บทความฟื้นวิชา
วัณโรคในเด็.... มีอะไรใหม่ ?

อังกูร เกิดพานิช
หน่วยโรคติดเชื้อ กองกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ปัจจุบันวิทยาการความก้าวหน้าต่างๆ ทางด้านการแพทย์ทุกสาขา เติบโตเร็วขึ้นมาก มีการใช้ความรู้พื้นฐานทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์มาอธิบายถึงกลไกการเกิดโรคต่างๆ เพื่อนำไปสู่การรักษาโรคที่ดีขึ้น วัณโรคก็เช่นเดียวกัน สามารถคิดค้นการตรวจวินิจฉัยวัณโรควิธีใหม่ๆ ที่ได้ผลถูกต้องแม่นยำกว่าเดิม วัคซีนบีซีจีที่ใช้กันมานานเกือบร้อยปีและยังคงใช้อยู่ทั้งๆ ที่ผลในการป้องกันไม่ดีนักก็มีคำอธิบายว่าทำไมวัคซีนบีซีจีจึงใช้ไม่ได้ผลดี และนำไปสู่การพัฒนาวัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่เพื่อมาทดแทนวัคซีนบีซีจี การค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในเด็ก ซึ่งใช้การทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นหลัก แต่เดิมแพทย์ผู้เชี่ยวชาญมีความเห็นแตกต่างกันในเรื่องขนาดของรอยนูนที่จะนำมาตัดสินว่าเป็นผลบวกทำให้เกิดความสับสนขึ้นแก่แพทย์ผู้ปฏิบัติทั่วไป จึงมีการประชุมตกลงกันในกลุ่มแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคติดเชื้อในเด็ก และแพทย์จากกองวัณโรค กระทรวงสาธารณสุข ได้ข้อสรุปออกมาเป็นแนวทางในการดูแลคนไข้กลุ่มนี้

ข้อจำกัดของวัคซีนบีซีจี

หลังจากเริ่มใช้วัคซีนบีซีจีในปี พ.ศ. 2464 พบว่าระยะแรกอัตราการตายจากวัณโรคของเด็กในประเทศแถบทวีปยุโรปที่ได้รับวัคซีนบีซีจีลดลงถึงร้อยละ 90[1] เมื่อร่วมกับการใช้มาตรการอื่นๆ เสริมอย่างเข้มข้นและจริงจังเช่นค้นหาผู้ป่วยวัณโรคมารักษาให้ครบ การแยกผู้ป่วยวัณโรคออกมาจากคนอื่นๆ ให้อยู่ในสถานพยาบาลโดยเฉพาะ (sanatoria) รวมทั้งค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงมารักษา ทำให้การใช้วัคซีนบีซีจีระยะแรกในประเทศที่พัฒนาแล้วสามารถกำจัดเชื้อวัณโรคออกไปจากพื้นที่ได้ผลดีโดยรวดเร็ว ไม่เป็นแหล่งรังโรค (endemic area) อีกต่อไป แต่ในประเทศที่กำลังพัฒนาการใช้วัคซีนบีซีจีลำพังเพียงอย่างเดียวโดยไม่มีมาตรการอื่นๆ มาช่วยเสริมอย่างจริงจังในการกำจัดวัณโรค ทำให้ไม่สามารถกำจัดเชื้อวัณโรคให้หมดไปจากพื้นที่ได้เช่นเดียวกับประเทศแถบทวีปยุโรปและอเมริกาเหนือ ดังนั้นประเทศกำลังพัฒนาหลายๆ ประเทศจึงยังคงมีผู้ป่วยวัณโรคจำนวนมากและเป็นแหล่งรังโรคของเชื้อวัณโรคต่อไป[2]

วัคซีนบีซีจีไม่ช่วยลดอัตราการเกิดวัณโรคปอดในคนหนุ่มสาวในประเทศที่มีวัณโรคชุกชม (endemic area) จึงมีการให้วัคซีนบีซีจีเข็มที่สองเป็นวัคซีนกระตุ้นในเด็กโตหรือผู้ใหญ่ เพื่อหวังผลให้ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อวัณโรคมีระดับสูงขึ้นแต่พบว่าไม่ได้ผล อาจเนื่องมาจากว่าในแหล่งนั้นๆ มีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นๆ อยู่ในสิ่งแวดล้อม และได้รับเชื้อเหล่านี้อยู่เป็นประจำจึงเป็นการกระตุ้นในระดับต่ำๆ อยู่แล้ว การที่ได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนทำให้มีภูมิคุ้มกันอยู่ในระดับหนึ่งเช่นกันแต่อยู่ไม่นาน (wane) วัคซีนบีซีจีเข็มสองที่ให้ไปใหม่จึงไม่สามารถกระตุ้นให้ภูมิคุ้มกันสูงขึ้นมาอีก ดังนั้นการให้วัคซีนบีซีจีเข็มที่สองจึงไม่มีประโยชน์ วัคซีนบีซีจีจะได้ผลดีเฉพาะในเด็กแรกเกิดหรือคนที่ไม่เคยได้รับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดใดๆ มาก่อนเท่านั้น

วัคซีนบีซีจีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน (ผลิตหลังปี พ.ศ. 2474) จากทุกสถาบันส่วนประกอบไม่เหมือนวัคซีนดั้งเดิมโปรตีนที่เป็นแอนติเจนสำคัญหลายตัวได้หายไป สืบเนื่องมาจากต้องเลี้ยงเชื้อต่อมาเป็นทอดๆ จึงเป็นเสมือนการทำให้เชื้ออ่อนกำลังลงเรื่อยๆ ประสิทธิภาพของวัคซีนบีซีจีจึงอาจจะลดลงตามไปด้วย (over-attenuated vaccine)[3] ทำให้วัคซีนบีซีจีใช้ได้ผลดีในระยะแรกของการนำมาใช้เท่านั้น คนที่เคยได้รับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นๆ จากสิ่งแวดล้อมจะทำให้การให้วัคซีนบีซีจีไม่ได้ผลดีเช่นกัน โดยรวมวัคซีนบีซีจีมีผลต่อการป้องกันวัณโรคได้นานไม่เกิน 10-20 ปีเพราะภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นอยู่ได้ช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น[4-6] เป็นเหตุผลหนึ่งว่าทำไมการให้วัคซีนบีซีจีในเด็กทารกจึงไม่สามารถป้องกันวัณโรคในผู้ใหญ่ได้

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 2 ตุลาคม 2550 ได้ให้ตีพิมพ์เมื่อ 22 ตุลาคม 2550
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พ.อ.อังกูร เกิดพานิช หน่วยโรคติดเชื้อ กองกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กทม. 10400

การติดเชื้อพยาธิบางชนิดมาก่อน เช่น *Wuchereria bancrofti, Schistosoma haematobium* มีส่วนทำให้ร่างกายตอบสนองต่อวัคซีนบีซีจีไม่ดีเช่นกัน[7] อาจเป็นเพราะการติดเชื้อพยาธิทำให้ cytokines ที่ผลิตออกมาจาก Th2-type immune activation มีผลให้ Th1 ตอบสนองต่อแอนติเจนจากเชื้อมัยโคแบคทีเรียมลดลง การให้ยาถ่ายพยาธิก่อนให้วัคซีนจะทำให้การตอบสนองต่อวัคซีนดีขึ้นได้ เช่นให้ยา albendazole รักษาการติดเชื้อพยาธิตัวกลมในลำไส้ (*Ascaris lumbricoides*) ก่อนให้วัคซีนป้องกันอหิวาต์ (live oral cholera vaccine) หรือวัคซีนบีซีจี พบว่าการสร้าง IFN-γ เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยาถ่ายพยาธิ[8,9] แต่การศึกษาของ Ferreira AP[10] ในประเทศบราซิลกลับพบว่าการติดเชื้อพยาธิตัวกลมในลำไส้ เช่น *Ascaris lumbricoides, Entamoeba histolytica, Strongyloides stercoralis* การให้ยาถ่ายพยาธิจะทำให้การสร้าง IFN-γ ลดลง แต่มี IL-10 สูงขึ้น การที่ IL-10 สูงขึ้นอาจเป็นผลมาจากแอนติเจนจากตัวพยาธิที่ตายลงไปกระตุ้นให้มี type-2 cytokines response จึงทำให้การสร้าง IFN-γ ลดลง ทั้งนี้ยังต้องการศึกษาต่อไป ดังนั้นการให้ยาถ่ายพยาธิก่อนการให้วัคซีนบีซีจีมีประโยชน์ในคนที่ติดเชื้อพยาธิ

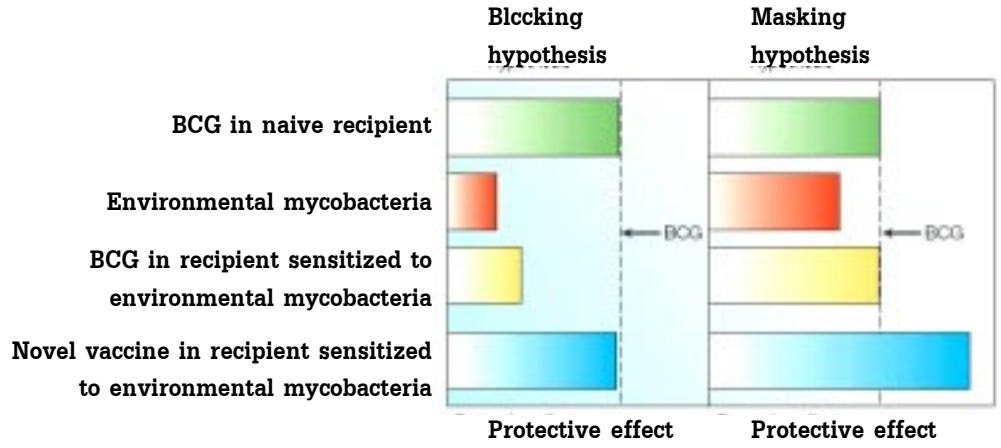
ทำไมวัคซีนบีซีจีจึงใช้ไม่ได้ผลดี

มีสองแนวความคิดว่าทำไมวัคซีนบีซีจีไม่สามารถป้องกันวัณโรคได้ดี และการฉีดวัคซีนบีซีจีกระตุ้นซ้ำไม่ได้ผล สามารถอธิบายได้จากปฏิกิริยาของภูมิต้านทานชนิดพึ่งเซล (CMI) ที่ครั้งหนึ่งเคยสัมผัสกับแอนติเจนของเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมาแล้วไม่ว่าจะเป็นเชื้อจากวัคซีนบีซีจีหรือจากสิ่งแวดล้อมก็ตาม ทำให้การตอบสนองในครั้งต่อมาไม่ได้ผล (ดูรูปที่ 1) ทั้งสองแนวความคิดนี้ให้ผลลัพธ์ที่เหมือนกันคือร่างกายไม่สามารถตอบสนองต่อวัคซีนบีซีจีได้ดีในคนที่เคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมาก่อน[1]

Blocking hypothesis ในสิ่งแวดล้อม เช่น ดินและน้ำจะมีเชื้อมัยโคแบคทีเรียม (environmental mycobacterium) อยู่หลายชนิด ถ้าร่างกายเราได้ไปสัมผัสกับเชื้อเหล่านี้ก่อนที่จะได้รับวัคซีนบีซีจี ร่างกายก็จะมีภูมิต้านทานเกิดขึ้นต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอยู่ในระดับต่ำๆ ไม่สูงนัก เมื่อให้วัคซีนบีซีจีเข้าไปร่างกายจะทราบว่ามีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอีกหนึ่งชนิดเข้ามาใหม่จะตอบสนองโดยสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดใหม่ที่เข้ามานี้ วัคซีนบีซีจีที่ให้เป็นเชื้อมีชีวิตและเป็นเชื้อที่อ่อนกำลังลงแล้ว เชื้อจากวัคซีน (vaccine strain) จึงถูกภูมิต้านทาน (CMI) ที่มีอยู่สกัดกั้น (block) ไว้ได้ จำกัดการติดเชื้อจากวัคซีนให้แบ่งตัวอยู่เฉพาะที่ไม่กระจายไปทั่วร่างกาย ภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นจึงสูงขึ้นมาอีกระดับหนึ่งเท่านั้นและไม่สูงมากพอที่จะป้องกันเชื้อวัณโรค (*M. tuberculosis*) ซึ่งมีความรุนแรงสูงกว่าได้ ถ้าร่างกายไม่เคยสัมผัสเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดใดๆ มาก่อน เช่น ในเด็กแรกเกิด (naïve recipient) ก็จะไม่มีภูมิต้านทานต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียม เชื้อจากวัคซีนบีซีจีจะสามารถเหนี่ยวนำร่างกายให้เกิดการติดเชื้อได้ทั่วร่างกาย (BCG dissemination) ภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นจากการฉีดวัคซีนบีซีจีจึงสูงมากเพียงพอที่ป้องกันวัณโรคได้

Masking hypothesis เป็นแนวความคิดที่อธิบายว่า การที่เคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมมาก่อนที่จะได้รับวัคซีนบีซีจี ร่างกายมีภูมิต้านทานต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียมเกิดขึ้นสูงอยู่แล้วในระดับหนึ่ง (สูงกว่า blocking hypothesis) เมื่อฉีดวัคซีนบีซีจีเข้าไปอีกจะสามารถกระตุ้นภูมิต้านทานให้สูงขึ้นมาได้อีกระดับหนึ่งเท่านั้น ซึ่งภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นจากการฉีดวัคซีนบีซีจีในคนเหล่านี้จะเท่ากับหรือใกล้เคียงกับภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นจากการฉีดวัคซีนบีซีจีในคนที่ไม่เคยสัมผัสเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมาก่อน (naïve recipient) ดังนั้นในกรณีนี้ การให้วัคซีนบีซีจีจึงมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการกระตุ้นด้วยเชื้อมัยโคแบคทีเรียมโดยธรรมชาติในสิ่งแวดล้อมเท่าใดนัก วัคซีนบีซีจีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันจึงไม่สามารถป้องกันการเกิดเป็นวัณโรคได้

