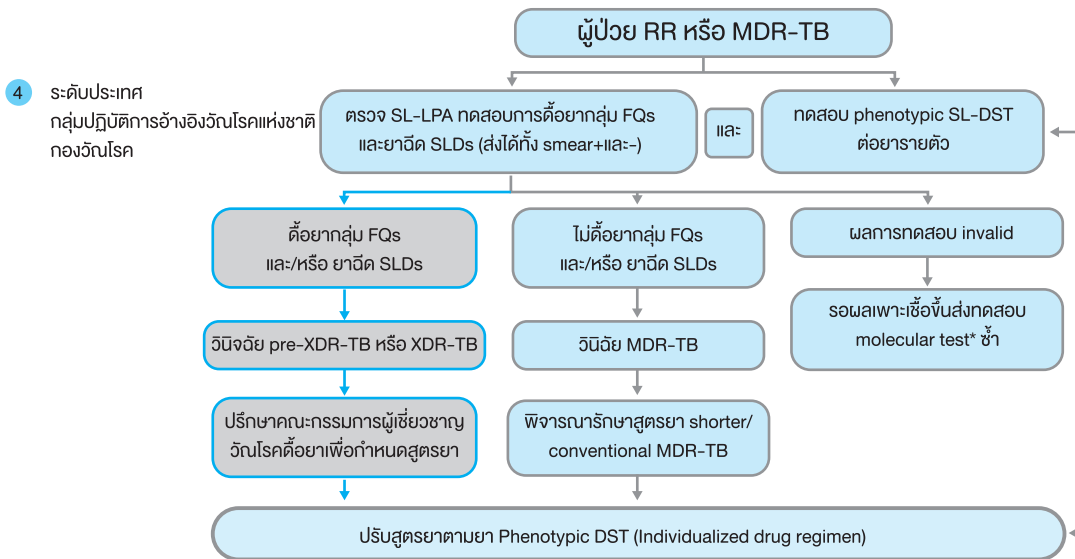
กรณีพบผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น XDR-TB

ให้ห้องปฏิบัติการทำการตรวจทดสอบความไวต่อยาแนวที่สอง (อาจเป็นห้องปฏิบัติการกองวัณโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรค (สคร.) โรงพยาบาล หรือห้องปฏิบัติการของหน่วยงานอื่น ๆ) รายงานผู้บังคับบัญชา และให้แจ้งผลการตรวจฯ ไปยังเจ้าพนักงานควบคุมโรคติดต่อซึ่งเป็นข้าราชการสังกัดกรมควบคุมโรคในราชการบริหารส่วนกลาง และทีมตระหนักรู้สถานการณ์ (situation awareness team, SAT) กรมควบคุมโรค/กองวัณโรค/สคร./สปคม. ภายใน 3 ชั่วโมง และสอดคล้องตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง หลักเกณฑ์และวิธีการแจ้งในกรณีที่มีโรคติดต่ออันตรายโรคติดต่อที่ต้องเฝ้าระวัง หรือโรคระบาดเกิดขึ้น พ.ศ. 2560 รวมทั้งแจ้งห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลที่ส่งส่งตรวจเพื่อทดสอบความไวต่อยาแนวที่สอง

ที่มา: ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ชื่อและอาการสำคัญของโรคติดต่ออันตราย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2561

2.4.3 แนวทางการตรวจทดสอบความไวต่อยา second line

แผนภูมิที่ 2.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบความไวต่อยาแนวที่ 2^[11]



หมายเหตุ * molecular test ที่ตรวจซ้ำ อาจใช้วิธี SL-LPA, real-time PCR หรือ DNA sequencing

- ผู้ป่วยที่มีผลตรวจพบ RR-TB หรือ MDR-TB ทุกราย ควรส่งเสมหะเพิ่มใหม่ 1 ตัวอย่าง เพื่อตรวจ SL-LPA เพื่อทดสอบการดื้อยา FQs และ SLIDs
 - ➡ ถ้าผลดื้อยา FQs และ/หรือ SLIDs วินิจฉัย XDR-TB หรือ pre XDR-TB
 - ➡ ถ้าผลไม่ดื้อยา FQs และ SLIDs เป็นผู้ป่วย MDR-TB ซึ่งสามารถพิจารณาให้การรักษาด้วยสูตรยา shorter MDR-TB ได้
 - ➡ ถ้าผล invalid แนะนำให้ตรวจซ้ำ
- ตรวจ phenotypic SL-DST เพื่อทดสอบยา second line ขนานอื่น ๆ เพื่อปรับสูตรยาให้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย (individualized regimen)

2.5 การตรวจการติดเชื้อวัณโรคโดยตรวจวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝง

การตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเชื้อวัณโรคสามารถวัดได้โดยการวัดปฏิกิริยาของร่างกายเมื่อได้รับสารกระตุ้น หรือวัดสารที่หลั่งออกมาจากเซลล์เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยเชื้อ การทดสอบมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ การทดสอบทูเบอร์คูลินทางผิวหนัง (tuberculin skin test: TST) และตรวจวัดระดับสาร interferon-gamma หลั่งออกมาเพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์เม็ดเลือดขาวได้รับการกระตุ้นจากการติดเชื้อวัณโรค (interferon-gamma release assay: IGRA) ไม่สามารถให้การวินิจฉัยแยกระหว่างการติดเชื้อในร่างกายในระยะแฝง ซึ่งยังไม่เกิดโรค (latent TB infection) กับวัณโรคระยะลุกลาม (active TB) ได้ แต่สำหรับในบางประเทศที่มีอุบัติการณ์ของการเกิดวัณโรคค่อนข้างน้อย และมีการเฝ้าระวังอย่างเข้มงวด มักจะใช้การตรวจนี้เพื่อค้นหาทั้งผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง (Latent TB infection) และ ผู้ป่วยจาก TB reactivation และพิจารณาให้การรักษาทั้งหมด ดังนั้น ในผู้ป่วยบางรายที่ต้องเดินทางไปต่างประเทศอาจต้องเข้ารับการตรวจทดสอบประเภทนี้

หลักการของการตรวจ IGRAs ก็คือ เมื่อบุคคลได้รับเชื้อวัณโรคเข้าสู่ร่างกายจะมีปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อขึ้น โดยเม็ดเลือดขาวในกลุ่ม mononuclear cells จะสร้างสาร interferon-gamma (IFN- γ) ขึ้นตามธรรมชาติ ดังนั้น หากนำเลือดของผู้ที่สงสัยว่าจะได้รับเชื้อวัณโรคมาทำปฏิกิริยากับ antigen ที่เป็นส่วนของเชื้อวัณโรคเข้าไป จะทำให้ mononuclear cells ที่เคยรู้จัก หรือสัมผัสกับเชื้อวัณโรคมาก่อน (sensitized) สามารถสร้างและปล่อยสาร IFN- γ เพิ่มขึ้นในเลือดเมื่อได้รับการกระตุ้นครั้งที่สองและสามารถตรวจวัดได้โดยใช้การตรวจวัดตามหลักการ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เช่น การตรวจด้วย QuantiFERON หรือการนับจำนวนเซลล์คือ T-spot ข้อดีของการตรวจ IGRAs คือ มีความจำเพาะต่อเชื้อ *M. tuberculosis* มากกว่า TST ไม่เกิดผลบวกจากการได้บิซิจีหรือติดเชื้อ NTM ส่วนใหญ่ และเป็นการตรวจเลือดเพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ตาม การทดสอบนี้ก็มีข้อจำกัดคือ ต้องทำการตรวจภายใน 8-30 ชั่วโมงภายหลังจากที่เก็บเลือดตรวจ หากช้ากว่านี้เม็ดเลือดขาวในเลือดอาจตายไปบางส่วน

บรรณานุกรม

- [1] Mcgee P. Morbidity and Mortality Weekly Report Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings , 2005. vol. 54. 2005.
- [2] Laboratory Delection and Identification of Mycobacteria. CLSI guideline M48. 2nd ed. Pennsylvanua: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- [3] World Health Organization. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening 2017:130.
- [4] Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018. doi:1037//0033-2909.126.1.78.
- [5] Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018.
- [6] Systematic screening for active tuberculosis: an operational guide. Geneva: World Health Organization; 2015.
- [7] ElFeky DS, ElShimy A. Evaluation of the diagnostic performance of Anyplex IITM MTB/MDR/XDR Detection assay for detection and antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis from sputum specimens. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2015;4:657–69.
- [8] Causse M, Ruiz P, Gutierrez JB, Vaquero M, Casal M. New AnyplexTM II MTB/MDR/XDR kit for detection of resistance mutations in M. tuberculosis cultures. Int J Tuberc Lung Dis 2015;19:1542–6. doi:10.5588/ijtld.15.0235.
- [9] Pérez-García F, Ruiz-Serrano MJ, López Roa P, Acosta F, Pérez-Lago L, García-De-Viedma D, et al. Diagnostic performance of Anyplex II MTB/MDR/XDR for detection of resistance to first and second line drugs in Mycobacterium tuberculosis. J Microbiol Methods 2017;139:74–8. doi:https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.05.006.
- [10] Hain Lifesciences GmbH Nerhen G. Molecular Genetic Assay for Identification of the M. tuberculosis complex and its Resistance to Rifampicin and Isoniazid from clinical Specimens and Cultivated Samples. Genotype MDRTB plus Version 20 2012.
- [11] สำนักวัณโรค. แนวทางการดำเนินงานควบคุมวัณโรคแห่งชาติ พ.ศ. 2561. 2018.

3.1 ระบบประกันคุณภาพ

ระบบประกันคุณภาพของงานในห้องปฏิบัติการด้านไวรัส ครอบคลุมตั้งแต่ชนิดของสิ่งส่งตรวจ การรับ-ส่งตัวอย่าง กระบวนการตรวจวินิจฉัยไวรัส การแปลผลการทดสอบ และการรายงานผล เพื่อให้มั่นใจว่าห้องปฏิบัติการห้องปฏิบัติการที่มีความสามารถ คุณภาพ และศักยภาพทางห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน

กิจกรรมของระบบประกันคุณภาพควรเป็นส่วนหนึ่งในกระบวนการทำงานตามปกติมีระบบเอกสารตามหลักการบริหารงานคุณภาพ ระเบียบปฏิบัติงาน วิธีปฏิบัติงาน บันทึกคุณภาพ และการจัดการควบคุมเอกสารคุณภาพ สำหรับการตรวจประเมินระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ และการตรวจติดตามคุณภาพ ซึ่งผลการตรวจติดตามเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง เพื่อพัฒนามาตรการแก้ไขและป้องกันข้อบกพร่องของระบบห้องปฏิบัติการ

3.1.1 องค์ประกอบหลักของระบบประกันคุณภาพ^[1]

ระบบประกันคุณภาพประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 8 ด้าน (รูปที่ 3.1) ดังนี้

- (1) สถานที่
- (2) บุคลากร
- (3) เครื่องมือ
- (4) วัสดุอุปกรณ์ และ น้ำยา
- (5) สิ่งส่งตรวจ
- (6) การควบคุมคุณภาพภายใน
- (7) การประเมินคุณภาพภายนอก
- (8) การรายงานผลที่ถูกต้อง และทันเวลา