จากแนวคิดทั้งสองคนส่วนใหญ่เห็นด้วยกับ Blocking hypothesis มากกว่า Masking hypothesis และมีการศึกษาที่สนับสนุน Blocking hypothesis มากกว่า เช่น พื้นที่ที่มีระดับของการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียมในสิ่งแวดล้อมสูงเช่นประเทศในเขตร้อน (tropical regions) จะมีการตอบสนองต่อปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน (skin test conversion rate) ต่ำหลังจากฉีดวัคซีนบีซีจี และการตอบสนองต่อปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินที่ลดน้อยลง (wane) จะเกิดขึ้นเร็วกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ที่มีระดับของการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียมจากสิ่งแวดล้อมต่ำกว่า การศึกษาที่ประเทศ Malawi พบว่าการตอบสนองต่อปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะสูงสุดที่ 2-3 เดือนหลังจากฉีดวัคซีนบีซีจี หลังจากนั้น waning จะเกิดขึ้นเร็วมาก เช่นเดียวกับการศึกษาทางตอนใต้ของประเทศอินเดียซึ่งมีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมตามธรรมชาติในสิ่งแวดล้อมอยู่สูงมากพบว่า waning เกิดขึ้นเร็วมากหลังจากได้รับวัคซีนบีซีจี[11]



รูปที่ 1 แสดง Blocking hypothesis และ Masking hypothesis

แสดงว่า T-cell responses จากการฉีดวัคซีนบีซีจีอยู่ได้ไม่นาน แตกต่างจากประเทศในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศอังกฤษและเดนมาร์ก การตอบสนองต่อปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะคงอยู่ได้นานกว่าและ waning เกิดขึ้นช้ากว่า[12] ประเทศที่อยู่ระหว่าง ± 30 องศาของเส้นแลดติจูด (latitude) จากเส้นศูนย์สูตร (equator) เมื่อทดสอบผิวหนังในประชากรพบว่ามีภูมิต้านทานต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดต่างๆ อยู่แล้วหลายชนิด ประเทศที่อยู่สูงขึ้นไปจาก ± 30 องศาของเส้นแลดติจูด (higher latitudes) มีภูมิต้านทานต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียมไม่มากเท่า[13]

วัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่ที่จะผลิตขึ้นมาตามแนวความคิด Blocking hypothesis วัคซีนจะต้องสามารถนำมาใช้ได้ผลดีกับคนที่เคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมาก่อนไม่ว่าจากสิ่งแวดล้อมหรือจากวัคซีนบีซีจี และภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นต้องดีเท่ากับการให้วัคซีนบีซีจีในคนที่ไม่เคยได้รับเชื้อ (naïve recipient) มาก่อนด้วย ถ้าตามแนวความคิด Masking hypothesis วัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่นี้ภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นต้องดีกว่าวัคซีนบีซีจีเดิม

จากแนวคิดทั้งสองนี้เป็นเหตุผลที่สนับสนุนว่าวัคซีนบีซีจีใช้ได้ผลดีในเด็กเล็กเท่านั้น เพราะเด็กได้รับวัคซีนบีซีจีตั้งแต่แรกเกิดยังไม่เคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมใดๆ มาก่อน และเป็นเหตุผลหนึ่งที่สนับสนุนคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกที่ให้ฉีดวัคซีนบีซีจีในเด็กแรกเกิดทันทีที่สามารถฉีดให้ได้

การพัฒนาวัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่

วัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่ที่จะมาแทนวัคซีนบีซีจี ต้องสามารถใช้ได้ทุกอายุ ตั้งแต่เด็กแรกเกิดจนถึงผู้ใหญ่ และภูมิต้านทานที่มีอยู่เดิมจากเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นจากสิ่งแวดล้อมต้องไม่มีผลต่อวัคซีนด้วย แม้ว่าจะเคยได้รับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมานาน 10-20 ปีแล้วก็ตาม วัคซีนจะต้องมีประสิทธิภาพดีกว่าวัคซีนบีซีจีเดิม ภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นต้องคงอยู่ได้นานขึ้นจนสามารถป้องกันวัณโรคในผู้ใหญ่ได้ และ/หรือต้องสามารถให้วัคซีนกระตุ้นซ้ำในคนที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว (boost existing immunity: Late booster vaccine) รวมทั้งให้ในคนที่ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงได้ด้วยเพื่อป้องกันการเกิดเป็นวัณโรค โดยถือว่าเป็นวัคซีนสำหรับการป้องกันหลังสัมผัส (postexposure vaccine) และสามารถใช้ได้ผลดีในคนที่เคยได้รับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นๆ จากสิ่งแวดล้อมด้วย วัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่ที่อยู่ในระหว่างการวิจัยแสดงไว้ในตารางที่ 1

เมื่อรับเชื้อวัณโรคเข้าไปในร่างกาย ในระยะแรก (acute phase) เชื้อจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น จนถึงระดับหนึ่ง (แสดงไว้ในเส้นทึบในรูป 2 - A) ต่อเมื่อร่างกายมีภูมิต้านทานต่อเชื้อวัณโรคเกิดขึ้น การเจริญเติบโตของเชื้อจึงถูกยับยั้งและถูกทำลาย จำนวนเชื้อจึงลดลง คนที่ได้รับเชื้อวัณโรคในครั้งแรก ร้อยละ 3-5 จะป่วยเป็นวัณโรค (TB disease) เนื่องจากเชื้อหลุดจากการควบคุมของภูมิต้านทาน เชื้อจึงแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นมาใหม่อีกครั้งจนแสดงอาการของวัณโรคให้เห็น ระยะนี้จะตรวจเสมหะให้ผลบวก วัคซีนที่ให้ก่อนมีการติดเชื้อ (prophylactic vaccination) จะช่วยยับยั้งเชื้อไม่ให้เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากพอที่จะให้เกิดเป็นวัณโรค จึงเหลือเป็นเพียงติดเชื้อวัณโรคและเข้าสู่ระยะแฝง (latent phase) ต่อไป (แสดงไว้ในเส้นประในรูป 2 - A)

คนส่วนใหญ่หลังจากติดเชื้อวัณโรคแล้วภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรคได้ระดับหนึ่ง แต่

D:\Zoom\Zoom\Journal\59(4)\Blood.p65

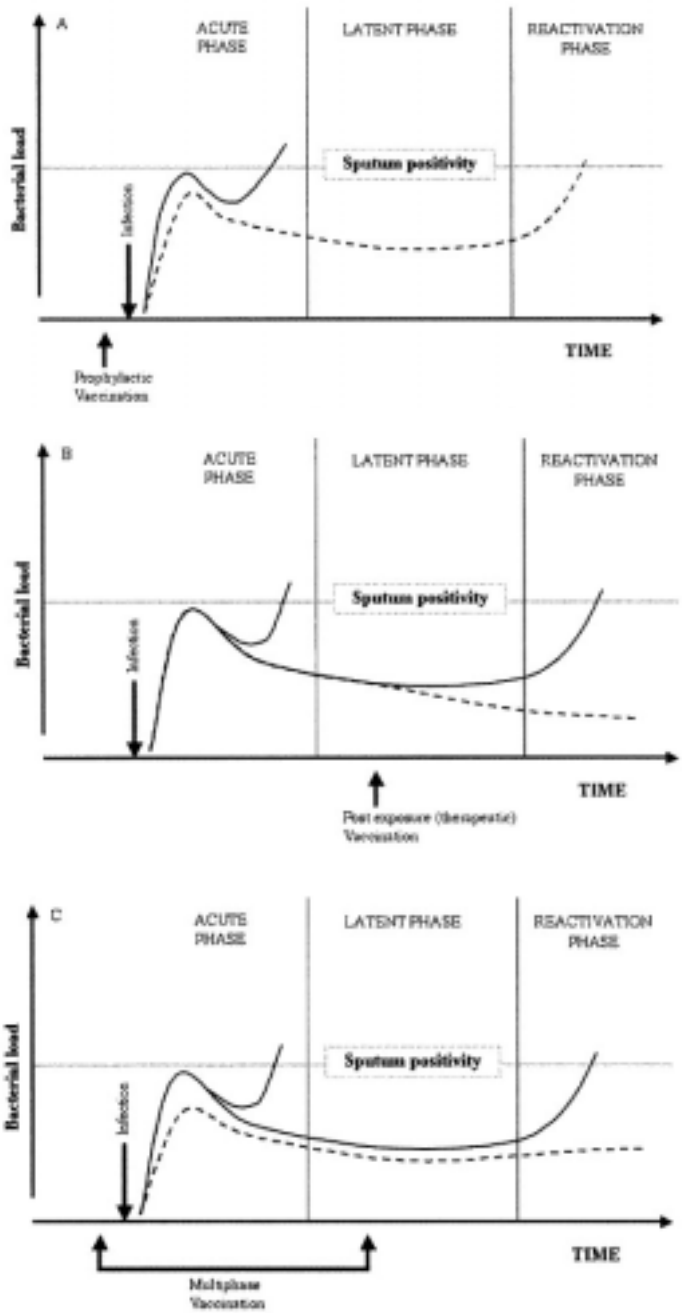
ตารางที่ 1 วัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่ที่อยู่ในระหว่างการวิจัย[15]

Type	Description	Developer	Improvement over available vaccines	Stage of development
rBCG30	Live, recombinant BCG-Tice, over-expressing Ag85B from *M.tb*	University of California, LA, USA	Stimulates a stronger, longer-lasting response than conventional BCG	Phase I trials completed
rBCG::D ureC-llo+	Live, recombinant BCG, urease-deficient mutant that express lysteriolysin O gene from *Listeria monocytogenes*	Max Planck Institute of Infectious Biology, Berlin, Germany	Promotes leakage of antigens from phagosome to improve CD8 responses via cross-priming	Clinical trial scheduled for 2006
MVA-85A	Live, recombinant, replication-deficient vaccinia virus, expressing Ag85A\from *M.tb*	Oxford University, Oxford, UK	Stimulates strong primary immune response, but intended primarily as a booster vaccine for individuals previously vaccinated with BCG	Completed phase I trials in UK and in clinical trials in The Gambia
Ag85B-ESAT6	Recombinant protein, composed of a fusion of ESAT-6 and Ag85B from *M.tb*	Statens Serum Institue, Copenhagen, Denmark	Stimulates strong primary immune response, but intended primarily as a booster vaccine for individuals previously vaccinated with BCG	In phase I trials in Leiden, Netherlands
Mtb72f	Recombinant protein, composed of a fusion of Rv1196 and Rv0125 from *M.tb* and delivered in oil-in-water emulsion, containing immunostimulant 3-decacylated-monophosphoryl lipid A and a purified fraction of Quillaria saponaria	GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium	Stimulates strong primary immune response, but intended primarily as a booster vaccine for individuals previously vaccinated with BCG	Completed phase I trials in USA and recruiting for phase II trials in Lausanne, Switzerland
SRL172	Autoclaved *M vaccae*	SR Pharma, London, UK. Current trial led by Dartmount-Hitchcock Medical Center, Lebanon, NH, USA	Enhances Th1 response to shared mycobacterial antigens, but also drives regulatory T cells that inhibit Th2	Phase I completed. Phase II running in Tanzania (DarDar project) in patients infected with HIV

ไม่สามารถกำจัดให้เชื้อวัณโรคให้หมดไปจากร่างกายได้ เชื้อยังคงมีชีวิตอยู่แต่มีจำนวนน้อยและแฝงตัวอยู่ในเนื้อปอด (dormant state) เป็นวัณโรคในระยะแฝง (LTBI: latent TB infection) รอเวลาให้ร่างกายมีภูมิต้านทานต่ำลง เชื้อวัณโรคจะกลับมาเจริญเติบโตอีกครั้งหนึ่ง (reactivation phase) จนเมื่อเชื้อวัณโรคแบ่งตัวและมีจำนวนมากพอจะแสดงอาการของวัณโรคออกมาให้เห็น (แสดงไว้ในเส้นทึบในรูป 2 - B) วัคซีนสำหรับใช้ในระยะแฝง (post-exposure, therapeutic vaccination) จะช่วยให้ภูมิต้านทานเข้มแข็งขึ้นป้องกันไม่ให้เข้าสู่ระยะ reactivation phase (แสดงไว้ในเส้นประในรูป 2 - B) แต่วัคซีนชนิดนี้ไม่สามารถป้องกันการเกิดเป็นวัณโรคในการติดเชื้อระยะแรก (acute phase) ดังนั้นวัคซีนที่ดีจะต้องสามารถป้องกันการเกิดเป็นวัณโรคได้ทั้งสองระยะของการติดเชื้อ (acute and reactivation phase) เป็น multiphase vaccination (แสดงไว้ในเส้นประในรูป 2 - C)

วัคซีนรุ่นใหม่ๆ นิยมเป็น DNA vaccine เนื่องจากสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลได้ดี สามารถแสดงได้ทั้ง MHC class I และ MHC class II รวมทั้งกระตุ้น cytotoxic T lymphocytes, helper T cells ได้ ดังนั้น primary immune response จึงเกิดขึ้นดีและอยู่ได้นาน เทคโนโลยีในปัจจุบันสามารถทำได้ง่ายเช่นกัน แอนติเจนที่สามารถนำมาใช้ทำวัคซีนป้องกันวัณโรคมีให้เลือกหลายตัวและสามารถใช้มากกว่าหนึ่งตัวได้เช่น HSP65, Ag85, 38 kDa, PstS-3, (ESAT-6, KatG, MPT63, MPT64, MPT83), (Mtb39a, HSP65,

D:\Zoom\Zoom\Journal\59(4)\Blood.p65



รูปที่ 2 แสดงระยะต่างๆ และวัคซีนที่ใช้ในแต่ระยะของการติดเชื้อวัณโรค[14]

MPT70, IL-12), (65 kDa, Ag85), 35 kDa ทั้งหมดนี้ศึกษาในสัตว์ทดลองแล้วพบว่าได้ผลดี[16] DNA vaccine ยังใช้เป็นวัคซีนสำหรับรักษาวัณโรคได้ด้วยเช่น HSP65 หรือ MPT70 DNA สามารถทำให้เชื้อวัณโรคหมดไปจากร่างกายได้ในสัตว์ทดลอง[17] จึงพัฒนาต่อไปสำหรับให้ใช้ในมนุษย์ได้

วัคซีนสำหรับแทนที่วัคซีนบีซีจี (Replacing BCG)

ถ้าจะหาวัคซีนใหม่มาแทนที่วัคซีนบีซีจี วัคซีนใหม่ต้องมีราคาถูก ปลอดภัย มีประสิทธิภาพดี ใช้ได้ในเด็กทารก และภูมิต้านทานต้องคงอยู่ในระดับสูงจนถึงผู้ใหญ่ ปัจจุบันมีวัคซีนอยู่ในระหว่างการศึกษาและพัฒนาเช่น rBCG30 vaccine, rBCG::D ureC-llo+ vaccine เป็นวัคซีนเชื้อมีชีวิต โดยนำวัคซีนบีซีจีเดิมมาปรับปรุงใหม่ ส่วนการทำวัคซีนจากเชื้อ *M. tuberculosis* ที่ทำให้อ่อนกำลังลง มีการศึกษาอยู่ในขณะนี้เช่นกันแต่ผลที่ได้อาจจะไม่ดีไปกว่าวัคซีนบีซีจี และวัคซีนจากเชื้อ *M. tuberculosis* เมื่อนำมาใช้ไปนานๆ อาจกลายพันธ์เป็นเชื้อที่รุนแรงได้ (virulent form)

rBCG30 vaccine[18] นำวัคซีนบีซีจีเดิมมาทำให้แอนติเจนมีประสิทธิภาพดีขึ้น โดยใส่ยีนส์จากเชื้อ *M. tuberculosis*: 30-kDa major secretory protein gene เป็น recombinant vaccine ศึกษา phase I ในสัตว์ทดลอง (guinea pig) พบว่าสามารถป้องกันวัณโรคปอดได้ดีกว่าวัคซีนบีซีจีเดิม ขณะนี้กำลังศึกษาในระยะต่อไป

rBCG::D ureC-llo+ vaccine[19] จากความคิดของ Kaplan G. อาศัยความรู้เดิมที่มีอยู่ว่า ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต่อเชื้อวัณโรคขึ้นอยู่กับ T-cell immunity เป็นส่วนใหญ่ มากกว่าที่จะเกิดจากการสร้างแอนติบอดี้จาก B-cell เพื่อให้ได้ภูมิคุ้มกันดีที่สุดต่อเชื้อวัณโรค (*M. tuberculosis*) วัคซีนนั้นต้องสามารถกระตุ้นทั้ง CD4+ T-cells และ CD8+ T cells แอนติเจนนั้นต้องสามารถแสดงได้ทั้ง MHC class II molecules (เพื่อกระตุ้น CD4+ T cells) และ MHC class I molecules (เพื่อกระตุ้น CD8+ T cells) เมื่อฉีดวัคซีนบีซีจีตัวเชื้อจะถูกจับกินโดย macrophages เชื้อจะยังคงมีชีวิตอยู่ภายใน phagosome ไม่ถูกฆ่าให้ตายหรือถูกย่อยสลายโดย acid-dependent enzymes ภายใน phagosome เนื่องจากตัวเชื้อมีกลไกในการป้องกันตัวเองโดยอาศัย mycobacterial urease ทำให้ pH ภายใน phagosome สูงขึ้นไม่เป็นกรดเชื้อจึงไม่ถูกย่อยสลายออกมาใน cytoplasm ดังนั้นแอนติเจนของตัวเชื้อจากวัคซีนบีซีจีจะกระตุ้นได้เฉพาะ MHC class II molecules เท่านั้น การที่จะกระตุ้น MHC class I molecules ได้แอนติเจนจะต้องอยู่ภายใน cytoplasm ของเซลที่ติดเชื้อด้วย แต่วัคซีนบีซีจีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันไม่สามารถกระตุ้น MHC class I molecules ได้ ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจึงไม่สมบูรณ์ ถ้าจะพัฒนาวัคซีนบีซีจีชนิดใหม่ตามความคิดของ Kaplan G. ดังกล่าวต้องเป็นวัคซีนที่สามารถให้กระตุ้นได้ทั้ง MHC class I molecules และ MHC class II molecules จึงมีความจำเป็นต้องให้ตัวเชื้อจากวัคซีนบีซีจีชนิดใหม่สามารถออกมาอยู่ใน cytoplasm ด้วย โดยหาวิธีทำให้ phagosome แตกออกให้ได้หลังจากที่เชื้อถูกจับกินโดย macrophages ด้วยวิธีใดก็ได้ เมื่ออาศัยวิธีพันธุวิศวกรรมโดยใส่ lysine gene ของเชื้อ *Listeria monocytogenes* เข้าไปในวัคซีนบีซีจีเดิมเพื่อไปทำให้ผนังของ phagosome แตกออกหลังจากที่ macrophages จับกินเชื้อเข้าไป จะทำให้สามารถกระตุ้น MHC class I molecules และ MHC class II molecules ตามที่ต้องการได้ วัคซีนบีซีจีชนิดใหม่นี้ทดลองในสัตว์ได้ผลดีและจะนำมาทดลองในมนุษย์ต่อไป[19]

วัคซีนป้องกันวัณโรคชนิดใหม่ที่จะนำมาใช้ทดแทนวัคซีนบีซีจี (replacing BCG) มีจุดประสงค์จะให้ในคนที่ไม่เคยได้รับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดใดๆ มาก่อน โดยเฉพาะเด็กแรกเกิดในประเทศที่กำลังพัฒนา ถ้าวัคซีนชนิดใหม่นี้ไม่สามารถทำให้ภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นคงอยู่ไปตลอดชีวิต จำเป็นต้องมีวัคซีนสำหรับกระตุ้นด้วย แต่อาจจะมีข้อจำกัดเช่นเดียวกับวัคซีนบีซีจีเดิมที่การให้วัคซีนเข็มกระตุ้นใช้ไม่ได้ผล เพราะวัคซีนเข็มกระตุ้นที่ให้ไปต้องมีระยะเวลาพอสมควรที่จะให้เชื้อแบ่งตัวและกระจายไปทั่วร่างกายเพื่อให้เกิดภูมิต้านทาน ภูมิต้านทานต่อเชื้อมัยโคแบคทีเรียมที่มีอยู่ก่อนแล้วจะไปขัดขวางการแบ่งตัวของเชื้อจากวัคซีน ดังนั้นต้องมีวัคซีนชนิดใหม่ที่ใช้เป็นเข็มกระตุ้น (booster vaccine)

วัคซีนสำหรับกระตุ้น (Augmenting BCG: Late booster vaccines or postexposure vaccines)

ประชากรทั่วโลกร้อยละ 50 ได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้วตั้งแต่แรกเกิด หรือคิดเป็นประชากรสามพันล้านคน[20] ประชากรเหล่านี้ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในประเทศที่มีวัณโรคเป็นแหล่งรังโรค (endemic area) จุดประสงค์ของวัคซีนนี้ต้องการกระตุ้นภูมิต้านทานต่อวัณโรคที่มีอยู่เดิมให้มีระดับสูงขึ้นมาใหม่ และสูงเพียงพอที่จะป้องกันไม่ให้เกิดเป็นวัณโรคขึ้นมาได้ในวัยผู้ใหญ่โดยเฉพาะช่วงอายุ 25-35 ปีซึ่งมีอัตราการเกิดเป็นวัณโรคสูงอีกช่วงหนึ่ง เพราะช่วงนี้ภูมิต้านทานวัณโรคจากวัคซีนบีซีจีลดลงไปจนไม่สามารถป้องกันวัณโรคได้ จำนวนผู้ใหญ่ที่เป็นวัณโรคจะได้ลดลงและไม่แพร่เชื้อวัณโรคให้กับคนอื่นๆ อีกต่อไป

วัคซีนสำหรับกระตุ้นนี้ไม่จำเป็นต้องมีประสิทธิภาพดีกว่าวัคซีนบีซีจีเดิม ให้ดีเท่าวัคซีนบีซีจีเดิมก็เพียงพอ แต่ต้องสามารถทำให้ภูมิต้านทานที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นซ้ำดีเท่ากับการให้วัคซีนบีซีจีครั้งแรก (primary immune response) ในเด็กแรกเกิด

ประเทศที่ให้วัคซีนบีซีจีแก่เด็กแรกเกิดทุกคน ไม่จริงเสมอไปว่าเด็กทุกคนจะได้รับวัคซีนจริง และเด็กทุกคนที่ได้รับวัคซีนบีซีจีแล้วจะมี immunological memory ที่ดีเสมอไป ดังนั้นวัคซีนกระตุ้นนี้ต้องใช้ผลได้กับคนที่ไม่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนหรือไม่เคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมาก่อนเช่นกัน

วัคซีนชนิดเชื้อมีชีวิตที่ศึกษาอยู่และใช้เป็นวัคซีนกระตุ้น อาศัยเทคนิคของ recombinant ใช้เชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรียเป็นตัวนำแอนติเจนที่ต้องการไปสู่ Th1-response เพื่อให้ร่างกายสร้างภูมิต้านทานขึ้นมา ตัวอย่างวัคซีนที่กำลังศึกษาอยู่ เช่น MVA

-85A, Ag85B-ESAT6, Mtb72f จุดประสงค์หลักเพื่อนำมาใช้ในคนที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน แต่พบว่าวัคซีนใหม่นี้สามารถกระตุ้น primary immune response ได้ดีด้วย ปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งของวัคซีนชนิด recombinant protein vaccine คือลำพังตัวเองไม่สามารถกระตุ้น Th1-response ได้ดีต้องอาศัย adjuvant แต่ adjuvant ที่ยอมรับให้ใช้กับ subunit vaccines ได้อย่างปลอดภัยมีและผลข้างเคียงน้อยมีเพียง alum (aluminum hydroxide), MF59, virosomes เท่านั้นซึ่งใช้ได้ดีสำหรับกระตุ้น Th2-response ในการสร้างแอนติบอดี adjuvant สำหรับการกระตุ้นภูมิต้านทานชนิดพึ่งเซลมีหลายตัวที่อยู่ในระหว่างการศึกษา ยังไม่ได้ขึ้นทะเบียนให้นำมาใช้ในมนุษย์ได้[14]

วัคซีนป้องกันหลังสัมผัส (Postexposure vaccines)

ทั่วโลกมีคนที่ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงเป็นพันล้านคน คนเหล่านี้จะเป็นวัณโรคขึ้นมาได้ทุกเมื่อในช่วงระยะเวลาที่เหลือของชีวิต ถ้าเรามีวัคซีนสำหรับคนที่ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงจะมีประโยชน์ต่อคนเหล่านี้มาก จัดว่าเป็นวัคซีนป้องกันหลังสัมผัส (postexposure vaccines) วัคซีนนี้ยังอยู่ในระยะเริ่มต้นของการพัฒนาและวิจัย ถ้าวัคซีนสามารถใช้ได้ผลจริง จะทำให้ผู้ที่จะป่วยเป็นวัณโรค (TB disease) รายใหม่ลดลงมากในระยะแรกของการใช้วัคซีน แต่การกำจัดวัณโรคให้หมดไปยังคงต้องอาศัยวัคซีนที่เป็น preexposure vaccine วัคซีนที่ดีควรเป็นวัคซีนที่สามารถใช้ได้ทุกระยะของการติดเชื้อวัณโรค (multiphase vaccination) เพราะฉีดเพียงครั้งเดียวสามารถป้องกันวัณโรคในคนที่ยังไม่ได้รับเชื้อวัณโรคหรือรับเชื้อวัณโรคมาแล้วอยู่ในระยะแฝงของโรค ปัจจุบันวัคซีนชนิดนี้ยังไม่มี วัคซีนสำหรับรักษาหรือป้องกันวัณโรคในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีกำลังศึกษาอยู่เช่นกันเช่นวัคซีนที่ทำมาจากเชื้อ *Mycobacterium vaccae* ทำให้ตายด้วยความร้อน (heat-killed) ใช้เป็นวัคซีนสำหรับการรักษาวัณโรค (therapeutic vaccine) ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่เป็นวัณโรคร่วมด้วย โดยให้วัคซีน 1 ครั้งในระหว่างสัปดาห์แรกของการให้ยารักษาวัณโรค จากการศึกษาเบื้องพบว่าไม่ได้ผล[21] แต่การให้วัคซีนซ้ำหลายๆ ครั้งอาจจะได้ผล ขณะนี้กำลังศึกษาในขั้นต่อไปในประเทศจีน

ข้อจำกัดของการทดสอบปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน

การวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงในทศวรรษที่ผ่านมาไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก คงใช้ "ทุเบอร์คุลิน" เป็นหลักอยู่ในหลายๆ ประเทศรวมทั้งประเทศไทย การทดสอบโดยวิธีนี้มีข้อจำกัดอยู่มาก น้ำยาที่ใช้ทดสอบคือ purified protein derivative (PPD) เป็นแอนติเจนที่ไม่ดีนัก แอนติเจนบางชนิดในน้ำยา PPD พบได้ในเชื้อหลายชนิด เช่น *M.tuberculosis*, *M.bovis*, BCG และเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอื่นๆ (NTM) อีกหลายชนิด ทำให้มีความจำเพาะต่ำในประชากรที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจี หรือเคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอื่นๆ จากสิ่งแวดล้อมมาก่อน ความไวของการทดสอบจะต่ำในคนที่มีปัญหาเรื่องภูมิคุ้มกันผิดปกติไม่ว่าเกิดสาเหตุใดก็ตาม เช่น โรคเอดส์ ภาวะทุโภชนาการ หรือคนป่วยเป็นวัณโรคขั้นรุนแรง การอ่านผลทดสอบและการแปลผลทำได้ยาก แพทย์ผู้รักษาเกิดการสับสนหรือไม่แน่ใจในผลการทดสอบทุเบอร์คุลินอยู่เสมอ นอกจากนี้ความไวและความจำเพาะของการทดสอบทุเบอร์คุลิน มีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่ขนาดรอยนูนที่ใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินว่าเป็นบวก ปัจจุบันมีวิธีใหม่ๆ สำหรับทดสอบหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝง (LTBI) หรือผู้ป่วยวัณโรค (TB disease) เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น วิธีใหม่เช่น QuantiFERON-TB การตรวจนี้ยังไม่แพร่หลายเนื่องจากมีราคาแพงและต้องใช้เทคนิคระดับสูง ไม่สามารถนำไปใช้ชุมชนหรือในประเทศยากจนได้