รูปที่ 3.1 องค์ประกอบหลักของระบบประกันคุณภาพ



3.1.2 กิจกรรมคุณภาพ^[1]

กลไกขับเคลื่อนระบบประคุณภาพในแต่ละองค์ประกอบ ห้องปฏิบัติการควรจัดให้มีกิจกรรมคุณภาพ 8 ข้อ ตามมาตรฐาน ISO15189:2012 ดังต่อไปนี้

(1) การฝึกอบรมและการประเมินความสามารถบุคลากร

- บุคลากรต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดความปลอดภัยทางชีวภาพอย่างเคร่งครัด เช่น การใช้อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment; PPE) และ การทำความสะอาดฆ่าเชื้อในกระบวนการชันสูตรวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ เป็นต้น
- องค์การอนามัยโลกกำหนดให้บุคลากรทางห้องปฏิบัติการ ต้องได้รับการฝึกอบรมและประเมินความสามารถตรวจหาเชื้อ Acid Fast Bacilli ด้วยกล้องจุลทรรศน์ การเพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบความไวต่อยาในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งและเหลว และการตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุลการทดสอบความไวต่อยา

(2) การติดตามการใช้งาน สภาพการใช้งาน และบำรุงรักษาเครื่องมืออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- ติดตามการใช้งาน และสภาพการใช้งานเครื่องมือ ทำให้ตรวจพบความขัดข้องของเครื่องมืออุปกรณ์ได้อย่างรวดเร็ว
- กำหนดตารางการบำรุงรักษาเชิงป้องกัน และการสอบเทียบเครื่องมืออุปกรณ์

(3) การตรวจสอบวิธีการ

- ประเมินความถูกต้องแม่นยำของกระบวนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยการทดสอบวัสดุควบคุมเพื่อยืนยันผลบวก และลบ
- ทวนสอบกระบวนการตรวจ และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

(4) การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (Internal quality control)

- เกณฑ์การพิจารณาหรือปฏิเสธสิ่งส่งตรวจก่อนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
- ควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ วัสดุอุปกรณ์ และน้ำยาที่ใช้ในการตรวจชันสูตร
- การทดสอบวัสดุมาตรฐานพร้อมการตรวจชันสูตรสิ่งส่งตรวจ เพื่อติดตามความถูกต้องแม่นยำของการตรวจทางห้องปฏิบัติการแต่ละครั้ง

(5) การประเมินคุณภาพภายนอกห้องปฏิบัติการ (External quality assessment; EQA) และการทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing; PT) ของการตรวจชันสูตรวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ ดังต่อไปนี้

- การตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ เช่น On-site supervision, Proficiency testing และ Blinded re-checking
- การเพาะเชื้อวัณโรค
- การทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรค
- การตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาด้วยเทคนิคทางโมเลกุล

(6) การตรวจสอบคุณภาพของน้ำยา

- ห้องปฏิบัติการต้องมีขั้นตอนตรวจสอบคุณภาพของน้ำยาชุดใหม่ก่อนใช้สำหรับการตรวจสิ่งส่งตรวจ เพื่อให้มั่นใจในคุณภาพของน้ำยา เนื่องจากสภาวะการขนส่งที่ไม่เหมาะสมอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของน้ำยา

(7) การตรวจสอบ และติดตามตัวบ่งชี้วัดเชิงคุณภาพ

- ห้องปฏิบัติการต้องมีการตรวจติดตามกระบวนการตรวจทางห้องปฏิบัติการตามตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ อย่างเหมาะสมเป็นประจำ
- ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย ตัวชี้วัดด้านทั่วไป และตัวชี้วัดด้านเทคนิค ดังแสดงในตารางที่ 3.1 – ตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.1 ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติด้านทั่วไป และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงาน^[1]

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงาน
การหยุดชะงักของกระบวนการตรวจ 1) การขาดแคลนไม่เพียงพอของวัสดุอุปกรณ์ / น้ำยา 2) เครื่องมือขัดข้องหรือสภาพไม่พร้อมใช้งาน	ห้องปฏิบัติการต้องไม่มีการหยุดชะงัก จากความไม่พร้อมของเครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และ น้ำยา
Turnaround time (TAT)	ร้อยละ 90 ของผลการตรวจเสร็จทันเวลาตามที่กำหนด
รายงานเชิงสถิติของตัวชี้วัดคุณภาพ	ร้อยละ 100 ของการรายงานตรงตามตารางเวลาการดำเนินงาน
ผลการประเมินคุณภาพภายนอกห้องปฏิบัติการ	มากกว่า ร้อยละ 90 ของผลการทดสอบ มีความถูกต้อง
ผลการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ	มากกว่า ร้อยละ 90 ของผลการทดสอบ ตรงตามข้อกำหนด
การปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ	น้อยกว่า ร้อยละ 1 ของสิ่งส่งตรวจ
ประสิทธิภาพของบุคลากร	รายงานผลการปฏิบัติงานประจำเดือนรายบุคคล

ตารางที่ 3.2 ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์^[1]

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (ตรวจหาเชื้อ AFB ด้วย กล้องจุลทรรศน์)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
สัดส่วน AFB-positive จากการตรวจหาเชื้อวัณโรค ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (new and relapse cases)	จำนวน AFB-positive จากการตรวจตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ / จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่ตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์	ประมาณร้อยละ 10

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (ตรวจหาเชื้อ AFB ด้วย กล้องจุลทรรศน์)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
สัดส่วน AFB-positive ที่ตรวจพบ low grade (new and relapses cases)	จำนวนของ AFB-positive ระดับ scanty และ 1+ / จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่ตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์	ร้อยละ 30 – 50
Turnaround time ของตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของ ระยะเวลาในการรายงานผล นับจากวันที่รับ ตัวอย่าง	24 – 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.3 ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานเพาะเชื้อ^[1]

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (การเพาะเชื้อ)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
สัดส่วน culture positive ที่ตรวจ พบ MTB หรือ NTM (new and relapse cases)	จำนวน culture positive ที่ตรวจพบ MTB หรือ NTM / จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่ส่งเพาะเชื้อ	ร้อยละ 15 – 20
สัดส่วน culture positive ที่ตรวจ พบ MTB (new and relapses cases)	จำนวน culture positive ที่ตรวจพบ MTB / จำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมดที่ส่งเพาะเชื้อ	ร้อยละ 10 – 15
สัดส่วน AFB-positive ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ (new and relapses cases)	จำนวนของ AFB-positive ที่ตรวจพบ MTB ด้วย การเพาะเชื้อ / จำนวน AFB-positive ทั้งหมดที่ ส่งเพาะเชื้อ	ร้อยละ 95 – 98 (liquid) ร้อยละ 85 – 90 (solid)
สัดส่วน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการเพาะเชื้อ	จำนวน AFB-negative ที่ตรวจพบ MTB ด้วยการ เพาะเชื้อ / จำนวน AFB-negative ทั้งหมดที่ส่ง เพาะเชื้อ	ร้อยละ 20 – 30
สัดส่วน contaminated culture ซึ่งทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้	จำนวนตัวอย่างที่ส่งเพาะเชื้อที่ถูกกำจัด เนื่องจาก การปนเปื้อนในกระบวนการเพาะเชื้อ / จำนวน ตัวอย่างที่ส่งเพาะเชื้อทั้งหมด	ร้อยละ 8 – 10 (liquid) ร้อยละ 3 – 5 (solid)

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (การเพาะเชื้อ)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
Turnaround time ของตรวจหาเชื้อ วัณโรค ด้วยการเพาะเชื้อ	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของ ระยะเวลาในการรายงานผล นับจากวันที่รับ ตัวอย่าง	Solid media: กรณีเสมหะบวก 3 สัปดาห์กรณีเสมหะ ลบ 4 – 8 สัปดาห์ Liquid media: กรณีเสมหะบวก 8 – 10 วัน กรณีเสมหะลบ 2 – 6 สัปดาห์

ตารางที่ 3.4 ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานทดสอบ
ความไวต่อยา^[1]

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (การเพาะเชื้อ)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
สัดส่วน contaminated culture ที่ พบในการทดสอบความไวต่อยา ซึ่ง ทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้	จำนวนเชื้อวัณโรคที่ส่งทดสอบความไวต่อยาที่ ถูกกำจัด เนื่องจากการปนเปื้อนในกระบวนการ เพาะเชื้อ / จำนวนเชื้อวัณโรคที่ส่งทดสอบความ ไวต่อยา	น้อยกว่า ร้อยละ 3
สัดส่วนตัวอย่างส่งทดสอบความไวต่อ ยาที่ไม่สามารถแปลผลได้ เนื่องจาก เชื้อวัณโรคสายพันธุ์มาตรฐานที่ไวต่อ ยาไม่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มียา	จำนวนตัวอย่างส่งทดสอบความไวต่อยาที่ไม่ สามารถแปลผลได้ เนื่องจากเชื้อวัณโรคสายพันธุ์ มาตรฐานที่ไวต่อยาไม่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มี ยา / จำนวนเชื้อวัณโรคที่ส่งทดสอบความไวต่อยา	น้อยกว่า ร้อยละ 3
Turnaround time ของการทดสอบ ความไวต่อยา	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของ ระยะเวลาในการรายงานผล นับจากวันที่เริ่มเพาะ เชื้อในการทดสอบความไวต่อยา	Solid media: 3 – 4 สัปดาห์ Liquid media: 2 – 3 สัปดาห์
	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของ ระยะเวลาในการรายงานผล โดยนับรวมระยะ เวลาจากวันที่เริ่มเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ	Solid media: 8 – 16 สัปดาห์ Liquid media: 4 – 6 สัปดาห์

ตารางที่ 3.5 ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานตรวจ FL-LPA และ SL-LPA^[1]

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (การตรวจ FL-LPA และ SL-LPA)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
สัดส่วนของตัวอย่างที่แปลผลไม่ได้	จำนวนตัวอย่างที่แปลผลไม่ได้ / จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ส่งตรวจ LPA	น้อยกว่า ร้อยละ 5
Turnaround time ของการตรวจ FL-LPA และ SL-LPA	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของระยะเวลาในการรายงานผล นับจากวันที่รับตัวอย่างสำหรับส่งตรวจ LPA สำหรับการตรวจ indirect LPA ให้นับรวมระยะเวลาการเพาะเชื้อด้วย	5 - 7 วัน

ตารางที่ 3.6 ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพของระบบห้องปฏิบัติการด้านเทคนิค และเป้าหมายผลสัมฤทธิ์ของงานตรวจ Xpert MTB/RIF^[1]

ตัวชี้วัดเชิงคุณภาพ (การตรวจ Xpert MTB/RIF)	คำอธิบาย	เป้าหมายผลสัมฤทธิ์ ของงาน
จำนวน และ สัดส่วนตัวอย่างที่แปลผลไม่ได้ เนื่องจาก errors invalid หรือ no results	- จำนวนตัวอย่างที่แปลผลไม่ได้ เนื่องจาก errors / จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ส่งตรวจ Xpert MTB/RIF - จำนวนตัวอย่างที่แปลผลไม่ได้ เนื่องจาก invalid / จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ส่งตรวจ Xpert MTB/RIF - จำนวนตัวอย่างที่แปลผลไม่ได้ เนื่องจาก no results / จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ส่งตรวจ Xpert MTB/RIF	- น้อยกว่า ร้อยละ 3 - น้อยกว่า ร้อยละ 1 - น้อยกว่า ร้อยละ 1
Turnaround time ของการตรวจ Xpert MTB/RIF	ค่าเฉลี่ย พิสัย (range) และ 90th centile ของระยะเวลาในการรายงานผล นับจากวันที่รับตัวอย่าง	2 – 24 ชั่วโมง