Immunodiagnosis of Tuberculosis

การตรวจวิธีใหม่ๆ ทางห้องปฏิบัติการ โดยใช้ตัวอย่างเลือดของคนไข้นำมาแยกเม็ดเลือดขาวเพื่อให้ ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนจากเชื้อ *M. tuberculosis* ในหลอดทดลอง เม็ดเลือดขาว (T-cells) จะหลั่ง cytokines ชนิดต่างๆ ออกมารวมทั้ง interferon gamma (IFN-γ) วัดปริมาณ IFN-γ ที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้น T-cells โดยวิธี ELISA หรือนับจำนวน T-cells ที่ถูกกระตุ้นแล้วหลั่ง IFN-γ การทดสอบในหลอดทดลองนี้ให้ความไวและความจำเพาะสูงกว่าการวัดรอยนูนจากการทดสอบทุเบอร์คุลิน โดยหลักการแล้ววิธีทดสอบใหม่นี้สามารถแยกได้ว่าเป็นการติดเชื้อ *M.tuberculosis* หรือเป็นผลจากการฉีดวัคซีนบีซีจีในอดีต หรือเกิดจากการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ *M. tuberculosis* ขึ้นกับแอนติเจนที่ใช้กระตุ้นเม็ดเลือดขาว

ปี พ.ศ. 2541 หลังจากถอดรหัสสาย DNA ของเชื้อ *M.tuberculosis* ได้ทั้งหมด จึงสามารถเปรียบเทียบกับสาย DNA ของ *M. bovis* และ *M.bovis* BCG ทำให้ทราบว่ายีนในตำแหน่งที่เรียกว่า RD1 (region of difference) พบเฉพาะใน *M.tuberculosis*, pathogenic *M.bovis* และใน mycobacterium

non-tuberculosis (NTM) 4 ชนิดเท่านั้น (*M.kansasii*, *M.szulgai*, *M.flavescens*, *M.marinum*) และอาจจะพบได้ใน *M.leprae*[22] เนื่องจาก *M.kansasii* ทำให้มีอาการคล้ายกับ *M.tuberculosis* แต่เชื้อนี้พบไม่บ่อยในการทำให้เกิดโรค ส่วนเชื้ออีก 3 ชนิด อาการทางคลินิกสามารถแยกจากการติดเชื้อ *M.tuberculosis* ได้ ดังนั้น **'RD1 region encodes antigens'**ถือว่ามีความจำเพาะต่อเชื้อ *M.tuberculosis* จึงนำมาพัฒนาต่อสำหรับการตรวจวินิจฉัยวัณโรค แอนติเจน early secreted antigen 6 (ESAT6) และ culture filtrate protein 10 (CFP-10) เป็นแอนติเจนในตำแหน่ง RD1 region ที่นิยมนำมาใช้สำหรับการทดสอบดังกล่าว

QuantiFERON-TB (QFT) จะใช้น้ำยา PPD เป็นแอนติเจนเพื่อกระตุ้นเม็ดเลือดขาว (CD4+ T-cells) ของคนไข้ ที่ครั้งหนึ่งเคยถูกกระตุ้นมาแล้วจากการติดเชื้อวัณโรค ทดสอบโดยใช้เลือด (whole blood) คนไข้ไป incubate กับน้ำยา PPD ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้ววัดปริมาณ IFN-γ ที่ปล่อยมาจากเม็ดเลือดขาว (CD4+ T-cells) โดยวิธี ELISA เนื่องจาก PPD เป็นแอนติเจนที่ไม่จำเพาะกับเชื้อ *M.tuberculosis* ดังนั้นผลการตรวจที่ได้ไม่แตกต่างจากการทำทุเบอร์คุลิน คืออาจเป็นผลเนื่องมาจากการติดเชื้อ NTM หรือจากการฉีดวัคซีนบีซีจีก็ได้ ความไวและความจำเพาะจะเท่ากับหรือดีกว่าการทดสอบทุเบอร์คุลิน QuantiFERON-TB จะช่วยลดผลการทดสอบที่เป็น "บวกลวง" จากการทำทุเบอร์คุลินในคนที่เคยได้วัคซีนบีซีจีมาก่อน Food and Drug Administration (FDA) ประเทศสหรัฐอเมริการับรองให้ใช้ QuantiFERON-TB สำหรับช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคในระยะแฝง ในปี พ.ศ. 2544 แต่หลังจากที่มี QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) ผลิตออกมาใช้ QFT จึงเลิกผลิตให้ใช้ QFT-G ทดแทนเพราะสามารถวินิจฉัยได้ทั้ง active tuberculosis และวัณโรคในระยะแฝง

เมื่อนำ QuantiFERON-TB มาปรับปรุงโดยใช้แอนติเจนที่มาจาก RD1 region (ESAT-6 และ CFP-10) แทนน้ำยา PPD พัฒนามาเป็นการตรวจ QuantiFERON-TB Gold สำหรับค้นหาผู้ที่เป็น latent tuberculosis infection (LTBI) และ active tuberculosis เพื่อใช้แทนการตรวจโดยวิธีทุเบอร์คุลิน จะให้ผลที่ดีกว่า เพราะแอนติเจน 2 ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อ *M.tuberculosis* มากกว่า แม้ว่าผู้ถูกทดสอบจะได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนจะไม่มีผลต่อการตรวจโดยวิธีนี้ สามารถแยกผู้ติดเชื้อวัณโรคจริงได้ ประสิทธิภาพโดยรวมมีความไวประมาณร้อยละ 90 และความจำเพาะร้อยละ 98[23] QFT-G ไม่สามารถแยกคนที่เป็น LTBI และ active tuberculosis ออกจากกันได้ ต้องอาศัยอาการทางคลินิก การตรวจเสมหะ ภาพถ่ายรังสีทรวงอก และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ มาช่วยในการแยกโรค

การตรวจโดยวิธี QuantiFERON-TB Gold สามารถทดแทนการตรวจโดยวิธี "ทุเบอร์คุลิน" ได้ทุกกรณี วิธีนี้ยังใหม่อยู่ ข้อมูลส่วนใหญ่มาจากการศึกษาในผู้ใหญ่ ข้อมูลในเด็กอายุน้อยกว่า 18 ปี และข้อมูลในคนไข้ภูมิคุ้มกันผิดปกติยังไม่มีมากพอ จึงยังมีข้อจำกัดใช้ในบุคคลบางกลุ่ม ต้องรอให้มีข้อมูลเพียงพอก่อนจึงจะนำมาใช้ได้ทั่วไป ปัจจุบันสามารถนำ QFT-G มาใช้สำหรับ "contact investigation" ในผู้ใหญ่ได้ดี รวมทั้งค้นหาผู้ติดเชื้อใหม่สำหรับบุคลากรทางการแพทย์ (health care workers) และผู้อพยพ ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค (active disease) ได้เมื่อนำไปพิจารณาร่วมกับข้อมูลอื่นๆ

การตรวจ QFT-G ที่ให้ผลลบไม่สามารถบอกได้ว่าคนคนนั้นไม่ติดเชื้อวัณโรคได้ทั้งหมด เพราะบุคคลนั้นอาจจะเพิ่งไปได้รับเชื้อมา ต้องรอไปอีกสักระยะหนึ่ง ควรตรวจ QFT-G ซ้ำอีกครั้งแต่เวลาที่เหมาะสมยังไม่ทราบ ปัจจุบันแนะนำให้ตรวจซ้ำภายใน 8-10 สัปดาห์ต่อมา(หลังจากสิ้นสุดการสัมผัส) กรณีที่มีภาวะภูมิต้านทานบกพร่อง (ติดเชื้อเอชไอวี โรคเอดส์ ได้รับยากดภูมิต้านทาน ได้รับยาสเตียรอยด์ขนาดสูง ได้รับยา TNF-antagonists เป็นมะเร็งในระบบเม็ดเลือด ไตวายเรื้อรัง เป็นต้น) จะทำให้ T-cell มีการตอบสนองที่ลดลงจึงมีผลต่อการสร้าง IFN-γ จากการตรวจ QFT-G เช่นเดียวกับการตรวจทุเบอร์คุลินซึ่งจะให้ผลลบเช่นกัน ดังนั้นการตรวจ QFT-G อาจให้ผลลบได้ทั้งๆ ที่คนไข้ติดเชื้อวัณโรคอยู่ในขณะนั้นได้

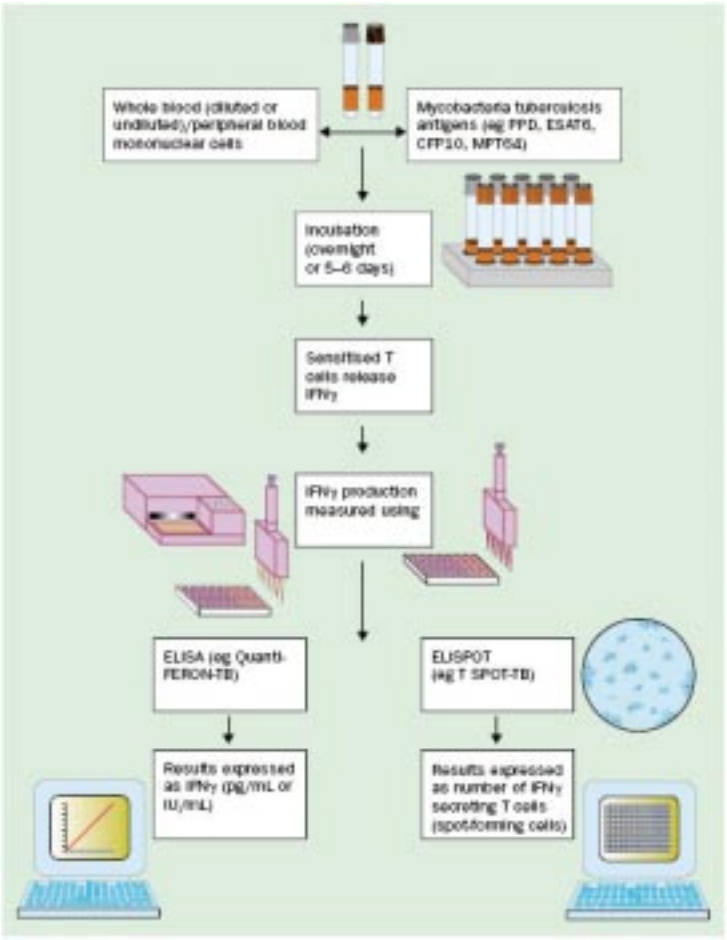
การตรวจ QFT-G ที่ให้ผลบวก ให้ถือว่ามีความสำคัญ ถึงแม้ว่าคนไข้ไม่มีอาการและอาการแสดงใดๆ ที่บ่งบอกว่าเป็นวัณโรคต้องตรวจค้นหาเพิ่มเติมว่าไม่ได้เป็นวัณโรคที่ active disease อยู่ เพราะคนเหล่านี้ถือว่าติดเชื้อวัณโรคแล้ว ต้องให้การรักษา LTBI หลังจากแยกได้ว่าบุคคลนั้นไม่ได้เป็นวัณโรคอยู่[24,25]

ELISPOT technique (T-SPOT-TB™) เป็นการตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคเช่นเดียวกัน แต่เป็นการตรวจนับ peripheral blood IFN-γ secreting T-cells ที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ESAT-6 และ CFP-10 แทนการวัด IFN-γ การตรวจนี้มีความไวในการตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงร้อยละ 85 เมื่อใช้การทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นตัวเทียบ ให้ความไวสูงถึง

ร้อยละ 96 ในคนที่เป็นวัณโรค (active disease) และสูงถึงร้อยละ 100 ในคนที่เป็นวัณโรคนอกปอด คนปกติทั่วไปที่ไม่ได้สงสัยว่าติดเชื้อวัณโรคและเคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว ELISPOT จะให้ผลลบ การตรวจทั้ง 2 วิธีแสดงไว้ในรูปที่ 3

ข้อดีของการวัดปริมาณ IFN-γ คือหลังจากให้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดขาวแล้ว 16-24 ชั่วโมง IFN-γ ที่เกิดขึ้นจะอยู่ใน supernatant เราสามารถเก็บรวบรวม supernatant นั้นไว้ตรวจวัดปริมาณ IFN-γ ได้ภายหลัง (เก็บ 2-8°C นาน 4 สัปดาห์ หรือ -20°C นาน 3 เดือน) สำหรับ QuantiFERON-TB Gold ปริมาณ IFN-γ ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.35 IU/ml ถือว่าเป็นผลบวก (positive control ต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 IU/ml) ส่วนวิธี ELISPOT จะนับจำนวนจุด (spot) ที่เกิดขึ้น แต่ละจุดจะแสดงถึง T-cell ที่ถูกกระตุ้นแล้วหลั่ง IFN-γ ออกมา สามารถนับด้วยตาเปล่าหรือใช้ plate-reader ถ้านับได้มากกว่า 5 จุดถือว่าเป็นผลบวก (positive control ต้องมีอย่างน้อย 20 จุด) วิธี ELISPOT ต้องทำทันทีหลังจากได้ตัวอย่างเลือดมาไม่สามารถเก็บไว้ทำภายหลังได้เพราะต้องการ T-cells ที่มีชีวิตทำปฏิกิริยากับแอนติเจน การตรวจทั้งสองวิธีสามารถทราบผลได้ภายใน 24 ชั่วโมง

การตรวจแบบใหม่นี้ให้ผลเป็นตัวเลขที่ชัดเจนจากเครื่องมือวัด ไม่เหมือนกับการทำทุเบอร์คุลินที่ต้องอาศัยคนวัดขนาดรอยนูนซึ่งมีข้อผิดพลาดจากตัวบุคคลมาก ข้อดีอีกประการหนึ่งคือคนไข้ไม่ต้องมาหลายครั้ง ระยะแรกของการพัฒนาการตรวจวัดปริมาณ IFN-γ ตั้งใจใช้สำหรับการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงเป็นหลัก ต่อมาพบว่าการตรวจวิธีนี้สามารถนำไปใช้ในอีกหลายๆ กรณีเช่น 1) วินิจฉัยวัณโรค (active tuberculosis) 2) แยกว่าเป็นการติดเชื้อ NTM หรือ *M.tuberculosis* 3) แยกว่าเป็นการติดเชื้อ *M.tuberculosis* หรือเป็นผลมาจากการฉีดวัคซีนบีซีจี 4) บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของวัคซีน (vaccine efficacy) 5) ช่วยทำนายว่าจะเป็นวัณโรค (reactivation disease)



รูปที่ 3 การตรวจ ELISPOT และ QuantiFERON-TB

D:\Zoom\Zoom\Journal\59(4)\Blood.p65

ในคนที่ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝง 6) ใช้เป็นตัวช่วยในการติดตามผลการรักษาวัณโรค[26]

ปัจจุบัน ELISPOT และ QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) ได้รับการยอมรับให้ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยวัณโรคในระยะแฝงแทนการทดสอบทุเบอร์คุลิน ในทุกประเทศแถบทวีปยุโรป ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา FDA ยอมรับให้เฉพาะ QFT-G ใช้สำหรับช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคในระยะแฝงและวัณโรคที่ active disease เมื่อ พฤษภาคม 2548 ข้อดีในการตรวจ QFT-G คือตรวจเลือดจากคนไข้เพียงครั้งเดียวทำให้ทราบผลได้ ไม่จำเป็นต้องมาอ่านผลการทดสอบอีกครั้งเหมือนกับการทดสอบทุเบอร์คุลิน เหมาะสำหรับการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในชุมชน และ infection control ในโรงพยาบาลด้วย ชุดทดสอบที่มีวางขายในขณะนี้มี QuantiFERON-TB gold (QFT-G: Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) สำหรับตรวจวัดปริมาณ IFN-γ และ T SPOT-TB test (Oxford Immunotec, Oxford, UK) สำหรับตรวจวัด CD4+ T-cells ที่ถูกกระตุ้นแล้วหลั่ง IFN-γ โดยตรง ประเทศไทยยังไม่มีหน่วยงานใดใช้ชุดทดสอบเหล่านี้สำหรับการตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงหรือช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค

การวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรค (active tuberculosis) และ วัณโรคในระยะแฝง (Latent Tuberculosis Infection)

การศึกษาส่วนใหญ่ทำในประเทศที่มีอัตราการเกิดวัณโรคต่ำและใช้การทดสอบผิวหนังทุเบอร์คุลินเป็นตัวเปรียบเทียบกับวิธี IFN-γ assay พบว่าผู้ป่วยที่เป็นวัณโรค ความไวในการทดสอบแตกต่างกันมากในแต่ละการศึกษา เมื่อเปรียบเทียบคนต่อคนพบว่าปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินมีความไวกว่าวิธี IFN-γ assay ถ้าเปรียบเทียบวิธี IFN-γ assay ด้วยกันเองโดยใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน ความไวของ PPD-based จะสูงกว่า ESAT6-based หรือ CFP10-based ถ้าใช้แอนติเจนทั้งสองตัว ESAT6+CFP10 ความไวจะใกล้เคียงหรือสูงกว่า PPD-based คนที่ได้รับการรักษาวัณโรคแล้วความไวในการตรวจโดย IFN-γ assay จะต่ำกว่าทุเบอร์คุลิน การศึกษาเหล่านี้ไม่ได้เปรียบเทียบความรุนแรงของวัณโรคกับความไวจากการตรวจทั้งสองวิธี Chapman และคณะ[26] พบว่าวิธี ELISPOT assay (EAST6 or CFP10) ให้ความไวร้อยละ 100 ในผู้ไม่ติดเชื้อเอชไอวี และความไวร้อยละ 90 ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ต่างจากการศึกษาของ Elliot และคณะ[27] พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีจะให้ผลความไวในการตรวจที่ต่ำกว่ามากไม่ว่าจะใช้แอนติเจนเป็น PPD หรือ CFP10

กรณีที่ไม่ได้ป่วยเป็นวัณโรค จากการศึกษาในประเทศที่อัตราการเกิดวัณโรคต่ำ ความจำเพาะจากการตรวจวิธีทุเบอร์คุลินและ IFN-γ assay ให้ผลใกล้เคียงกันเมื่อเทียบคนต่อคน ส่วน RD1-based ให้ความจำเพาะสูงกว่า PPD-based แต่ความไวจะสู้ PPD-based ไม่ได้ และถ้าใช้ RD1 antigens หลายๆ ตัวจะให้ความไวและความจำเพาะสูงสุด[28]

คนที่มีประวัติสัมผัสผู้ป่วยวัณโรค เมื่อตรวจร่างกายพบว่าปกติ ไม่มีอาการของวัณโรค ภาพถ่ายรังสีทรวงอกปกติ ทุเบอร์คุลินให้ผลบวก การตรวจโดยวิธี IFN-γ assay จะมีความไวมากกว่าร้อยละ 80 ไม่ว่าจะใช้แอนติเจนเป็น PPD-based หรือ RD1-based ถ้าเปรียบเทียบคนต่อคนพบว่า PPD-based ให้ความไวสูงกว่า RD1-based[28]

ความสอดคล้องระหว่างทุเบอร์คุลินและ IFN-γ assay

การตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงไม่มีการทดสอบที่เป็นมาตรฐาน จึงใช้ทุเบอร์คุลินเป็นตัวเปรียบกับวิธี IFN-γ assay การศึกษาส่วนใหญ่ทำในประเทศพัฒนาแล้วซึ่งมีอัตราการเกิดวัณโรคต่ำและประชากรไม่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน การตรวจทั้งสองวิธีมีความสอดคล้อง (agreement) สูงร้อยละ 60-80 [kappa (k) พิสัย -0.03 - 0.87][28] แต่บางรายงานพบว่าการตรวจทั้งสองวิธีไม่มีความสอดคล้องเช่น ทุเบอร์คุลินให้ผลบวกแต่ QTF-TB (PPD IFN-γ assay) ให้ผลลบ ส่วนใหญ่พบในคนที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน[29] หรือในคนที่เป็นวัณโรค (active disease) การตรวจ QTF-TB ให้ผลบวกสูงถึงร้อยละ 91 ขณะที่ทุเบอร์คุลินให้ผลบวกเพียงร้อยละ 65 ถ้าตรวจพบว่า QTF-TB ให้ผลบวกแต่ทุเบอร์คุลินให้ผลลบ มักพบว่าบุคคลเหล่านั้นมีความเสี่ยงต่อวัณโรคอยู่เช่น อายุมาก ติดสุราเรื้อรัง ไตวาย ได้รับยาเสตียรอยด์ หรือเป็นโรคมะเร็ง[30]

Ewer และคณะ[31] ศึกษาเด็กในโรงเรียนที่มีวัณโรคระบาด ที่ประเทศเดนมาร์กตรวจสองวิธีเปรียบเทียบกันระหว่าง Heaf test และ ELISPOT (EAST6 and CFP10) พบว่าทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องสูงร้อยละ 89 (k=0.72) เด็กที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีจะให้ผล Heaf test ขนาดใหญ่กว่าเด็กที่ไม่ได้วัคซีนบีซีจี ส่วนรายที่ ELISPOT เป็นบวกแต่ Heaf test เป็นลบจะได้ประวัติการสัมผัสวัณโรค ถ้า ELISPOT เป็นลบ แต่ Heaf test เป็นบวก

จะไม่ได้ประวัติการสัมผัสวัณโรค การตรวจโดย IFN-γ assay สามารถบอกถึงระดับของการสัมผัสวัณโรคได้ดีด้วย ซึ่งทุเบอร์คุลินไม่สามารถบอกระดับของการสัมผัสได้[32-34]

Pai M และคณะ[35] ศึกษาใน ประเทศอินเดียซึ่งมีอัตราการเกิดวัณโรคสูงและประชากรส่วนใหญ่ได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว รวมทั้งในพื้นที่นั้นมีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นๆ จากสิ่งแวดล้อมในปริมาณที่สูง ศึกษาในบุคลากรทางการแพทย์ เพื่อดูว่าการตรวจวิธี RD1-based IFN-γ assay จะสอดคล้องกับการตรวจโดยทุเบอร์คุลินอย่างไร พบว่าถ้าใช้ทุเบอร์คุลินที่ cut-off 10 มิลลิเมตร การตรวจทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันถึงร้อยละ 81.4 (k=0.61; 95% CI, 0.56-0.67) การได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนไม่มีผลต่อการตรวจโดยวิธีทุเบอร์คุลิน หรือ RD1-based IFN-γ assay ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญคืออายุยิ่งมากและการทำงานมานานจะยิ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรค การตรวจด้วยทุเบอร์คุลิน และ RD1-based IFN-γ assay จะให้ผลบวกมากขึ้น

การศึกษาในประเทศเกาหลี[36] เพื่อดูว่า IFN-γ assay สามารถช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงได้ดีหรือไม่ เพราะประชากรส่วนใหญ่ได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว 1-2 ครั้ง (แรกเกิดและอายุ 12-13 ปี ถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลลบ) โดยแยกคนกลุ่มต่างๆ 4 กลุ่มตามความเสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรค 1. ไม่มีความเสี่ยง 2. casual contact 3. close contact 4. ผู้ป่วยวัณโรค เปรียบเทียบกับการทดสอบทุเบอร์คุลิน พบว่าโดยรวมการตรวจทั้งสองวิธีไม่มีความสอดคล้องกัน (k=0.16) ผลการตรวจเป็นบวกมากขึ้นเมื่อมีความเสี่ยงสูงขึ้น IFN-γ assay ให้ผลบวกในกลุ่ม 1 และ 2 เพียงร้อยละ 4 และ 10 ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าความจริงมาก (ความชุกของวัณโรคระยะแฝงในประเทศเกาหลีประมาณร้อยละ 33) การที่ IFN-γ assay ให้ผลตรวจต่ำอาจเนื่องมาจาก antigenicity ของ ESAT-6 และ CFP-10 ที่ไม่สามารถครอบคลุมแอนติเจนจากเชื้อ *M.tuberculosis* ได้ทั้งหมด หรือเป็นผลจาก human leucocyte antigens หรือเวลาที่ให้ memory T cells ในหลอดทดลองน้อยเกินไปที่จะทำให้มีการตอบสนองต่อแอนติเจนที่นำมากระตุ้น ยังไม่มีข้อสรุป กลุ่ม 4 ผู้ป่วยที่เป็นวัณโรคอยู่ IFN-γ assay ให้ผลบวกร้อยละ 81 ขณะที่ทุเบอร์คุลินที่ cut-off 10 มิลลิเมตร ให้ผลบวกร้อยละ 78 ที่ cut-off 15 มิลลิเมตร ให้ผลบวกร้อยละ 70 แสดงว่า IFN-γ assay ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค (active disease) ได้ดี อย่างไรก็ตาม IFN-γ assay ช่วยในการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝงได้ถูกต้องกว่าวิธีทดสอบทุเบอร์คุลินในประเทศที่มีการฉีดวัคซีนบีซีจีและมีความชุกของวัณโรคสูงอยู่ ถึงแม้ว่าจะตรวจพบได้ต่ำกว่าความเป็นจริงก็ตาม

ข้อคิดเห็นสำหรับประเทศไทย

เนื่องจากวิธี RD1-based IFN-γ assay มีราคาแพงและต้องอาศัยเทคนิคในห้องปฏิบัติการชั้นสูง ไม่สามารถตรวจได้ทุกโรงพยาบาลในประเทศไทย และยังไม่มีข้อมูลในเด็กมากนัก ถ้าจะนำมาใช้ต้องพิจารณาให้ดี ดังนั้นผู้ป่วยเด็กที่มีประวัติสัมผัสวัณโรค การทำทุเบอร์คุลิน หลังจากซักประวัติและตรวจร่างกายจะเหมาะสม อาจจะถ่ายภาพรังสีทรวงอกไปพร้อมๆ กันหรือทำต่อเมื่อทุเบอร์คุลินให้ผลบวกก็ได้ ถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลบวก แต่ภาพถ่ายภาพรังสีทรวงอกปกติหรือไม่ชัดเจน และแพทย์ผู้รักษาไม่แน่ใจต่อผลการตรวจ สามารถตรวจเพิ่มเติมโดย RD1-based IFN-γ assay ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าติดเชื้อวัณโรคต้องทำการรักษา LTBI ต่อไป (หลังจากตรวจแล้วว่าไม่ได้ป่วยเป็นวัณโรค) ถ้ามีอาการเข้าได้กับวัณโรคต้องรักษาวัณโรค กรณีที่ RD1-based IFN-γ assay ให้ผลลบและมีประวัติสัมผัสจริงต้องตรวจซ้ำอีกครั้งในระยะเวลา 8-10 สัปดาห์ต่อมา ถ้ายังให้ผลลบแสดงว่าไม่ติดเชื้อวัณโรค ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงต้องให้ยารักษาต่อไป กรณีที่ประวัติและตรวจร่างกายสงสัยว่าเป็นวัณโรค (active tuberculosis) โดยเฉพาะวัณโรคนอกปอด ถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลบวก ภาพถ่ายภาพรังสีทรวงอกปกติ และยังสงสัยอยู่การตรวจ RD1-based IFN-γ assay จะช่วยในการวินิจฉัยได้มาก

สำหรับผู้ใหญ่ไม่นิยมทำทุเบอร์คุลิน เพราะประชากรในประเทศไทยได้รับวัคซีนบีซีจีตั้งแต่แรกเกิด ในสิ่งแวดล้อมมีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นๆ มาก ทำให้ได้รับการกระตุ้นตลอดเวลา รวมทั้งความชุกของวัณโรคสูง ผลการตรวจทุเบอร์คุลินในประชากรทั่วไปส่วนใหญ่ร้อยละ 70-80 ให้ผลบวก จึงไม่ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคทั้ง LTBI และ active tuberculosis ในด้านการควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล การทำทุเบอร์คุลินยังคงใช้อยู่เพราะใช้ติดตามในคนที่ให้ผลการทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นลบทุก 2 ปีเพื่อดูการได้รับเชื้อวัณโรคใหม่ซึ่งจำเป็นต้องให้การรักษา สำหรับผู้ป่วยผู้ใหญ่การตรวจ RD1-based IFN-γ assay จะมีประโยชน์มากโดยเฉพาะในรายที่สงสัยวัณโรคนอกปอด เนื่องจากไม่สามารถนำเชื้อวัณโรคมาตรวจยืนยันได้ ถ้าผลการตรวจ QTF-G ให้ผลบวกและมีอาการเข้ากันได้แสดงว่าเป็นวัณโรคจริง ผู้ป่วย