(8) การปรับปรุงคุณภาพอย่างต่อเนื่อง (continuous quality improvement)

การปรับปรุงคุณภาพเป็นการยกระดับมาตรฐานของห้องปฏิบัติให้สูงขึ้น ซึ่งเป็นกิจกรรมที่จะเริ่มทำหลังจากที่ระบบงานมีเอกสารเป็นมาตรฐานการทำงาน และมีระบบการควบคุมคุณภาพแล้ว เพื่อปรับปรุงเปลี่ยนแปลง ซึ่งรวมถึงการพัฒนาสิ่งใหม่ๆ การแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการปฏิบัติงาน กิจกรรมพื้นฐานที่ใช้ในกระบวนการปรับปรุงคุณภาพ ได้แก่ วงจรการควบคุมคุณภาพ Plan – Do – Check – Act



3.2 การพัฒนาบุคลากร

- ทบทวนถึงขั้นตอนการดำเนินการต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ และการให้คำแนะนำเพื่อเพิ่มระดับความปลอดภัย
- สนับสนุนให้บุคลากรได้รับการฝึกอบรมด้านความปลอดภัยทางชีวภาพที่เหมาะสมในทุกระดับ
- สร้างคู่มือความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการวิจัยโรค
- ดำเนินการประเมินความเสี่ยง (risk assessment)
- สร้างคู่มือและการฝึกซ้อมสำหรับกระบวนการกำจัดขยะและของเสียจากห้องปฏิบัติการ
- สนับสนุนช่วยเหลือในการสร้างขั้นตอนการดำเนินงานมาตรฐาน (Standard operating procedures)
- สนับสนุนช่วยเหลือในการสร้างระบบอาชีวอนามัย
- สนับสนุนช่วยเหลือในการออกแบบห้องปฏิบัติการการ และขั้นตอนการดำเนินงานที่ปลอดภัย
- สนับสนุนช่วยเหลือในการเตรียมพร้อมและตอบสนองในภาวะฉุกเฉิน
- จัดการปริมาณงานของห้องปฏิบัติการ หรือของผู้ปฏิบัติงานคนใดคนหนึ่งให้เหมาะสม เพื่อลดโอกาสในการสัมผัสหรือแพร่เชื้อ
- เพิ่มพูนประสบการณ์และระดับความเชี่ยวชาญของบุคลากรในห้องปฏิบัติการ และความสามารถในการควบคุมอันตรายทางชีวภาพที่อาจเกิดขึ้นระหว่างปฏิบัติงาน
- คำนึงถึงระดับภูมิคุ้มกันของบุคลากรห้องปฏิบัติการ เช่น ภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ โรค/หรือภาวะเสี่ยง ภาวะเบาหวาน ผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวี เป็นต้น

3.3 ความปลอดภัยทางชีวภาพ

วัณโรคมีสาเหตุมาจากเชื้อก่อโรคในกลุ่ม *Mycobacterium tuberculosis complex* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเชื้อที่มีความเสี่ยงระดับ 3 เนื่องจากเป็นเชื้อที่ก่อโรครุนแรงในมนุษย์ แพร่กระจายทางเดินหายใจ แต่ยังมียารักษาที่ทำให้หายขาดและวัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดรุนแรงได้บ้าง และระดับความเสี่ยงจะเพิ่มสูงขึ้นหากเป็นเชื้อวัณโรคดื้อยา หรือเชื้อสายพันธุ์ที่มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสูง ดังนั้นการดำเนินการที่เกี่ยวข้อง ทั้งการตรวจวินิจฉัย การดำเนินการในห้องปฏิบัติการ และงานวิจัยเกี่ยวกับเชื้อวัณโรค จึงควรคำนึงถึงระดับความเสี่ยง และควรมีห้องปฏิบัติการที่มีระดับความปลอดภัยทางชีวภาพที่เหมาะสม ส่วนเชื้อ nontuberculous mycobacteria นั้น สปีชีส์ส่วนใหญ่ทั้งหมดถูกจัดอยู่ใน กลุ่มเสี่ยงระดับ 2^[2,3]

ตารางที่ 3.7 ระดับความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับกิจกรรมหรือขั้นตอนการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการวัณโรค^[1]

ระดับความเสี่ยงในห้องปฏิบัติการวัณโรค	กิจกรรมในห้องปฏิบัติการ	การประเมินความเสี่ยง
ความเสี่ยงระดับต่ำ	- การตรวจหาเชื้อทนกรดจากเสมหะ - การเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบหาสารพันธุกรรมในชุดทดสอบแบบตลับ เช่น Xpert MTB/RIF	- มีระดับความเสี่ยงต่ำในการเกิดละอองฝอยจากตัวอย่าง - ความเข้มข้นของเชื้อต่ำหรือมีปริมาณน้อย
ความเสี่ยงระดับปานกลาง	- การเตรียมตัวอย่างสำหรับการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ - การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาจากสิ่งส่งตรวจโดยตรง เช่น การทำ Line probe assay จากตัวอย่างเสมหะที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแล้ว	- มีระดับความเสี่ยงปานกลางในการเกิดละอองฝอยจากตัวอย่าง - ความเข้มข้นของเชื้อต่ำหรือมีปริมาณน้อย
ความเสี่ยงระดับสูง	- กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับเชื้อที่เพาะเลี้ยงแล้ว - การทดสอบความไวของเชื้อต่อยา หรือการทำ Line probe assay จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงแล้ว	- มีระดับความเสี่ยงสูงในการเกิดละอองฝอยจากตัวอย่าง - ความเข้มข้นของเชื้อสูงหรือมีปริมาณมาก

การจัดสร้างห้องปฏิบัติการและจัดการความปลอดภัยและการปฏิบัติงานตามแนวทางปฏิบัติที่ดีเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นอย่างยิ่ง ระบบบริหารจัดการสภาพแวดล้อมในการทำงานที่ปลอดภัย เป็นสิ่งสำคัญเพื่อช่วยสร้างความปลอดภัยให้กับผู้ปฏิบัติงานและเป็นการประกันคุณภาพและประสิทธิภาพของการปฏิบัติงาน และใช้แนวทางด้านความปลอดภัยทางชีวภาพของห้องปฏิบัติการวัณโรคตามรายละเอียดใน “คู่มือความปลอดภัยทางชีวภาพของห้องปฏิบัติการวัณโรคจากองค์การอนามัยโลก” (Tuberculosis laboratory biosafety manual, WHO)^[4]

ห้องปฏิบัติการวัณโรค ในหลาย ๆ ประเทศ รวมทั้งประเทศไทย ยังมีข้อจำกัดหลายด้าน ดังต่อไปนี้

- การจัดการด้านความปลอดภัยและสิ่งแวดล้อมในห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมต่อผู้ปฏิบัติงานและนอกห้องปฏิบัติการรวมถึงชุมชน
- ความท้าทายในเรื่องของการซ่อมบำรุงและตรวจติดตามห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือความปลอดภัย เช่น ตู้ชีวนิรภัย และอุปกรณ์ความปลอดภัยส่วนบุคคลจะต้องมีประจำในห้องปฏิบัติการอย่างเพียงพอและพร้อมใช้อยู่เสมอ
- การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำลายเชื้อวัณโรคด้วย Autoclave และน้ำยาฆ่าเชื้อ

3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการชั้นสูงตัวโรค

ตารางที่ 3.8 อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการชั้นสูงตัวโรค

กลุ่มการปฏิบัติงาน	อุปกรณ์และเครื่องมือ ^[5]
อุปกรณ์ขั้นพื้นฐานในห้องปฏิบัติการชั้นสูงตัวโรค	• Class II Biosafety Cabinet (BSC) • N95, FFP2, or equivalent respirators • Lab gowns and disposable gloves • Sterile, transfer pipettes with graduations marking volume (individually wrapped) • p1000 and p200 pipettes (or equivalent) and sterile aerosol resistant tips • Pencil for labeling slides and permanent marker • Centrifuge with biosafety canisters/lids • Autoclave • Autoclave tape • Spore test for autoclave • Biohazard bags • Tuberculocidal disinfectant and paper towel soaked in appropriate disinfectant • Waste receptacles • Discard bucket with biohazard bag insert, containing appropriate disinfectant
ห้องปฏิบัติการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์	• Microscope slides, frosted at one end, new and clean • Hot plate or slide warmer • Bunsen burner (or spirit lamp) • Sterile loop or disposable applicator stick • Staining sink, staining rack and slide drying rack • Forceps, timer and vortex mixer • Distilled water and wash bottle • Light (bright field) microscope for Ziehl-Neelsen stain • Fluorescent microscope for fluorescent stain • Immersion oil for Ziehl-Neelsen stain • Slide holder and slide storage box • Lens paper and lens cleaning solution • Dark room (for examination under fluorescence)

กลุ่มการปฏิบัติงาน	อุปกรณ์และเครื่องมือ ^[5]
ห้องปฏิบัติการเพาะเชื้อวัณโรคในอาหารเหลว	• MGIT tubes (7 ml), MGIT PANTA and MGIT Growth Supplement • 15 ml tube racks • Sterile serological pipettes (10 or 20 ml) • Pipette aid
ห้องปฏิบัติการเพาะเชื้อวัณโรคในอาหารแข็ง	• Löwenstein-Jensen (LJ) Ogawa M7H10 M7H11 • Sterile loop or disposable applicator stick • Parafilm or plastic wrap • Microscope slides, frosted at one end, new and clean • Sterile distilled water • Incubator
ห้องปฏิบัติการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคในอาหารเหลว	• MGIT tubes, MGIT PANTA, MGIT Growth Supplement and MGIT OADC Enrichment • MGIT PZA medium tubes • BD SIRE MGIT kit reagents and BD Pyrazinamide MGIT kit reagents • BD BACTEC MGIT SIRE and PZA supplement • BBL Middlebrook 7H9 broth • Second-line drug powders • NaOH, for dissolving Gatifloxacin and Ofloxacin, if applicable • AST carrier sets • Sterile distilled/deionized water • McFarland standards (0.5 and 1.0) • Sterile graduated serological pipettes (5 and 10 ml) • Sterile saline • Blood agar plates • Middlebrook 7H9 broth, for preparing inoculum from positive LJ cultures • 16.5 x 128 mm sterile disposable tubes • Sterile disposable loop or applicator stick • Capped sterile tubes containing 2 mm glass beads, for preparing inoculum from LJ • Vortex, analytical balance and weigh boats • Graduated cylinder and Erlenmeyer flask/media bottles • Sterile syringes (10 or 20 ml) and syringe filters (0.22 µm pore size) • 2 ml sterile cryotubes with screw top (polyethylene or polypropylene)

บรรณานุกรม

- [1] World Health Organization. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening 2017:130.
- [2] ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง รายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 พ.ศ. 2560. กระทรวงสาธารณสุข; 2560.
- [3] BIOSAFETY GUIDELINES for Modern Biotechnology แนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่. คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ; 2559.
- [4] World Health Organization. Tuberculosis Laboratory, Biosafety Manual. World Health Organization Publ ISBN 978 92 41504638 2012:1–60. doi:10.1007/SpringerReference_61629.
- [5] Indd C, Stinson KW, Eisenach K, Siddiqi S, Mycobacteriologist C, Nakashima S, et al. global laboratory initiative advancing TB diagnosis Mycobacteriology Laboratory Manual 2014:154.

บทที่ 4

นวัตกรรมด้านห้องปฏิบัติการ เพื่อป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมโรค

ยุทธศาสตร์ที่พัฒนาโดยองค์การอนามัยโลกเพื่อยุติโรคภายในปี ค.ศ.2035 ประกอบด้วยสามเสาหลัก โดยหนึ่งในเสาหลักสำคัญคือ การเร่งรัดวิจัยและนำนวัตกรรมมาใช้ในระบบสาธารณสุขเพื่อยุติโรคในประเทศที่มีโรคจำนวนมาก

ในปี พ.ศ.2560 ประเทศไทยได้จัดทำแผนวิจัยโรคระดับชาติ โดย ศ.เกียรติคุณ นพ.ปิยะสกล สกลสัตยาทร รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข มอบให้ สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข บริหารจัดการแผนวิจัยโรคชาติ และสนับสนุนงบประมาณสำหรับการดำเนินการวิจัยโรคในประเทศไทย โดยแผนวิจัยดังกล่าวเน้นการพัฒนาและประยุกต์ใช้นวัตกรรมในระบบสาธารณสุข เพื่อสนับสนุนแผนปฏิบัติระดับชาติด้านการต่อต้านโรค พ.ศ. 2560-2564

ในบทนี้จะกล่าวถึง นวัตกรรมด้านห้องปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นในประเทศไทย ได้แก่ การวินิจฉัยโรค และโรคระยะแฝง การรักษาโรค การสอบสวนการระบาดของโรค และการนำนวัตกรรมเข้าสู่แผนปฏิบัติการด้านการต่อต้านโรค เพื่อสร้างความรู้ความเข้าใจให้กับห้องปฏิบัติการด้านโรค และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ได้ทราบถึงแนวคิด และแนวทางการประยุกต์ใช้นวัตกรรมที่พัฒนาขึ้น เพื่อป้องกัน ดูแล รักษา และควบคุมโรค ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้ป่วยโรคในประเทศไทย

4.1 นวัตกรรมสำหรับการวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรคระยะแฝง

4.1.1 การตรวจระดับการแสดงออกของยีนในเลือดเพื่อสนับสนุนการวินิจฉัยวัณโรค

ผู้ป่วยวัณโรคบางกลุ่ม ไม่สามารถเก็บตัวอย่างทางคลินิก เช่น เสมหะ หรือ ตัวอย่างชนิดอื่น ๆ จากผู้ป่วย เพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคได้ ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้แก่ ก) ผู้ป่วยวัณโรคเด็ก ข) ผู้ป่วยวัณโรคนอกปอด ค) ผู้ป่วยวัณโรคที่มีภาพรังสีทรวงอกผิดปกติแต่ตรวจไม่พบเชื้อ (กลุ่ม Smear negative) ในกลุ่มผู้ป่วยเหล่านี้ การตรวจด้วยวิธีทางชีวภาพที่ประเมินได้จากตัวอย่างอื่น เช่น ตัวอย่างเลือด หรือ ตัวอย่างน้ำช่องเยื่อหุ้มปอด (Pleural effusion) เป็นหนึ่งในวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยวัณโรค

ในปัจจุบัน การตรวจด้วยวิธีทางชีวภาพที่มีแนวโน้มจะนำมาใช้ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนการวินิจฉัยวัณโรคได้ คือการตรวจด้วยวิธีทางชีวภาพของการแสดงออกของกลุ่มยีนในเลือด ซึ่งพบว่ามีความไวและความจำเพาะสูงในการช่วยวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรค^[1] ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยวัณโรคเสมหะบวก และในกลุ่มผู้ป่วยวัณโรคเสมหะลบแต่เพาะเชื้อวัณโรคขึ้น (smear negative culture positive pulmonary tuberculosis)^[2,3]

การตรวจระดับการแสดงออกของยีนดังกล่าวยังมีประโยชน์สำหรับการวินิจฉัยวัณโรค จากตัวอย่าง น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด (Pleural effusion) ที่ได้จากผู้ป่วยวัณโรคเมื่อเปรียบเทียบกับ pleural effusion จากผู้ป่วยมะเร็ง ซึ่งมีความสามารถในการแยกโรคได้ดีกว่าวิธีมาตรฐานคือการวัดระดับ Adenosine Deaminase Activity (ADA)^[4]

4.1.2 การวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง

การวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง (latent tuberculosis infection; LTBI) เป็นการวินิจฉัยที่อิงการประเมินทางภูมิคุ้มกันวิทยา เพื่อประเมิน Cell mediated immune response ต่อแอนติเจนของเชื้อวัณโรค โดยประเทศไทยแนะนำให้ใช้การประเมินได้สองวิธี คือ การตรวจ tuberculin skin test (TST) และ Interferon gamma releasing assay (IGRA) ซึ่งทั้งสองวิธีเป็นวิธีที่แนะนำโดยองค์การอนามัยโลก

ผู้ป่วยที่ตรวจพบวัณโรคระยะแฝงโดยวิธีตรวจนี้ มีอัตราการดำเนินโรคจากวัณโรคระยะแฝงเป็นวัณโรคระยะกำเริบ (active tuberculosis) ประมาณ 12 รายจาก 1000 รายต่อปี หรือประมาณร้อยละ 1.2 ต่อปี^[5,6] โดยมีความไวในการตรวจทำนายการเป็นวัณโรคประมาณ ร้อยละ 60^[7]

เนื่องจากผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาวัณโรคระยะแฝงด้วย isoniazid preventive treatment (IPT) เป็นระยะเวลา 6-9 เดือน การพิจารณาให้การรักษาดังกล่าว ต้องคำนึงถึงอุบัติการณ์ของ isoniazid monoresistance

ในแต่ละพื้นที่ ความเสี่ยงของการเกิดการติดเชื้อยา isoniazid ในเชื้อวัณโรค นอกจากนี้อัตราการเกิดดับอีกเสบรุนแรงประมาณร้อยละ 0.36 และ ร้อยละ 0.52^[8] ทั้งหมดเป็นผลเสียสำคัญของการรักษาวัณโรคแฝง ผู้ให้การรักษาวัณโรคแฝงต้องประเมินระหว่างประโยชน์ (การป้องกันวัณโรค) กับ ผลเสีย (เพิ่มความเสี่ยงของการเกิดการติดเชื้อยา Isoniazid และภาวะผลข้างเคียงจากการรักษาวัณโรคระยะแฝง) ให้ครอบคลุม

การนำนวัตกรรมที่ช่วยให้ทำนายอัตราการดำเนินโรคของวัณโรคระยะแฝงให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นสูงกว่าร้อยละ 1.2 ต่อปี และลดโอกาสของการเกิดผลเสียให้ต่ำกว่าร้อยละ 0.52 จะทำให้ป้องกันผู้ติดเชื้อวัณโรคแฝงไม่ให้เกิดการดำเนินโรคและการแพร่กระจายของเชื้อวัณโรค ส่งผลให้การควบคุมวัณโรคมีประสิทธิภาพ การรักษาผู้ติดเชื้อวัณโรคแฝงเป็นมาตรการที่จะลดจำนวนผู้ป่วยวัณโรคได้เร็วที่สุด

4.2 นวัตกรรมสำหรับการรักษาวัณโรค

4.2.1 สายพันธุ์วัณโรคในประเทศไทยและผลต่อการรักษาวัณโรค

เชื้อวัณโรคในประเทศไทยประกอบด้วยหลายสายพันธุ์ เนื่องจากประชากรไทยได้รับการฉีดวัคซีนบีซีจี ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียโดยเฉพาะในเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 5 ปี เชื้อวัณโรคที่ระบาดอยู่ในประเทศไทยเป็นเชื้อวัณโรคที่ควบคุมไม่ได้ด้วยการได้รับวัคซีน BCG เชื้อวัณโรคสายพันธุ์ที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศไทยคือ สายพันธุ์ Indo-Oceanic (lineage 1) สายพันธุ์ที่พบได้เป็นอันดับสองคือ สายพันธุ์ East Asian (Lineage 2) ซึ่งประกอบด้วย สายพันธุ์ปักกิ่ง

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการรักษากับสายพันธุ์ของเชื้อวัณโรค พบว่า สายพันธุ์ Indo-Oceanic (lineage 1) เป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงมากกว่าสายพันธุ์อื่น ผู้ป่วยวัณโรคที่ติดเชื้อวัณโรคสายพันธุ์นี้จะมีอัตราการตายสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ประมาณ 2 เท่า ในขณะที่สายพันธุ์ปักกิ่ง สัมพันธ์กับการพบอัตราการดื้อยา และการเกิดกลุ่มก้อน (cluster) ของการติดเชื้อวัณโรค สูงกว่าสายพันธุ์อื่น^[9,10]

4.2.2 การถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อวัณโรคทั้งจีโนม

เชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*; Mtb) มีสายรหัสพันธุกรรมเป็นลักษณะวงกลม (Circular genome) ประกอบไปด้วยกรดนิวคลีอิกเรียงตัวกันความยาวประมาณ 4.4 ล้านโมเลกุล หรือ เรียกว่า ลำดับคู่เบส (base pairs) หรือ ลำดับนิวคลีโอไทด์

ด้วยเทคนิค Next Generation Sequencing หรือ เทคโนโลยีการถอดรหัสพันธุกรรมรุ่นใหม่ ที่มีสมรรถนะในการหาลำดับเบสจำนวนมากในคราวเดียว ทำให้สามารถถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค (Whole genome sequencing of Mtb) ได้ตั้งแต่ 10 ถึง 144 ตัวอย่างในการทดสอบเดียว

การถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค ทำให้ทราบข้อมูลความแตกต่างในลำดับนิวคลีโอไทด์เบสเดี่ยว (Single Nucleotide Polymorphism; SNP) และการเพิ่มขึ้นของนิวคลีโอไทด์ หรือการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ (Insertion/Deletion; Indel) ข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการประเมินการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาต้านวัณโรค ซึ่งครอบคลุมทั้งยาต้านวัณโรคแนวที่ 1 ยาต้านวัณโรคแนวที่ 2 และการตรวจภาวะดื้อยารักษาวัณโรคดื้อยาที่ยังไม่มีชุดตรวจ เช่น ยา PAS, Ethionamide, Bedaquiline และ Delamanid เป็นต้น โดยมีความไวและความจำเพาะต่อการดื้อยา Isoniazid อยู่ที่ร้อยละ 92.8 และ 100 และมีความไวและความจำเพาะต่อการดื้อยา Rifampicin อยู่ที่ร้อยละ 96.2 และ 98.1 ตามลำดับ^[11]

กระบวนการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค ยังต้องพึ่งการเพาะเชื้อวัณโรค เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อวัณโรคให้เพียงพอสำหรับการสกัดสารพันธุกรรม หลังจากได้สารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรคแล้ว กระบวนการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมใช้เวลาในการดำเนินการภายใน 1 สัปดาห์ ข้อมูลความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ สามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อรายงานผลการดื้อยาต้านวัณโรค สายพันธุ์ของเชื้อวัณโรค และกลุ่มเชื้อวัณโรค (Mtb cluster)

ขั้นตอนการถอดรหัสพันธุกรรมของเชื้อวัณโรค ประกอบด้วย 5 ขั้นตอนหลัก (รูปที่ 5.1)

1. การเพาะเชื้อวัณโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Löwenstein–Jensen medium) หรืออาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (MGIT หรือ Middlebrook 7H9)
2. การสกัดสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอของเชื้อวัณโรค
3. การตรวจสอบคุณภาพสารพันธุกรรม และเตรียมชิ้นส่วนสารพันธุกรรม
4. ดำเนินการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค ด้วยเทคโนโลยีการหาลำดับเบสรุ่นใหม่
5. การวิเคราะห์ข้อมูลจากรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมด้วยวิธีทางชีวสารสนเทศ

รูปที่ 4.1 ขั้นตอนการถอดรหัสพันธุกรรมของเชื้อวัณโรค



สำหรับงานเฝ้าระวังการระบาดของเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยาโดยการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรคด้วยเทคโนโลยีการหาลำดับเบสรุ่นใหม่ในประเทศไทย ดำเนินการภายใต้ความร่วมมือระหว่าง กรมควบคุมโรค และ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

4.2.3 เกณฑ์ขงนศษตรรของยาด้านวัณโรค

เนื่องจากยาด้านวัณโรคเป็นยาที่มีการใช้มานาน มีความหลากหลายของระดับยาด้านวัณโรคในประชากร เมื่อใช้สูตรยารักษาวัณโรคซึ่งประกอบด้วยตัวยาหลายชนิดพร้อมกัน เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดภาวะดื้อต่อยาด้านวัณโรค และผลการรักษาล้มเหลวของผู้ป่วยวัณโรค เนื่องจากภาวะระดับยาด้านวัณโรคในเลือดต่ำพบได้บ่อยในผู้ป่วยวัณโรคที่ได้รับยาในขนาดปกติ ในผู้ป่วยที่การดูดซึมของยาด้านวัณโรคไม่ดี หรือ มีโรคร่วม การตรวจวัดระดับยาด้านวัณโรคเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถเป็นประโยชน์สำหรับผู้ป่วยวัณโรค ภาวะเหล่านี้ ได้แก่ ผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรัง ผู้ป่วยโรคตับวาย และ ผู้ป่วยที่ตอบสนองช้าต่อการรักษาวัณโรค^[12-14]

4.2.4 เกณฑ์พันธุศาสตร์เพื่อปรับขนาดยา Isoniazid และป้องกันภาวะตับอักเสบจากยาด้านวัณโรค

ภาวะตับอักเสบจากยาด้านวัณโรค (anti-tuberculosis drug-induced liver injury: DILI) มีความรุนแรง แบ่งออกเป็น ระดับไม่รุนแรง (Mild) ระดับปานกลาง (Moderate) และระดับรุนแรง (Severe) โดยพิจารณาจากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) เริ่มตั้งแต่เพิ่มขึ้นมากกว่าค่าปกติไม่เกิน 2.5 เท่า ถึง มากกว่า 10 เท่า โดยพิจารณาร่วมกับการเกิดอาการตับอักเสบเริ่มตั้งแต่ ไม่มีอาการ ถึง ภาวะตับวายเฉียบพลัน (acute liver failure; ALF) และเสียชีวิต^[15,16]

สาเหตุของหนึ่งของการเกิด DILI เกิดจากระดับยา Isoniazid ที่สูง เนื่องจากยา Isoniazid ถูกย่อยผ่านเอนไซม์ N-Acetyltransferase 2 (NAT2) ซึ่ง NAT2 เป็นยีนที่มีความความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (high genetic diversity) โดยลักษณะพันธุกรรมทำให้แต่ละบุคคลมีลักษณะการทำงานของ NAT2 ที่เฉพาะในแต่ละบุคคล ซึ่งในประชากรสามารถแบ่งลักษณะการทำงานของ NAT2 ได้ 4 รูปแบบ (Acetylator type) ดังนี้

- 1) Rapid Acetylator
- 2) Intermediate Acetylator
- 3) Slow Acetylator
- 4) Ultra-slow Acetylator

ในประเทศไทย ผู้ที่มียีนรูปแบบ Rapid Acetylator พบได้ร้อยละ 20 – 30 และพบผู้ที่มียีนรูปแบบ Slow Acetylator และ Ultra-slow Acetylator ได้อีกร้อยละ 30 – 40 ทำให้คนไทยส่วนใหญ่มีลักษณะการย่อยสลายยา Isoniazid ที่มากเกินไป หรือ น้อยเกินไป

กลุ่ม Rapid Acetylator มีอัตราการย่อยสลายยา Isoniazid โดยเอนไซม์ NAT2 ที่เร็ว ผู้ที่มีลักษณะ NAT2 แบบ Rapid Acetylator เมื่อรับประทานยา Isoniazid จะทำให้ระดับยา Isoniazid ต่ำกว่าค่าวิกฤต และเป็นปัจจัยเสี่ยงที่การรักษาวัณโรคจะล้มเหลว

ในทางกลับกัน กลุ่ม Slow Acetylators และ Ultra-slow Acetylators จะมีอัตราการย่อยสลายยา Isoniazid โดยเอนไซม์ NAT2 ที่ช้ากว่าปกติ ทำให้เกิดการสะสมของยา Isoniazid ซึ่งยาที่สะสมในร่างกาย จะเข้าสู่ปฏิกิริยา Hydrolysis จนได้ออกมาเป็น metabolites หลายชนิดที่เป็นสาเหตุให้เกิดภาวะพิษต่อตับ ในคนไทยพบว่า กลุ่มนี้มีความเสี่ยงเพิ่มขึ้น 8 เท่าที่จะเกิดตับอักเสบจากยาต้านวัณโรค⁽¹⁷⁾

การตรวจจีโนไทป์ของยีน NAT2 ด้วยวิธี Haplotype specific allele specific amplification จาก สารพันธุกรรมที่สกัดได้จากตัวอย่างเลือด หรือ ตัวอย่างชนิดอื่นของผู้ป่วยแต่ละราย มีต้นทุนที่เหมาะสมสำหรับการให้การตรวจในระดับประเทศ และวิธีการตรวจไม่ซับซ้อน สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการทางอณูชีววิทยา และพันธุศาสตร์ในระดับจังหวัด ระดับภูมิภาค หรือระดับเขต

4.3 นวัตกรรมสำหรับการสอบสวนวัณโรคระบาด

4.3.1 การถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรคและการสอบสวนผู้สัมผัส

ข้อมูลรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค ใช้จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมได้ในระดับนิวคลีโอไทด์ จากการศึกษาในประเทศอังกฤษ พบว่าเชื้อวัณโรคที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างกันไม่เกิน 12 SNPs (ลำดับเบสเดียว) แสดงความเป็นไปได้ของการเชื่อมโยงทางระบาดวิทยาเชิงโมเลกุล^[18] ซึ่งจะเป็นข้อมูลสนับสนุนการวิเคราะห์กลุ่มก้อน (cluster analysis) ของผู้ป่วยวัณโรค การค้นหาเส้นทางและแหล่งแพร่กระจายของเชื้อวัณโรค นำไปสู่มาตรการป้องกันการระบาดที่ตรงกลุ่มประชากร ติดตามสถานการณ์ระบาดของวัณโรค โดยการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรค เพื่อติดตามจำนวนผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ที่เกิดจากเชื้อวัณโรคสายพันธุ์ที่เคยเป็นสาเหตุของการระบาดของวัณโรคในพื้นที่ เช่น ในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อวัณโรคคือยารุนแรงและวัณโรคคือยารุนแรงมาก เพื่อตัดวงจรการระบาดให้รวดเร็ว โดยปัจจุบันประเทศอังกฤษทำการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมของเชื้อวัณโรคในผู้ป่วยวัณโรคทุกราย เพื่อการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของวัณโรคและวัณโรคดื้อยา

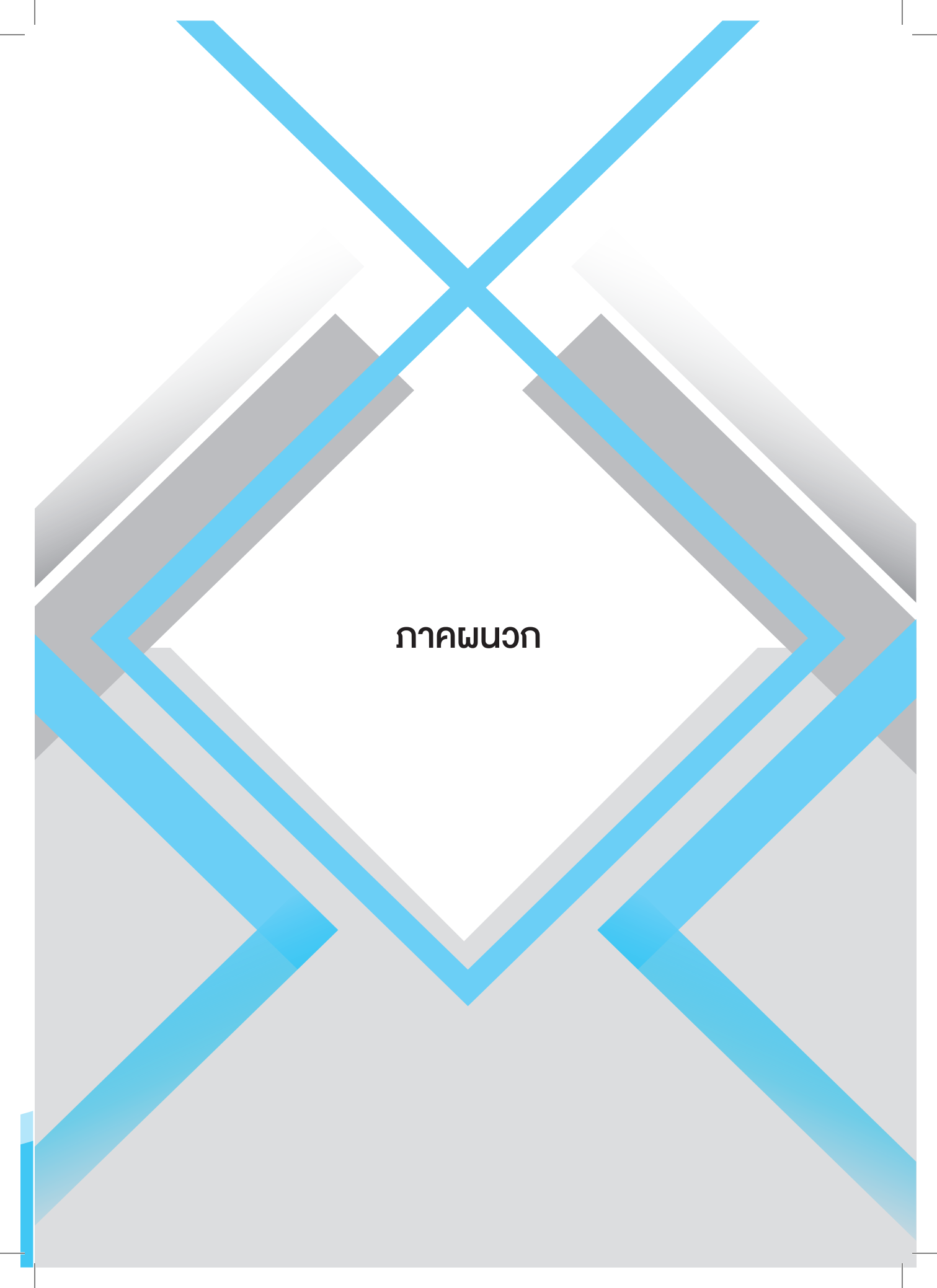
4.4 แนวทางการนำนวัตกรรมเข้าสู่แผนปฏิบัติการด้านการต่อต้านวัณโรค