ทั่วไปที่ไม่ได้สงสัยว่าป่วยเป็นวัณโรคและไม่มีอาการ เมื่อตรวจร่างกายและถ่ายภาพรังสีทรวงอกปกติ ผลการตรวจ QTF-G ให้ผลบวก ถือว่ามีความสำคัญ แสดงว่าติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝง ควรให้ยารักษา ถ้าผลการตรวจให้ผลลบ แสดงว่าไม่ติดเชื้อวัณโรค

แนวทางการปฏิบัติในผู้สัมผัสวัณโรค

(New Guideline for Tuberculosis Contact Investigation)

เด็กทารกทุกคนในประเทศไทยได้รับวัคซีนบีซีจีตั้งแต่แรกเกิด ดังนั้นการแปลผลของปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินในเด็กเหล่านี้จึงมีข้อถกเถียงกันเป็นประจำว่าควรใช้ค่าที่เท่าไรจึงจะเหมาะสม สำหรับ 1) ใช้ช่วยวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรค (TB disease) 2) ใช้ช่วยวินิจฉัยว่าติดเชื้อวัณโรคในระยะแฝง (latent tuberculosis infection: LTBI) เพื่อจะให้การรักษาต่อไป จากการประชุมตกลงโดยผู้เชี่ยวชาญโรคติดเชื้อในเด็กและกองวัณโรคกระทรวงสาธารณสุข (วันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2550) เป็นดังนี้ การพิจารณาเลือกใช้ขนาดของปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน เพื่อการวินิจฉัยวัณโรคในระยะแฝง ไม่ต้องคำถึงถึงประวัติการได้รับวัคซีนบีซีจี ให้ดูอายุของผู้สัมผัสเป็นหลักร่วมกับชนิดของการสัมผัสว่า เป็นการสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ผลบวก หรือมีเสมหะ AFB ผลลบ แล้วปฏิบัติตามคำแนะนำ

อายุน้อยกว่า 5 ปี กรณีสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลบวก ไม่ต้องทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเพื่อมาตัดสินการรักษา LTBI เพราะต้องให้การรักษา LTBI ทุกรายหลังจากตรวจเพิ่มเติมแล้วไม่ป่วยเป็นวัณโรค (active disease) อยู่ในขณะนั้น ถ้าสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลลบ ควรทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเพื่อมาตัดสินการรักษา LTBI ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ต้องให้การรักษา LTBI ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร พิจารณาให้การรักษา LTBI เฉพาะเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 2 ปี เพราะมีความเสี่ยงต่อการเกิดวัณโรคนอกปอดมากกว่าเด็กโต

อายุระหว่าง 5 ปีถึง 18 ปี กรณีสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลบวก ต้องทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเพื่อมาตัดสินการรักษา LTBI ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร ต้องให้การรักษา LTBI ถ้ารอยนูนอยู่ระหว่าง 10-14 มิลลิเมตร พิจารณาให้การรักษา LTBI เป็นรายๆ ไป ถ้าสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลลบ ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร พิจารณาให้การรักษา LTBI ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 15 มิลลิเมตร ไม่ต้องให้การรักษา LTBI ควรใช้วิธีสังเกตอาการอย่างใกล้ชิด

คนในครอบครัวเป็นวัณโรค

กรณีที่มีคนในบ้านป่วยเป็นวัณโรค (active disease) มีเสมหะย้อม AFB ให้ผลบวก ถือว่าเป็นวัณโรคระยะติดต่อ ต้องตรวจทุกคนในบ้านเพื่อหาดูว่ามีใครป่วยเป็นวัณโรคด้วยหรือไม่ จะได้ทำการรักษาต่อไป ส่วนเด็กที่ไม่ได้ป่วยเป็นวัณโรค จะถือว่าเป็นผู้สัมผัสต้องให้การรักษาแบบ “วัณโรคในระยะแฝง (LTBI)” การให้ยารักษาแก่ใครบ้างต้องใช้ผลการตรวจทุเบอร์คุลินมาช่วยในการตัดสินใจ โดยไม่ต้องคำนึงถึงว่าเคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้วหรือไม่ เพราะเด็กกลุ่มนี้มีความเสี่ยงสูงที่สุดที่จะเป็นวัณโรคต่อไปในอนาคตถ้าไม่ได้รับการรักษา

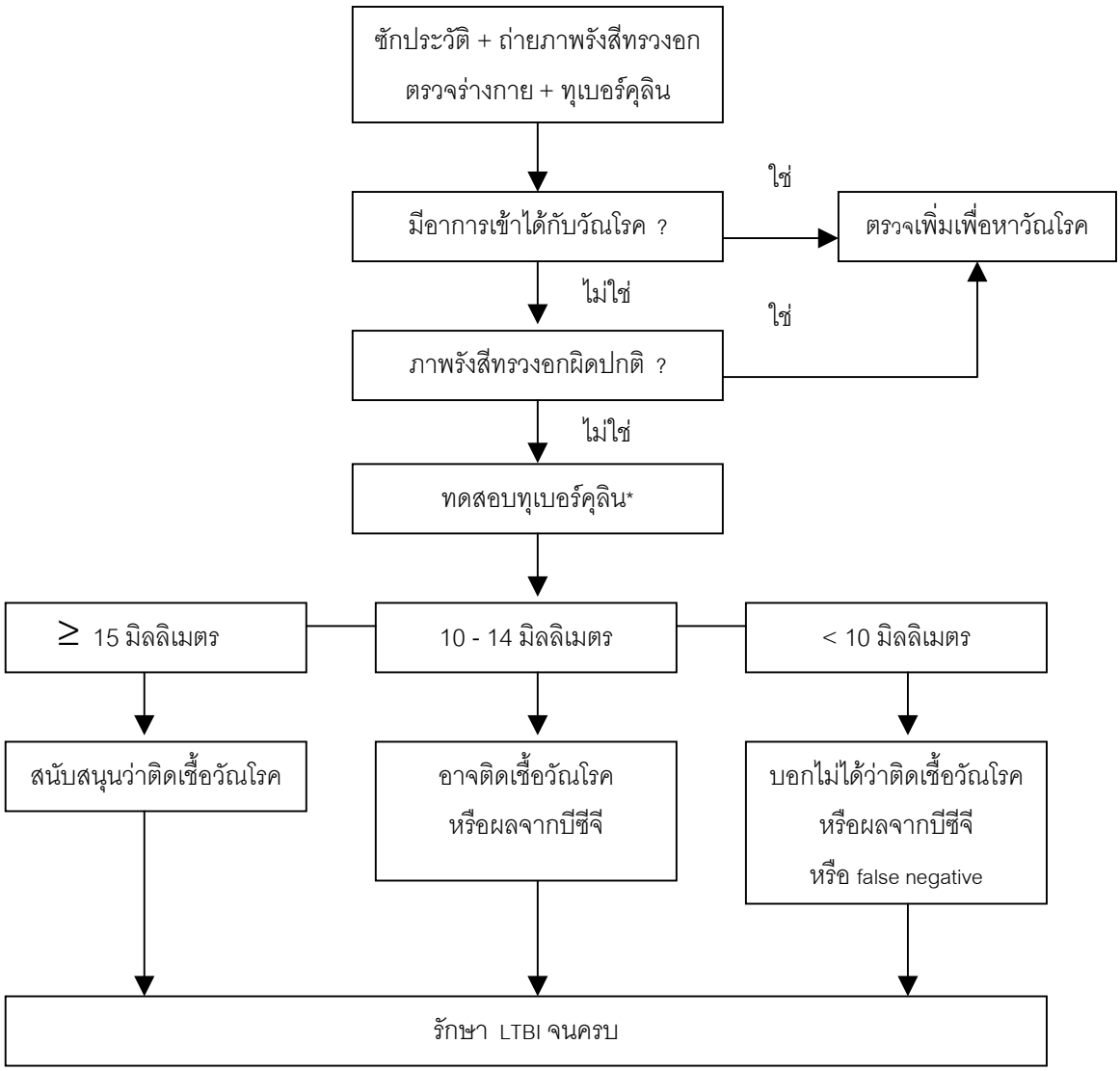
เด็กเล็กอายุน้อยกว่า 5 ปีมีประวัติสัมผัสใกล้ชิด (close contact) หรือความเสี่ยงของการสัมผัสอยู่ในระดับสูงหรือปานกลาง หลังจากที่ซักประวัติเพิ่มเติม ตรวจร่างกาย ถ่ายภาพรังสีทรวงอก แล้วไม่พบว่าป่วยเป็นวัณโรค ถ้าอยู่ในสถานที่ไม่สามารถทำการทดสอบทุเบอร์คุลินได้ (เฉพาะในประเทศไทย) สามารถให้การรักษาวัณโรคในระยะแฝงได้ทันที เนื่องจากเด็กเหล่านี้มีความเสี่ยงสูงที่จะรับเชื้อวัณโรคมาไม่นาน ในระยะไม่เกิน 5 ปีที่ผ่านมาซึ่งจะมีความเสี่ยงสูงที่จะป่วยเป็นวัณโรคถ้าไม่ได้รับการรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กเล็กๆ เมื่อป่วยเป็นวัณโรคแล้วมักเป็นชนิดแพร่กระจายมีอาการรุนแรง การรักษาในระยะแฝงจะได้ประโยชน์มากกว่า

ในสถานที่สามารถทำการทดสอบทุเบอร์คุลินได้ ควรทำการทดสอบทุเบอร์คุลินด้วย เพราะเป็นส่วนหนึ่งของเกณฑ์การวินิจฉัยวัณโรค (active disease) เมื่อตรวจเพิ่มเติมแล้วพบว่าเด็กไม่ได้ป่วยเป็นวัณโรค ต้องให้การรักษาวัณโรคในระยะแฝงแก่เด็กทุกรายโดยไม่คำนึงถึงผลการทดสอบทุเบอร์คุลินที่ได้ การแปลผลการทดสอบทุเบอร์คุลินให้พิจารณาดังนี้ ถ้าขนาดรอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร จะช่วยสนับสนุนว่าติดเชื้อวัณโรคจริง ถ้าขนาดรอยนูนอยู่ระหว่าง 10-14 มิลลิเมตร อาจเป็นผลจากการติดเชื้อวัณโรคหรือเป็นผลจากวัคซีนบีซีจีก็ได้ ถ้าขนาดรอยนูนน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ไม่สามารถบอกได้ว่าติดเชื้อวัณโรคแล้วหรือยัง หรือเป็นผลจากวัคซีนบีซีจี หรือเป็นผลลบลวง (false negative) ไม่สามารถแยกจากกันได้ (ถ้าตรวจโดยใช้ Quanti FERON-TB Gold จะสามารถบอกได้ว่าเป็นผลจากการติดเชื้อ

วัณโรคหรือจากวัคซีนบีซีจี) เมื่อให้การรักษาวัณโรคในระยะแฝงไปแล้วไม่แนะนำให้ทำการทดสอบทุเบอร์คุลินซ้ำอีก เพราะการตัดสินใจจะยังคงให้การรักษาวัณโรคในระยะแฝงเหมือนเดิม ดูรูปที่ 4

ส่วนเด็กโตอายุระหว่าง 5 - 18 ปี มีประวัติสัมผัสใกล้ชิด (close contact) หรือความเสี่ยงของการสัมผัสอยู่ในระดับสูงหรือปานกลาง ควรทำการทดสอบทุเบอร์คุลินก่อนเสมอ หลังจากที่ซักประวัติเพิ่มเติม ตรวจร่างกาย ถ่ายภาพรังสีทรวงอก แล้วไม่พบว่าป่วยเป็นวัณโรค ถ้าขนาดรอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร จะสนับสนุนว่าติดเชื้อวัณโรคจริง ให้การรักษาวัณโรคระยะแฝงได้ทันที ถ้าขนาดรอยนูนอยู่ระหว่าง 10 -14 มิลลิเมตร พิจารณาให้การรักษาวัณโรคในระยะแฝงได้เช่นกัน หรือจะสังเกตอาการก่อนโดยไม่ต้องให้ยาก็ได้แต่ต้องติดตามอย่างใกล้ชิดเป็นเวลา 2 ปี ถ้าขนาดรอยนูนน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร อาจจะยังไม่

รูปที่ 4 แนวทางการประเมินผู้สัมผัสวัณโรค อายุน้อยกว่า 5 ปี มีประวัติสัมผัสใกล้ชิด เสมหะ AFB พบเชื้อ



* *ไม่จำเป็นต้องทำทุเบอร์คุลินก็ได้ เพราะไม่มีผลต่อการตัดสินใจในการรักษาวัณโรคในระยะแฝง ไม่แนะนำให้ทำทุเบอร์คุลินซ้ำหลังจากรักษาไปแล้ว*

จากการประชุมผู้เชี่ยวชาญโรคติดเชื้อในเด็กและกองวัณโรคกระทรวงสาธารณสุข เมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2550

D:\Zoom\Zoom\Journal\59(4)\Blood.p65

ติดเชื้อวัณโรคเพราะยังอยู่ในระยะฟักตัว ยังไม่ต้องให้ยาแต่ให้ติดตามอย่างใกล้ชิด และให้ทำการทดสอบทุเบอร์คุลินซ้ำอีกครั้งหลังจาก 8-10 สัปดาห์ไปแล้ว ถ้าให้ผลบวก (มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร) จึงเริ่มให้การรักษาก็ยังทันไม่ช้าเกินไป ถ้าให้ผลลบแสดงว่าเด็กไม่ได้ติดเชื้อไม่จำเป็นต้องให้ยารักษา ดูรูปที่ 5 และให้การรักษาวัณโรคในระยะแฝงในกรณีที่เป็นการติดเชื้อใหม่ (recent converter ภายใน 1-2 ปี)

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำทุเบอร์คุลิน ให้นับจากระยะเวลาที่การสัมผัสสิ้นสุดลง ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะให้ผลบวกเร็วสุด 2 สัปดาห์ และนานสุดไม่ควรเกิน 12 สัปดาห์หลังจากรับเชื้อ[37] ดังนั้นถ้าทำทุเบอร์คุลินครั้งแรกในระยะเวลาเร็วกว่า 12 สัปดาห์หลังสัมผัสและให้ผลลบ (น้อยกว่า 10 มิลลิเมตร) ข้อมูลนี้ยังเชื่อถือไม่ได้ต้องทำซ้ำอีก 1 ครั้ง (เมื่อครบ 8-10 สัปดาห์หลังสัมผัส เพราะในกรณีที่ความเสี่ยงของการสัมผัสอยู่ในระดับสูงและปานกลาง CDC ให้ window period ลดลงเหลือ 8-10 สัปดาห์) ถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลบวกในครั้งที่สองให้ถือว่าเป็น recently infection ถ้าเป็นการสัมผัสที่มีความเสี่ยงต่ำ ทุเบอร์คุลินให้ผลบวกในครั้งที่สองให้ถือว่าเป็น booster phenomenon

กรณีสัมผัสกับผู้ที่สงสัยป่วยเป็นวัณโรคแต่เสมหะ AFB ให้ผลลบ หรือมีประวัติว่าสัมผัสกับคนที่ป่วยเป็นวัณโรคไม่ชัดเจน ระยะเวลาในการสัมผัสไม่แน่นอน เช่น มีเด็กในโรงเรียนเดียวกันกับลูกของตนเองป่วยเป็นวัณโรค เป็นวัณโรคที่ตำแหน่งใดไม่ทราบ และเป็นมานานเท่าใด ได้รับการรักษาหรือเปล่า ไม่ทราบเช่นกัน หรือนั่งรถประจำทางที่สงสัยว่ามีผู้ป่วยเป็นวัณโรครวมทางด้วย ซึ่งกุมารแพทย์สามารถพบกรณีเช่นนี้ได้บ่อยๆ ในคลินิกตรวจโรคทั่วไป ลักษณะเช่นนี้ถือว่าเป็นการสัมผัสที่มีความเสี่ยงต่ำ เมื่อทำการทดสอบทุเบอร์คุลิน ขนาดรอยนูนที่จะนำมาตัดสินเพื่อให้ยารักษาวัณโรคในระยะแฝงจะแตกต่างจากกรณี close contact ให้พิจารณาดังนี้

เด็กเล็กอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 ปี ถ้ารอยนูนที่มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ให้ถือว่าเป็นผลบวก ต้องให้ยารักษาวัณโรคในระยะแฝง ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร อาจพิจารณาให้ยารักษาวัณโรคในระยะแฝงได้ โดยเฉพาะถ้าเป็นเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 2 ปี เพราะมีความเสี่ยงต่อวัณโรคนอกปอดมากกว่าเด็กโต

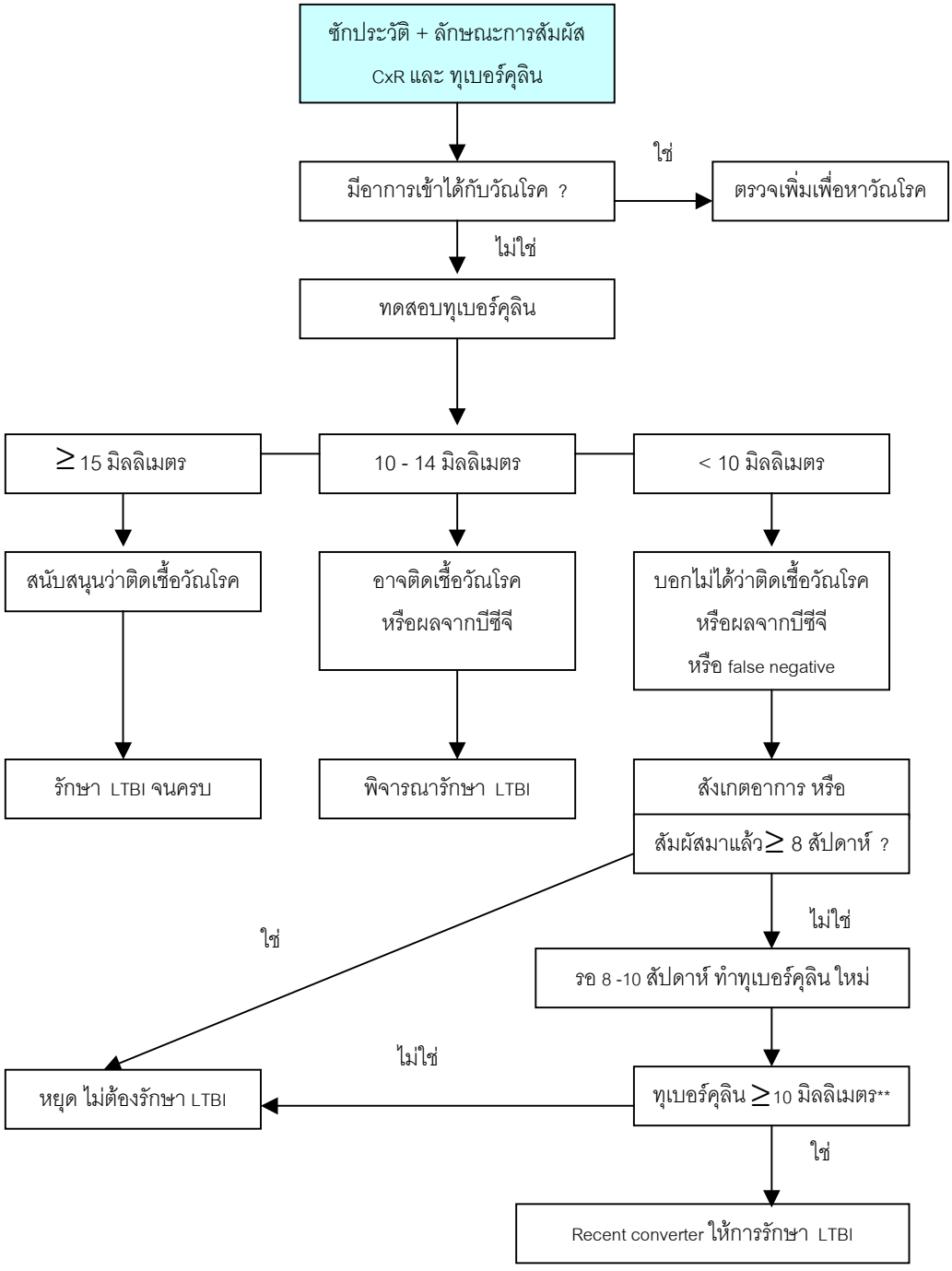
เด็กโตอายุ 5 - 18 ปี ถ้ารอยนูนที่มากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร ให้ถือว่าเป็นผลบวก พิจารณาให้ยารักษาวัณโรคในระยะแฝงได้ ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 15 มิลลิเมตร ไม่ต้องให้ยารักษาวัณโรคในระยะแฝง ให้สังเกตอาการก็เพียงพอดังแสดงในรูปที่ 6

สำหรับเด็กที่ติดเชื้อเอชไอวี ขนาดรอยนูนที่มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ให้ถือว่าผลทุเบอร์คุลินเป็นบวก ดังนั้นถ้ามีประวัติสัมผัสกับผู้ป่วยเป็นวัณโรค ไม่ว่าจะมีความเสี่ยงของการสัมผัสอยู่ในระดับสูงหรือปานกลาง ให้ทำการตรวจเช่นเดียวกันเพื่อหาดูว่าป่วยเป็นวัณโรคแล้วหรือยัง ถ้ายังไม่ป่วยเป็นวัณโรคสามารถให้ยารักษาวัณโรคในระยะแฝงได้ทันที ถึงแม้ว่าให้การทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นลบ (น้อยกว่า 5 มิลลิเมตร) เพราะเด็กกลุ่มนี้มีความเสี่ยงสูงมากๆ ที่จะป่วยเป็นวัณโรคเมื่อได้รับเชื้อวัณโรคมา ระยะเวลาให้ยาต้องให้นาน 9 เดือน

คนที่เป็นวัณโรคในระยะแฝง จะไม่มีอาการป่วยใดๆ ตรวจร่างกายไม่พบความผิดปกติ ภาพถ่ายรังสีทรวงอกไม่พบว่าเป็น active tuberculosis แต่อาจจะเห็นเป็นลักษณะของการติดเชื้อวัณโรคในอดีต เช่น 1) apical fibronodular infiltration อาจจะมี lung volume loss ร่วมได้ ภาพถ่ายรังสีทรวงอกลักษณะนี้ โอกาสที่จะกลายเป็นวัณโรคต่อไปสูงถึง 2.5 เท่า ถ้าเทียบกับคนที่ติดเชื้อวัณโรคและมีภาพถ่ายรังสีทรวงอกปกติ 2) ภาพถ่ายรังสีทรวงอกแสดงลักษณะวัณโรคปอดที่หายแล้ว (healed primary tuberculosis) เห็นเป็น calcified solitary pulmonary nodules, calcified hilar lymph nodes, pleural thickening ลักษณะแบบนี้ไม่ถือว่ามีความเสี่ยงที่จะเป็นวัณโรคอีก การดูภาพถ่ายรังสีทรวงอกเพียงครั้งเดียวไม่สามารถบอกโรคได้ทั้งหมด ต้องติดตามดูเป็นระยะ ถ้าพบว่าความผิดปกติที่เห็นจากภาพถ่ายรังสีทรวงอกไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น จำเป็นต้องตรวจเสมหะด้วย เพื่อดูว่าไม่เป็น active tuberculosis เมื่อแยกได้แล้วว่าไม่ได้เป็นวัณโรค คนกลุ่มนี้ต้องให้การรักษา latent tuberculosis infection

ในโรงเรียนอนุบาล หรือสถานรับเลี้ยงเด็กก่อนวัยเรียน ถ้ามีเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 5 ปีป่วยเป็นวัณโรค (TB disease) เด็กน่าจะติดวัณโรคมาจากผู้ใหญ่มากกว่าจากเด็กเล็กด้วยกัน เพราะเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 5 ปีไม่สามารถแพร่เชื้อวัณโรคให้คนอื่น ๆ รวมทั้งเด็กด้วยกัน[38] ต้องตรวจผู้ใหญ่ทุกคนในโรงเรียนนั้นด้วยหลังจากหา source case ในครอบครัวของเด็กแล้วไม่พบ (การหา source case ในกรณีนี้พบได้น้อยกว่าร้อยละ 50) ถ้าพบว่า source case เป็นผู้ใหญ่ในโรงเรียน เด็กเล็กคนอื่นๆ ในโรงเรียนนั้น โดยเฉพาะที่ไปสัมผัสกับ source case ถือว่ามีความเสี่ยงสูงที่จะติดวัณโรค ต้องตรวจเด็กเหล่านั้นเพิ่มเติมเพื่อประเมินความ

รูปที่ 5 แนวทางการประเมินผู้สัมผัสวัณโรค อายุ 5-18 ปี มีประวัติสัมผัสใกล้ชิดเสมหะ AFB พบเชื้อ



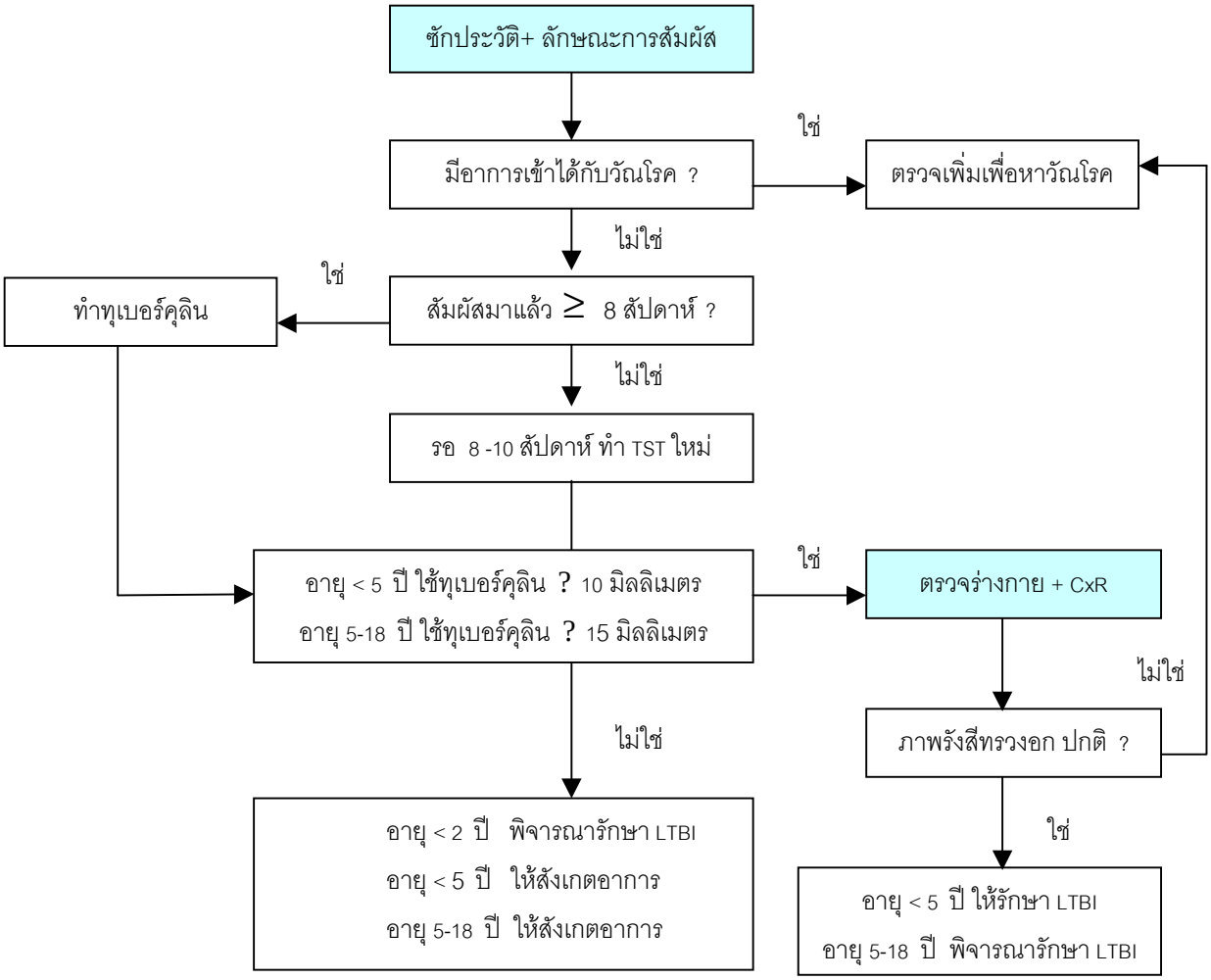
** *กรณีที่ทำทุเบอร์คุลินซ้ำ*

1. *ถ้ารอยนูนครั้งที่สองมีขนาด มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร และใหญ่ขึ้นกว่าเดิม มากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร แสดงว่าเป็นผลต่างจริง ไม่ใช่เกิดจากความผิดพลาดจากการอ่าน ให้ถือว่าเป็น recent converter ต้องให้การรักษา LTBI*
2. *ถ้ารอยนูนครั้งที่สองมีขนาดระหว่าง 10-14 มิลลิเมตร แต่ใหญ่ขึ้นกว่าเดิมไม่ถึง 6 มิลลิเมตร อาจเกิดจากความผิดพลาดในการอ่าน หรืออาจเป็น recent converter ก็ได้ ให้สังเกตอาการ หรือพิจารณาให้การรักษา LTBI โดยพิจารณาเป็นรายๆ ไป*