นวัตกรรมทางการแพทย์ที่ได้พัฒนาขึ้น จำเป็นจะต้องถูกประเมินประสิทธิภาพ ความคุ้มค่า และ ความเป็นไปได้ในการตรวจระดับประเทศ ก่อนที่จะถูกนำไปใช้ในระบบสาธารณสุข ประเทศไทยมีแนวทางในการนำนวัตกรรมเข้าไปใช้ในระบบสาธารณสุข ผ่านการพิจารณาชุดสิทธิประโยชน์ของกองทุนหลักประกันสุขภาพ ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญสำหรับการนำนวัตกรรมเข้าสู่ระบบสาธารณสุข นอกจากการสนับสนุนด้านงบประมาณ แล้ว ยังต้องมีการเตรียมบุคลากรให้พร้อมสำหรับ การนำนวัตกรรมมาใช้ในระบบสาธารณสุข ควรต้องมีการปรับแนวทางทางการแพทย์ สำหรับผู้ป่วยวัณโรคอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ผู้ป่วยวัณโรคได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง รวดเร็ว และปลอดภัย

ប្រសិទ្ធភាព

- [1] Zak DE, Penn-Nicholson A, Scriba TJ, Thompson E, Suliman S, Amon LM, et al. A blood RNA signature for tuberculosis disease risk: a prospective cohort study. *Lancet* 2016;387:2312–22. doi:10.1016/S0140-6736(15)01316-1.
- [2] Satproedprai N, Wichukchinda N, Suphankong S, Inunchot W, Kuntima T, Kumpeerasart S, et al. Diagnostic value of blood gene expression signatures in active tuberculosis in Thais: a pilot study. *Genes Immun* 2015;16:253.
- [3] Maertzdorf J, Repsilber D, Parida SK, Stanley K, Roberts T, Black G, et al. Human gene expression profiles of susceptibility and resistance in tuberculosis. *Genes Immun* 2011;12:15–22. doi:10.1038/gene.2010.51.
- [4] Luekitinun N, Mahasirimongkol S, Satproedprai N, Miyahara R, Kawkitinarong K, Chulalongkorn K, et al. The Pleural and blood gene expression level of GBP5 and STAT1 associated with pleural tuberculosis. n.d.;1.
- [5] Abubakar I, Drobniewski F, Southern J, Sitch AJ, Jackson C, Lipman M, et al. Prognostic value of interferon- γ release assays and tuberculin skin test in predicting the development of active tuberculosis (UK PREDICT TB): a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2018;18:1077–87. doi:10.1016/S1473-3099(18)30355-4.
- [6] Zenner D, Loutet MG, Harris R, Wilson S, Ormerod LP. Evaluating 17 years of latent tuberculosis infection screening in north-west England: a retrospective cohort study of reactivation. *Eur Respir J* 2017;50. doi:10.1183/13993003.02505-2016.
- [7] Drain PK, Bajema KL, Dowdy D, Dheda K, Naidoo K, Schumacher SG, et al. Incipient and subclinical tuberculosis: A clinical review of early stages and progression of infection. *Clin Microbiol Rev* 2018;31:1–24. doi:10.1128/CMR.00021-18.
- [8] Diel R, Schaberg T, Loddenkemper R, Welte T, Nienhaus A. Enhanced cost-benefit analysis of strategies for LTBI screening and INH chemoprevention in Germany. *Respir Med* 2009;103:1838–53. doi:10.1016/j.rmed.2009.07.008.
- [9] Liu Y, Zhang X, Zhang Y, Sun Y, Yao C, Wang W, et al. Characterization of Mycobacterium tuberculosis strains in Beijing, China: Drug susceptibility phenotypes and Beijing genotype family transmission. *BMC Infect Dis* 2018;18:1–10. doi:10.1186/s12879-018-3578-7.

- [10] Feyisa SG, Abdurahman AA, Jimma W, Chaka EE, Kardan-Yamchi J, Kazemian H. Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* strains to Rifampicin: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon* 2019;5:e01081. doi:10.1016/j.heliyon.2018.e01081.
- [11] Coll F, McNerney R, Preston MD, Guerra-Assunção JA, Warry A, Hill-Cawthorne G, et al. Rapid determination of anti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences. *Genome Med* 2015;7:1–10. doi:10.1186/s13073-015-0164-0.
- [12] World Health Organization. Technical report on the pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. 2018:63.
- [13] Pasipanodya J, Gumbo T. An Oracle: Antituberculosis Pharmacokinetics-Pharmacodynamics, Clinical Correlation, and Clinical Trial Simulations To Predict the Future. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:24 LP – 34. doi:10.1128/AAC.00749-10.
- [14] Peloquin C. Use of Therapeutic Drug Monitoring in Tuberculosis Patients. *Chest* 2005;126:1722–4. doi:10.1378/chest.126.6.1722.
- [15] Saukkonen JJ, Cohn DL, Jasmer RM, Schenker S, Jereb JA, Nolan CM, et al. An official ATS statement: Hepatotoxicity of antituberculosis therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:935–52. doi:10.1164/rccm.200510-1666ST.
- [16] Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, De Lange WCM, Van Der Ven AJAM, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:192–202. doi:10.1111/j.1440-1746.2007.05207.x.
- [17] Wattanapokayakit S, Mushiroda T, Yanai H, Wichukchinda N, Chuchottawon C. NAT2 slow acetylator associated with anti-tuberculosis drug- induced liver injury in Thai patients 2016;20:1364–9.
- [18] Walker TM, Ip CLC, Harrell RH, Evans JT, Kapatai G, Dedicoat MJ, et al. Whole-genome sequencing to delineate *Mycobacterium tuberculosis* outbreaks: A retrospective observational study. *Lancet Infect Dis* 2013;13:137–46. doi:10.1016/S1473-3099(12)70277-3.



ກາດຟນວກ

ภาคผนวก 1 รายชื่อห้องปฏิบัติการด้านวัณโรคและวิธีการตรวจ

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods					Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid	IGRAs		
1.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่		✓	✓	✓		✓	REBA	✓	✓		✓				0 5327 6364
2.	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (RIHES)		✓													0 5393 6148
3.	โรงพยาบาลสันทราย จังหวัดเชียงใหม่		✓													0 5392 1199
4.	โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่		✓						✓	✓	✓					0 5393 6150
5.	โรงพยาบาลฝาง จังหวัดเชียงใหม่		✓						✓	✓						0 5345 1144
6.	ศูนย์บริการคณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่								✓	✓	✓					0 5393 6027
7.	โรงพยาบาลศรีสะเกษ จังหวัดมโนรมย์		✓						✓	✓	✓					0 5568 2030
8.	โรงพยาบาลแพร่		✓						✓	✓						0 5453 3500
9.	โรงพยาบาลน่าน		✓						✓	✓						0 5471 0138
10.	โรงพยาบาลลำปาง		✓						✓	✓						0 5423 7400
11.	โรงพยาบาลลำพูน		✓						✓	✓						0 5356 9100
12.	โรงพยาบาลเชียงคำ จังหวัดพะเยา		✓													0 5440 9000

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods					Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	SLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid		
13.	โรงพยาบาลเชียงรายประชานุเคราะห์ จังหวัดเชียงราย		✓		REBA			REBA	✓	✓						0 5391 0600
14.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก		✓	✓	✓		✓	REBA	✓	✓	✓		✓			0 5521 4615
15.	โรงพยาบาลพุทธชินราช จังหวัดพิษณุโลก		✓													0 5527 0300
16.	โรงพยาบาลเพชรบูรณ์		✓													0 5671 7600
17.	โรงพยาบาลแม่สอด จังหวัดตาก		✓						✓	✓						0 5554 2337
18.	โรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าตากสินมหาราช จังหวัดตาก		✓													0 5551 6332
19.	Shoklo Malaria Research Unit (SMRU) จังหวัดแม่ฮ่องสอน		✓													0 5553 2026
20.	โรงพยาบาลสุโขทัย		✓													0 5561 0586
21.	โรงพยาบาลอุตรดิตถ์		✓													0 5583 2601
22.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓			0 5622 1822
23.	โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ จังหวัดนครสวรรค์		✓	✓												0 5621 9888

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods				Immunology Methods	เบอร์ดิตต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid		
24.	โรงพยาบาลกำแพงเพชร		✓												0 5502 2000
25.	โรงพยาบาลอุทัยธานี		✓												0 5651 1081
26.	โรงพยาบาลพิจิตร		✓												0 5661 1230
27.	โรงพยาบาลชัยนาทนเรนทร จังหวัดชัยนาท		✓												0 5641 1055
28.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 4 จังหวัดสระบุรี		✓	✓	✓		✓		✓	✓	✓	✓			0 3623 9302
29.	โรงพยาบาลสระบุรี		✓												0 3634 3500
30.	โรงพยาบาลพยุหะคีรี		✓												0 2598 8888
31.	โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา		✓												0 3521 1888
32.	โรงพยาบาลพระนั่งเกล้า จังหวัดนนทบุรี		✓												0 2528 4567
33.	สถาบันบำราศนราดูร จังหวัดนนทบุรี		✓						✓	✓	✓				0 2951 1171
34.	สถาบันโรคทรวงอก จังหวัดนนทบุรี		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		0 2547 0999
35.	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์		✓	✓				✓	✓	✓	✓			✓	0 2951 0000
36.	โรงพยาบาลนครนายก		✓												0 3731 1151