จากการประชุมผู้เชี่ยวชาญโรคติดเชื้อในเด็กและกองวัณโรคกระทรวงสาธารณสุข เมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2550

D:\Zoom\Zoom\Journal\59(4)\Blood.p65

รูปที่ 6 แนวทางการประเมินผู้สัมผัสวัณโรค ที่มีความเสี่ยงต่ำ เสมหะ AFB ไม่พบเชื้อ



จากการประชุมผู้เชี่ยวชาญโรคติดเชื้อในเด็กและกองวัณโรคกระทรวงสาธารณสุข เมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2550

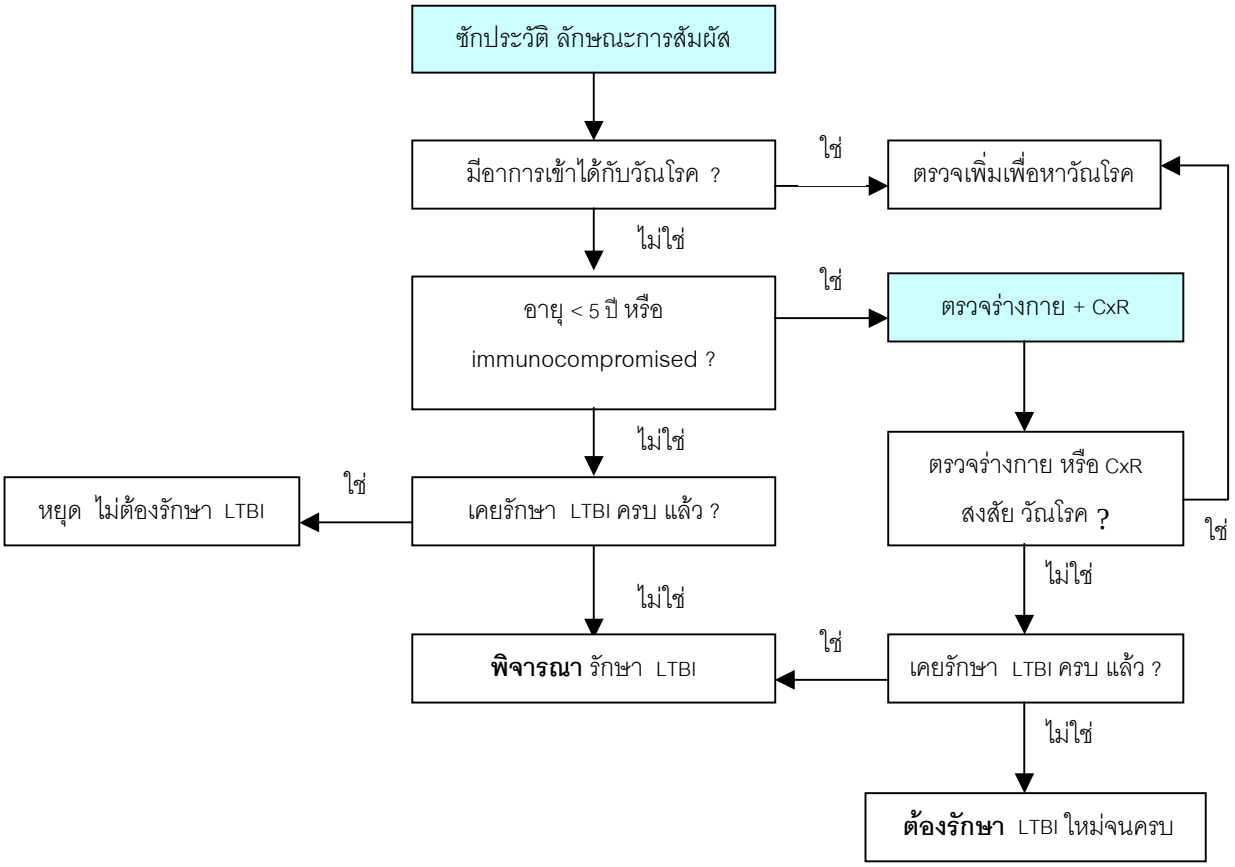
เสี่ยงและให้ยารักษาที่เหมาะสม

ถ้าเด็กเป็นเพียง LTBI การจะตรวจหา source case จะทำต่อเมื่อเด็กคนนั้นอายุน้อยกว่า 2 ปีและมีข้อมูลเพียงพอที่จะติดตามผลได้รวมทั้งมีประโยชน์ต่อการสอบสวนโรค

สำหรับในโรงเรียนเด็กโตหรือมหาวิทยาลัย ถ้ามีผู้ป่วยเป็นวัณโรคมักเป็นชนิด adult-form TB ซึ่งมีโอกาสติดต่อได้สูง จึงต้องตรวจทุกคนที่เกี่ยวข้องทั้งที่บ้านและโรงเรียน เพื่อประเมินความเสี่ยงจะได้ทำการรักษาที่เหมาะสมต่อไป

กรณีที่ผู้สัมผัสเคยทำการทดสอบทุเบอร์คุลินมาก่อนและให้ผลบวก ถือว่าเป็นการสัมผัสใหม่ต้องประเมินใหม่เช่นกันว่าขณะนี้มีอาการของวัณโรคหรือไม่ การทำทุเบอร์คุลินจะไม่มีประโยชน์ในคนกลุ่มนี้ เพราะถ้าครั้งหนึ่งเคยทำแล้วให้ผลบวก ผลบวกนี้จะอยู่ตลอดไปแต่มี wane ได้ จึงไม่ต้องทำทุเบอร์คุลิน ถ้าตรวจเพิ่มเติมแล้วพบเป็นวัณโรค (active disease) ต้องให้การรักษาวัณโรค ถ้าไม่มีอาการของวัณโรค ในเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปีหรือมีภูมิต้านทานผิดปกติ ให้ตรวจร่างกายและถ่ายภาพรังสีทรวงอก กรณีไม่พบความผิดปกติต้องให้ยารักษา LTBI ด้วย ถ้าเป็นเด็กโตอายุมากกว่า 5 ปี และไม่มีภูมิต้านผิดปกติกรณีเคยได้รับการรักษา LTBI ครบมาแล้วไม่จำเป็นต้องให้ยารักษา LTBI อีก กรณีได้รับการรักษาไม่ครบพิจารณาให้การรักษา LTBI ใหม่อีกครั้ง ดูรูปที่ 7

รูปที่ 7 แนวทางการประเมินผู้สัมผัสวัณโรค ที่ครั้งหนึ่ง "ทุเบอร์คุลิน" เป็นบวก[13]



เอกสารอ้างอิง

1. Andersen P, Doherty TM. The success and failure of BCG: implications for a novel tuberculosis vaccine. Nat Rev Microbiol 2005;3:656-62.
2. Hart PD. Efficacy and applicability of mass BCG vaccination in tuberculosis control. Br Med J 1967;1:587-92.
3. Behr MA, Small PM. Has BCG attenuated to impotence ? Nature 1997;389:133-4.
4. Comstock GW, Woolpert SF, Livesay VT. Tuberculosis studies in Muscogee county, Georgia. Twenty-year evaluation of a community trial of BCG vaccination. Public Health Rep. 1976; 91:276-80.
5. Hart PD, Sutherland I. BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescence and early adult life. Br Med J 1977;2:293-5.
6. Sterne JA, Rodrigues LC, Guedes IN. Does the efficacy of BCG decline with time since vaccination ? Int J Tuber Lung Dis. 1998;2:200-7.
7. Malhotra I, Mungai P, Wamachi A, et al. Helminth- and Bacillus Calmette-Guerin-induced immunity in children sensitized in utero to filariasis and schistosomiasis.J Immunol. 1999;162:6843-8.
8. Cooper PJ, Chico M, Sandoval C, et al. Human infection with Ascaris lumbricoides is associated with suppression of the interleukin-2 response to recombinant cholera toxin B subunit following vaccination with the live oral cholera vaccine CVD 103-HgR. Infect Immun 2001;69:1574-80.
9. Elias D, Wolday D, Akuffo H, Petros B, Bronner U, Britton S. Effect of deworming on human T cell responses to mycobacterial antigens in helminth-exposed individuals before and after bacille Calmette-Gurein (BCG) vaccination. Clin Exp Immunol 2001;123:219-25.
10. Ferreira AP, Antonio SA, Maycron WB, et al. Can the efficacy of bacille Calmetyte-Gurein tuberculosis vaccine be affected by intestinal parasitic infection ? J Infect Dis 2002;186:441-3.
11. Baily G. Tuberculosis prevention trial, Madras. Indian J Med Res 1980;72:S1-74.
12. Floyd S, Ponnighaus JM, Bliss L, et al. Kinetics of delayed-type hypersensitivity to tuberculin induced by bacilli Calmette-Guerin vaccination in northern Malawi. J Infect Dis 2002;186:807-14.
13. Fine PE, Floyd S, Stanford JL, et al. Environmental mycobac-

teria in northern Malawi: implications for the epidemiology of tuberculosis and leprosy. Epidemiol Infect. 2001;126:379-87.

14. Doherty TM, Andersen P. Vaccine for tuberculosis: Novel concepts and recent progress. Clin Microbiol Rev 2005;18:687-702.
15. Doherty TM, Rock G. Progress and hindrances in tuberculosis vaccine. Lancet 2006;367:947-9.
16. Ulmer JB. Proceeding of a noble symposium on tuberculosis: Tuberculosis DNA vaccine. Scand J Infect Dis 2001;33:246-8.
17. Loerie DB, Tascon RE, Bonato VLD. Lima VMF, Faccioli LH, Stavropoulos, et al. Therapy of tuberculosis in mice by DNA vaccination. Nature 1999;400:269-71.
18. Horwitz MA, Harth G. A new vaccine against tuberculosis affords greater survival after challenge than the current vaccine in the guinea pig model of pulmonary tuberculosis. Infect Immun 2003;71:1672-9.
19. Kaplan G. Rational vaccine development-A new trend in tuberculosis control. N Engl J Med 2005;353:1624-5.
20. Smith PG. BCG vaccination: In P.D.O. Davies (ed), Clinical tuberculosis, 1st ed. Chapman and Hall Medical, London, England. 1994:p297-310.
21. Fourie PB, Ellner JJ & Johnson, Whither L. Mycobacterium vaccae: encore. Lancet 2002;360:1032-33.
22. Geluk A, Van Meligaarden KE, Franken KL, et al. Identification and characterization of the EAST-6 homologue of Mycobacterium leprae and T-cell cross-reactivity with Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun 2002;70:2544-8.
23. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-bases assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:59-64.
24. Mazurek G, Jereb J, LoBue P, et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United State. MMWR 2005;54(RR15)49-55.
25. National Tuberculosis Controllers Association and CDC. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious uberculosis. MMWR 2005;54(RR15):1-37.
26. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. AIDS 2002;16:2285-93.
27. Elliott AM, Hurst TJ, Balyeku MN, et al. The immune response to Mycobacterium tuberculosis in HIV-infected and uninfected adults in Uganda: application of a whole bolld cytokine assay in an epidemiological study. Int J Tuberc Lung Dis 1999;3:239-47.
28. Pai M, Riley LW, Colford JM, Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis 2004;4:761-76.
29. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, et al. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent Mycobacterium tuberculosis infection. JAMA 2001;286:1740-7.
30. Fietta A, Meloni F, Cascina A, et al. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay and tuberculin skin testing in patients with active tuberculosis and individuals at high or low risk of Mycobacterium tuberculosis infection. Am J Infect Control 2003;31:347-53.
31. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet 2003;361:1168-73.
32. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follman F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:65-9.
33. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. Lancet 2001;357:2017-21.
34. Richeldi L, Ewer K, Losi M, et al. Tcell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:288-95.
35. Pai K, Gokgale K, Joshi R, et al. Mycobacterium tuberculosis infection in health case workers in rural India. JAMA 2005;293: 2746-55.
36. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. JAMA 2005;293:2756-61.
37. American Thoracic Society and Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. MMWR June 9, 2000;49/No.RR-6:1-51.
38. American Academy of Pediatrics/Committee on Infectious Diseases. Tuberculosis. In: Pickering LK, ed. 2000 red book: report of the Committee on Infectious Diseases. 25th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2000:595-611.