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods				Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif/Xpert-MTB/Rif (Ultra)	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid		
37.	โรงพยาบาลสิงห์บุรี		✓												0 3652 2507
38.	โรงพยาบาลอ่างทอง		✓												0 3561 5111
39.	โรงพยาบาลพระนารายณ์ จังหวัดลพบุรี		✓												0 3675 8444
40.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 5 จังหวัดลพบุรี		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓		✓			0 3231 0761
41.	โรงพยาบาลราชบุรี		✓							✓					0 3271 9600
42.	โรงพยาบาลห้วยผาคูหนองเสนา จังหวัดกาญจนบุรี		✓												0 3458 7800
43.	โรงพยาบาลมะการักษ์ จังหวัดกาญจนบุรี		✓												0 3454 2031
44.	โรงพยาบาลสมุทรสาคร		✓							✓					0 3442 7099
45.	โรงพยาบาลนครปฐม		✓	✓						✓					0 3425 4154
46.	โรงพยาบาลพระจอมเกล้า จังหวัดเพชรบุรี		✓												0 3270 9999
47.	โรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์		✓												0 3260 1060
48.	โรงพยาบาลพระยารามราช จังหวัดสุพรรณบุรี		✓							✓					0 3551 4999
49.	โรงพยาบาลสมเด็จพระพุทธเลิศหล้า จังหวัดสมุทรสงคราม		✓												0 3471 4200

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods				Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	SLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid	
50.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดชลบุรี		✓	✓	✓		✓		✓	✓	✓		✓		0 3827 1881-2
51.	โรงพยาบาลชลบุรี		✓						✓	✓	✓				0 3826 0970
52.	โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย			✓											0 3832 0200
53.	โรงพยาบาลสมุทรปราการ		✓												0 2361 8052
54.	โรงพยาบาลตราด		✓							✓					0 3951 1040
55.	โรงพยาบาลระยอง		✓							✓					0 3861 1104
56.	โรงพยาบาลสระแก้ว		✓												0 3724 3018
57.	โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรี		✓												0 3721 1088
58.	โรงพยาบาลพุทธโสธร จังหวัดฉะเชิงเทรา		✓												0 3881 4375
59.	โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี		✓							✓					0 3931 9666
60.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 7 จังหวัดขอนแก่น		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓		0 4322 2818-9
61.	โรงพยาบาลกาฬสินธุ์		✓												0 4382 1769
62.	โรงพยาบาลร้อยเอ็ด		✓												0 4351 8200

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods					Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	SLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid		
63.	โรงพยาบาลมหาสารคาม		✓													0 4371 1750
64.	โรงพยาบาลขอนแก่น		✓	✓	✓		✓	✓								0 4323 2555
65.	โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น		✓	✓					✓	✓	✓				✓	0 4334 8888
66.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 8 จังหวัดอุดรธานี*															0 4222 2193
67.	โรงพยาบาลอุดรธานี		✓													0 4224 5555
68.	โรงพยาบาลนครพนม		✓													0 4251 1422
69.	โรงพยาบาลสกลนคร		✓													0 4271 1615
70.	โรงพยาบาลหนองคาย		✓													0 4241 3456
71.	โรงพยาบาลเลย		✓													0 4286 2123
72.	โรงพยาบาลหนองบัวลำภู		✓													0 4231 1999
73.	โรงพยาบาลบึงกาฬ		✓													0 4249 1161
74.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 จังหวัดนครราชสีมา		✓		✓		✓		✓	✓			✓			0 4421 2900
75.	โรงพยาบาลชัยภูมิ		✓													0 4483 7108
76.	โรงพยาบาลสุรินทร์		✓													0 4451 1757
77.	โรงพยาบาลบุรีรัมย์		✓													0 4461 5002

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods					Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	SLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid		
78.	โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครราชสีมา		✓	✓					✓	✓	✓					0 4423 5000
79	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 จังหวัดอุบลราชธานี		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓			0 4525 5934
80.	โรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ จังหวัดอุบลราชธานี							REBA								0 4531 9200
81.	โรงพยาบาลมุกดาหาร		✓													0 4261 1285
82.	โรงพยาบาลอำนาจเจริญ		✓													0 4551 1940
83.	โรงพยาบาลยโสธร		✓													0 4571 4042
84.	โรงพยาบาลศรีสะเกษ		✓													0 4561 1503
85.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 จังหวัดนครราชสีมา		✓	✓	✓		✓	REBA	✓	✓	✓		✓			0 7534 1147
86.	โรงพยาบาลพระเทพรัตนดลรัตน์		✓													0 7750 3672
87.	โรงพยาบาลระนอง		✓													0 7781 2630
88.	โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี		✓							✓						0 7791 5600
89.	โรงพยาบาลวิบูลย์		✓						✓	✓	✓					0 7636 1234
90.	โรงพยาบาลพังงา		✓							✓						0 7641 4145
91	โรงพยาบาลกระบี่		✓													0 7562 6700
92.	โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครราชสีมา		✓													0 7534 0250

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods				Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	SLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid	
93.	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา (ศูนย์โรคเขตจังหวัดยะลา)		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓		0 7433 6079-81
94.	โรงพยาบาลสงขลา		✓							✓					0 7433 8100
95.	โรงพยาบาลหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา		✓						✓	✓	✓				0 7427 3100
96.	คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์			✓					✓	✓	✓				0 7445 5000
97.	โรงพยาบาลนราธิวาสราชนครินทร์		✓												0 7351 0997-9
98.	โรงพยาบาลปัตตานี		✓												0 7331 2565
99.	โรงพยาบาลพัทลุง		✓												0 7460 9500
100.	โรงพยาบาลตรัง		✓												0 7520 1500
101.	โรงพยาบาลสตูล		✓												0 7472 3500
102.	สถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง จังหวัดกรุงเทพมหานคร		✓		✓		✓		✓	✓	✓		✓		0 2972 9609
103.	กองโรค	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0 2212 2279
104.	สำนักศูนย์ยุทธศาสตร์สุขภาพ สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร		✓		REBA			REBA	✓	✓	✓				0 2294 2885
105.	โรงพยาบาลนพรัตนราชธานี		✓												0 2517 4270

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods				Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	SLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid	
106.	โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า		✓	✓				REBA	✓	✓	✓			✓	0 2763 9300
107.	โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓			✓	0 2256 4000
108.	โรงพยาบาลศิริราช		✓	✓					✓	✓	✓		✓	✓	0 2419 7000
109.	โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช								✓	✓	✓				0 2534 7000
110.	หน่วยวิจัยโรคเขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล								✓	✓					
111.	โรงพยาบาลรามคำแหง			✓					✓	✓	✓			✓	0 2201 1000
112.	โรงพยาบาลตากสิน		✓												0 2437 0123
113.	โรงพยาบาลราชวิถี			✓				REBA		✓					0 2354 8108
114.	โรงพยาบาลเลิดสิน		✓												0 2353 9800
115.	สถาบันสุขภาพเด็กมหารัชนี			✓											
116.	ไบโอโมเลกุลาร์แลบ โรงพยาบาลกรุงเทพ			✓											
117.	บริษัท กรุ๊ป พยาธิแลบ			✓					✓	✓					0 2619 2909
118.	โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์			✓					✓	✓				✓	0 2066 8888
119.	โรงพยาบาลรามคำแหง													✓	0 2743 9999
120.	โรงพยาบาลประสาธน์มิตร								✓	✓			✓		0 2279 9519
121.	โรงพยาบาลนครินทร์		✓												0 2450 9999

ลำดับ	หน่วยงาน	Genotypic Methods								Phenotypic Methods					Immunology Methods	เบอร์ติดต่อ
		TB-LAMP	Xpert-MTB/Rif	RT-PCR	FL-LPA	PZA-LPA	SL-LPA	Identify Mycobacterium species (LPA)	Culture by MGIT 960	Culture by Solid	FLDST by MGIT 960	FLDST by MGIT 960	FLDST by Solid	SLDST by Solid		
122.	โรงพยาบาลเวชธานี		✓													0 2734 0000
123.	โรงพยาบาลศิษย์ยุทธ		✓													0 2265 7777
124.	โรงพยาบาลพญา		✓													0 3810 3900
125.	ศูนย์แลเอกชน โปรแล็บ อินเทอร์เน็ต														✓	
126.	บริษัท เจเนอรัลโซลูชันส์ เอ็นเตอร์ไพรส์								✓	✓	✓					
127.	ห้องปฏิบัติการ บริษัท เมชั่นแนล เฮลท์ ซิสเต็มส์ จำกัด (NHealth)								✓	✓	✓				✓	
128.	ห้องปฏิบัติการการระหว่างประเทศเพื่อการโยกย้ายถิ่น (IOM)		✓						✓	✓	✓				✓	
จำนวนหน่วยตรวจ		1	111	28	Hain 17 REBA 2	1	17	Hain 10 REBA 10	40	56	33	1	16	3	12	

หมายเหตุ: ข้อมูล ณ วันที่ 31 สิงหาคม พ.ศ. 2562 ข้อมูลที่แสดงในตารางเป็นข้อมูลของวิธีการตรวจที่มีในหน่วยงานต่างๆ เท่านั้น โดยไม่มีข้อมูลว่าหน่วยงานไหนได้ผ่านการรับรองมาตรฐานของ ISO 15189 หรือมาตรฐานอื่นๆ

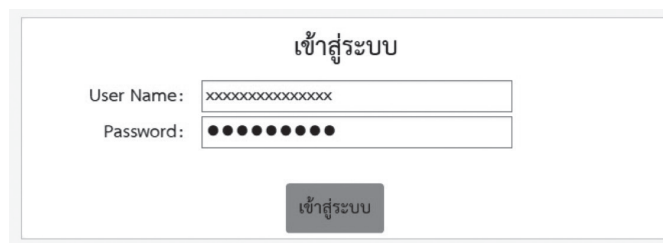
*ส่งตรวจที่สคร.7

ภาคผนวก 2

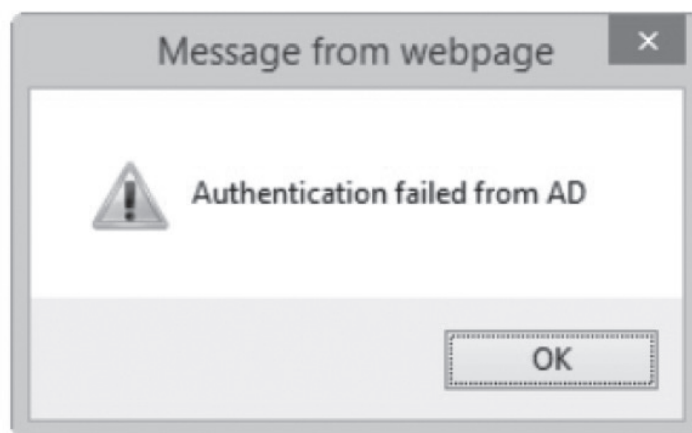
การลงทะเบียนส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการผ่านระบบออนไลน์ National Tuberculosis Information Program (NTIP)

1. การลงทะเบียน และการเข้าใช้งานโปรแกรม NTIP

- 1.1 เข้าโปรแกรม NTIP ที่ tbcmtailand.ddc.moph.go.th
- 1.2 สมัครสมาชิก ที่ https://tbcmtailand.net/uiform/User_Request.aspx
- 1.3 เมื่อระบบยืนยันการสมัครแล้ว สามารถเข้าสู่ระบบโดยการใส่ User Name และ Password จากนั้นกดปุ่ม “เข้าสู่ระบบ”



- 1.4 กรณี User Name หรือ password ไม่ถูกต้อง ระบบจะแสดงข้อความแจ้งว่า “Authentication failed from AD”



- 1.5 กดปุ่ม “OK” และตรวจสอบ User Name /password ว่าถูกต้องหรือไม่ ก่อนทำการเข้าสู่ระบบใหม่อีกครั้ง กรณีระบบตรวจสอบ User Name และ Password ผ่าน ระบบจะนำเข้าสู่หน้าหลักของระบบบริหารงานคลินิกวัณโรค

2.6 ลงข้อมูล (2) ข้อมูลทะเบียนขั้นสูตร ลงข้อมูลสาเหตุการตรวจ, LAB Number และวันที่เก็บให้ครบถ้วน

2.7 เลือกการทดสอบที่เก็บ ได้แก่ การตรวจ Smear, Molecular, Xpert MTB/RIF, Culture และ DST

2.8 เมื่อเลือกการทดสอบแล้วให้ลงข้อมูลให้ครบถ้วน กดบันทึกข้อมูล

3. การบันทึกผลการทดสอบทางด้านวัณโรค

3.1 กดเลือกรายการ ทะเบียนชั้นสูตร

3.2 เลือกหัวข้อ รายการตรวจ จะพบรายละเอียดของผู้ป่วย คือ ชื่อ-นามสกุล เลขบัตรประชาชน วันที่ส่ง หน่วยส่งตรวจ ประเภท Lab สถานะ (รอตรวจ, ปฏิเสธการตรวจ, ตรวจแล้ว)

3.3 การบันทึกผลการทดสอบในแต่ละ test ให้ทำการค้นหาผู้ป่วย เพื่อต่อการบันทึกผล คือ

3.3.1 สามารถค้นหาจาก จังหวัด หน่วยส่งตรวจ ชื่อ-สกุล เลขบัตรประชาชน วันที่เก็บสิ่งส่งตรวจ

3.3.2 ค้นหาประเภท Lab เลือก ที่ช่องประเภท Lab จะมีรายการตรวจ CULTURE DST MOLECULAR (LPA) XPERT MTB/RIF ซึ่งผู้ใช้งานสามารถเลือกรายการตรวจตามที่ต้องการบันทึกผลการทดสอบ และสามารถเลือกสถานะการตรวจได้

The screenshot displays the TBCM Case Management System interface. On the left, there is a sidebar with navigation options: 'หน้าหลัก' (Home), 'ทะเบียนชั้นสูตร' (Form Registry), 'รายการตรวจ' (Test List), 'ทะเบียนวัณโรค' (Tuberculosis Registry), 'ผู้สัมผัส/กลุ่มเสี่ยง' (Contacts/Risk Groups), 'กำกับกรวินา (รพด.)' (Supervision (RPHD)), and 'ผู้สัมผัส/กลุ่มเสี่ยง' (Contacts/Risk Groups). The main area shows the 'รายการตรวจ LAB' (LAB Test List) form. The form includes fields for 'จังหวัด' (Province), 'หน่วยส่งตรวจ' (Referring Unit), 'ชื่อ-สกุล' (Name-Surname), and 'เลขบัตรประชาชน' (ID Number). Below these fields is a 'ค้นหา' (Search) button. The form also has a section for 'ประเภท LAB' (LAB Type) with a dropdown menu and a 'เลือกประเภทการตรวจ' (Select Test Type) dropdown. At the bottom, there is a table with columns: 'ลำดับ' (Sequence), 'ชื่อ - นามสกุลผู้ป่วย' (Patient Name-Surname), 'เลขบัตรประชาชน' (ID Number), 'วันที่ส่ง' (Date of Referral), 'หน่วยส่งตรวจ' (Referring Unit), 'ประเภท Lab' (LAB Type), 'สถานะ' (Status), 'เดิมตรวจ' (Previous Test), and 'ปฏิเสธ' (Refuse). The table shows one entry for 'Xpert MTB/RIF' with a status of 'รอตรวจ' (Waiting for test).

3.4 เมื่อพบผู้ป่วยที่ต้องการบันทึกผล ให้เลือกรายการ เพิ่มผลตรวจ หรือสามารถเลือกปฏิเสธการตรวจ ได้การบันทึกผลการทดสอบ (ทุกรายการทดสอบสามารถ print ใบส่งตรวจ, print ใบตอบผล)

3.5 การบันทึกผลการทดสอบสำหรับรายการตรวจ Culture ให้บันทึก Culture Number วันที่รับ วันที่ตรวจ วันที่รายงาน เทคนิคการตรวจ ผลการทดสอบ identify จากนั้นเลือกบันทึกข้อมูลเพื่อบันทึกผลลงในระบบ

เพิ่มข้อมูลตรวจ CULTURE- หน่วยส่งตรวจ (นพรัตนราชธานี,รพ.) Lab number หน่วยส่งตรวจ(62000813)
วันที่เก็บ(18/01/2562) วันที่ส่ง(23/01/2562)

ชื่อ-สกุลผู้ป่วย: นคร สมมัน เลขประจำตัวประชาชน: 3310600059270 สาเหตุการตรวจ: วินิจฉัย TB

Culture Number Lab No.
วันที่รับ วว/คต/ปปป วันที่ตรวจ วว/คต/ปปป วันที่รายงาน วว/คต/ปปป
เทคนิคตรวจ --เลือก-- ผล --เลือก-- Identify --เลือก--

บันทึกข้อมูล ปิด

3.6 การบันทึกผลการทดสอบสำหรับรายการตรวจ DST ให้บันทึก DST Number วันที่รับ วันที่ตรวจ วันที่ออกผล เทคนิคการตรวจ ผลการทดสอบ DST สามารถทดสอบได้ทั้ง FLDจากนั้นเลือกบันทึกข้อมูลเพื่อบันทึกผลลงในระบบ

เพิ่มข้อมูลตรวจ DST- หน่วยส่งตรวจ Lab number หน่วยส่งตรวจ
วันที่เก็บ(14/02/2561) วันที่ส่ง(14/02/2561)

ชื่อ-สกุลผู้ป่วย: เลขประจำตัวประชาชน: สาเหตุการตรวจ: วินิจฉัย TB

First Line Drug

DST Number
เทคนิค --เลือก--
วันที่รับ วว/คต/ปปป วันที่ตรวจ วว/คต/ปปป
วันที่ออกผล วว/คต/ปปป

Streptomycin --เลือก--
Isoniazid 0.1ug/ml:Liquid --เลือก--
Isoniazid 0.2ug/ml:Solid --เลือก--
Isoniazid 1.0ug/ml:Solid --เลือก--
Rifampicin --เลือก--
Ethambutol --เลือก--
Pyrazinamide --เลือก--
Kanamycin --เลือก--
Ofloxacin --เลือก--

Second Line Drug

หน่วยตรวจ 23760 23760 สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค
วันที่ส่ง SLD 10/04/2562
DST Number 62-02860
เทคนิค --เลือก--
วันที่รับ วว/คต/ปปป วันที่ตรวจ วว/คต/ปปป
วันที่ออกผล วว/คต/ปปป

Ofloxacin --เลือก--
Kanamycin --เลือก--
Levofloxacin --เลือก--
Cycloserine --เลือก--
Ethionamide --เลือก--
Para-aminosalicylic --เลือก--
Capreomycin --เลือก--
Linezolid --เลือก--
Moxifloxacin --เลือก--
Clofazimine --เลือก--
Prothionamide --เลือก--

บันทึกข้อมูล ปิด

3.7 การบันทึกผลการทดสอบสำหรับรายการตรวจ Molecular คือการบันทึกผลการทดสอบ Line Probe Assay (LPA) ซึ่งมีรายละเอียดการบันทึก คือ Molecular Number วันที่รับ วันที่ตรวจ วันที่ออกผล เทคนิคการตรวจ ผลการทดสอบ DST สามารถทดสอบได้ทั้ง FLD/SLD จากนั้นเลือกบันทึกข้อมูลเพื่อบันทึกผลลงในระบบ

เพิ่มข้อมูลตรวจ MOLECULAR- หน่วยส่งตรวจ (สำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค) Lab number หน่วยส่งตรวจ(62/1281)
วันที่เก็บ(23/08/2562) วันที่ส่ง(23/08/2562)

ชื่อ-สกุลผู้ป่วย: เลขประจำตัวประชาชน: สาเหตุการตรวจ: วินิจฉัยTB

Molecular Number 62/1281
วันที่รับ วว/คต/ปปปป
เทคนิคตรวจ Line Probe Assay
วันที่ตรวจ SLD วว/คต/ปปปป
Fluoroquinolone
วันที่ออกผล 23/08/2562
ผล
INH
RIF
วันที่ออกผล วว/คต/ปปปป
AG/CP

บันทึกข้อมูล ปิด

3.8 การบันทึกผลการทดสอบสำหรับรายการตรวจ) XPERT MTB/RIF คือการบันทึกผลการทดสอบ Line Probe Assay (LPA) ซึ่งมีรายละเอียดการบันทึก คือ XPERT Number วันที่รับ วันที่ตรวจ วันที่รายงาน เทคนิคการตรวจ ผลการทดสอบ XPERT จากนั้นเลือกบันทึกข้อมูลเพื่อบันทึกผลลงในระบบ

เพิ่มข้อมูลตรวจ Xpert MTB/RIF- หน่วยส่งตรวจ Lab number หน่วยส่งตรวจ
วันที่เก็บ(09/02/2560) วันที่ส่ง(09/02/2560) กลุ่มที่ส่งมาตรวจ (ส่งยัณโรคนอกปอด (CSF,Lymph node,Tissues))

ชื่อ-สกุลผู้ป่วย: เลขประจำตัวประชาชน: สาเหตุการตรวจ: วินิจฉัยTB

XPERT Number
วันที่รับ วว/คต/ปปปป
เทคนิคตรวจ
วันที่ตรวจ วว/คต/ปปปป
ผล
วันที่รายงาน วว/คต/ปปปป
RIF

บันทึกข้อมูล ปิด

ภาคผนวก 3

รายชื่อหน่วยงานที่มีนวัตกรรมด้านห้องปฏิบัติการ
เพื่อป้องกัน ดูแลรักษา และควบคุมวัณโรค

รายการ	หน่วยงาน
การถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อวัณโรคทั้งจีโนม	1. กลุ่มปฏิบัติการอ้างอิงชั้นสูงวัณโรคแห่งชาติ กองวัณโรค กรมควบคุมโรค 2. ศูนย์พันธุศาสตร์การแพทย์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ได้รับการรับรอง มาตรฐาน ISO 15189 : 2012 และ ISO 15190 : 2003)
การตรวจระดับการแสดงออกของยีนในเลือด เพื่อสนับสนุนการวินิจฉัยวัณโรค	1. ศูนย์พันธุศาสตร์การแพทย์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
การตรวจจีโนไทป์ของยีน NAT2 ด้วยวิธี Haplotype specific allele specific amplification	1. ศูนย์พันธุศาสตร์การแพทย์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
การตรวจระดับยาด้านวัณโรคในเลือด	1. ศูนย์พันธุศาสตร์การแพทย์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ตรวจวัดระดับยา isoniazid, rifampicin, pyrazinamide และ ethambutol พร้อมกัน ด้วยการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียว)



กรมควบคุมโรค
DEPARTMENT OF DISEASE CONTROL



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

แนวทางบริหารจัดการ และการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค

Management and practice guideline
for tuberculosis laboratory

