

COPY

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

48

International Application No.

PCT/TH2022/000048

30 November 2022 (30.11.2022)

International Filing Date

Department of Intellectual Property (DIP) (RO/TH)
PCT International Application

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference (if desired) (25 characters maximum)

Box No. I TITLE OF INVENTION

STRIP TEST KIT FOR TUBERCULOSIS DIAGNOSIS

Box No. II APPLICANT

☐ This person is also inventor

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

CHIANG MAI UNIVERSITY
239, Huay Kaew Road, Muang District
Chiang Mai 50200
THAILAND

E-mail address*

Telephone No.

Facsimile No.

Applicant's registration No. with the Office

* E-mail authorization: Indicating an e-mail address above authorizes the receiving Office, the International Searching Authority and the International Bureau, if they provide such a service, to send notifications exclusively by e-mail to that address, unless the following box is marked:

☐ notifications are requested to be sent exclusively by postal mail.

State (that is, country) of nationality:

TH

State (that is, country) of residence:

TH

This person is applicant for the purposes of:

☒ all designated States

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

ORNTHANALAI, Veravej and/or JRINGJITR, Kittitheap
AKIP Venture Company Limited
No.7 Soi 9 Siri Mangkalajarn Road
Suthep, Muang Chiang Mai
Chiang Mai 50200
THAILAND

E-mail address*

patent@idgthailand.com

Telephone No.

+66 2 011 7161

Facsimile No.

Agent's registration No. with the Office

2314, 2375

* E-mail authorization: Indicating an e-mail address above authorizes the receiving Office, the International Searching Authority and the International Bureau, if they provide such a service, to send notifications exclusively by e-mail to that address, unless the following box is marked:

☐ notifications are requested to be sent exclusively by postal mail.

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

OFFICE OF NATIONAL HIGHER EDUCATION SCIENCE
RESEARCH AND INNOVATION POLICY COUNCIL
319 Chamchuri Square Building 14th Floor
Phayathai Road, Patumwan, Bangkok 10330
THAILAND

This person is:

- ☒ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

TH

State (that is, country) of residence:

TH

This person is applicant for the purposes of:



all designated States



the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

KASINRERK, Watchara
191/178 Moo 5, Chaechang
San Kamphaeng, Chiang Mai 50130
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

TH

State (that is, country) of residence:

TH

This person is applicant for the purposes of:



all designated States



the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

TAYAPIWATANA, Chatchai
369/73, Soi Pradoo 1
Yanava, Bangkok 10120
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

TH

State (that is, country) of residence:

TH

This person is applicant for the purposes of:



all designated States



the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

PHUNPAE, Ponrut
280/3 Moo 6, San Sai Noi
San Sai, Chiang Mai 50210
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

TH

State (that is, country) of residence:

TH

This person is applicant for the purposes of:



all designated States



the States indicated in the Supplemental Box



Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

PATA, Supansa
42 Moo 1, Mae Je Dee Mai
Wiang Pa Pao, Chiangrai 57260
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
TH

State *(that is, country)* of residence:
TH

This person is applicant
for the purposes of:

☐ all designated States

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

YASAMUT, Umpa
256 Moo 9, Wiang Kalong
Wiang Pa Pao, Chiangrai 57260
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
TH

State *(that is, country)* of residence:
TH

This person is applicant
for the purposes of:

☐ all designated States

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

THONGKUM, Weeraya
90 Moo 12, Mukkhamontri Road
Ban Mai, Muang, Nakhon Ratchasima 30000
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
TH

State *(that is, country)* of residence:
TH

This person is applicant
for the purposes of:

☐ all designated States

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

LAOPAJON, Witida
41 Moo 9, Maehopra
Mae Tang, Chiang Mai 50150
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
TH

State *(that is, country)* of residence:
TH

This person is applicant
for the purposes of:

☐ all designated States

☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

TAKHEAW, Nuchjira
57 Moo 4, Sanpong, Maerim
Chiang Mai 50180
THAILAND

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

TH

State (that is, country) of residence:

TH

This person is applicant for the purposes of:

☐

all designated States

☐

the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

☐

all designated States

☐

the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

☐

all designated States

☐

the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

☐

all designated States

☐

the States indicated in the Supplemental Box

☐

Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a) the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.

However,

- ☐ DE Germany is not designated for any kind of national protection
- ☐ JP Japan is not designated for any kind of national protection
- ☐ KR Republic of Korea is not designated for any kind of national protection

(The check-boxes above may only be used to exclude (irrevocably) the designations concerned if, at the time of filing or subsequently under Rule 26bis.1, the international application contains in Box No. VI a priority claim to an earlier national application filed in the particular State concerned, in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of this earlier national application.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM AND DOCUMENT

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO	regional application: regional Office	international application: receiving Office
item (1)				
item (2)				
item (3)				

- ☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Furnishing the priority document(s):

- ☐ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application(s) was filed with the receiving Office which, for the purposes of this international application, is the receiving Office) identified above as:

☐ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box

- ☐ The International Bureau is requested to obtain from a digital library a certified copy of the earlier application(s) identified above, using, where applicable, the access code(s) indicated below (if the earlier application(s) is available to it from a digital library):

☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box

access code _____ access code _____ access code _____

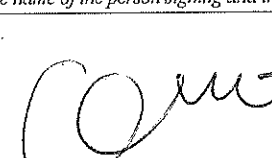
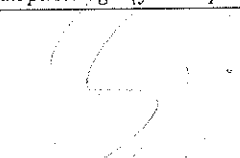
Restore the right of priority: the receiving Office is requested to restore the right of priority for the earlier application(s) identified above or in the Supplemental Box as item(s) (_____). (See also the Notes to Box No. VI; further information must be provided to support a request to restore the right of priority.)

Incorporation by reference: where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a), or an element or part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5bis(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) (if more than one International Searching Authority is competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA/ US

Box No. IX CHECK LIST for PAPER filing – only to be used when filing on PAPER			
This international application contains the following:	Number of sheets	This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item):	Number of items
(a) request form PCT/RO/101 (including any declarations and supplemental sheets) :	6	1. ☒ fee calculation sheet. :	1
(b) description :	15	2. ☐ original separate power of attorney :	
(c) claims :	2	3. ☐ original general power of attorney :	
(d) abstract :	1	4. ☐ copy of general power of attorney; reference number: :	
(e) drawings (if any) :	2	5. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s) :	
Total number of sheets :	26	6. ☐ Translation of international application into (language): :	
(f) sequence listing part of the description as a WIPO Standard ST.26 XML file (indicate type and number of physical data carrier(s)): :		7. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material :	
Figure of the drawings which should accompany the abstract:	Fig. 1	Language of filing of the international application:	Thai
Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE <i>Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).</i>			
 ORNTHANALAI, Veravej (Agent)  JRINGJITR, Kittitheap (Agent)			
For receiving Office use only For International Bureau use only			
1. Date of actual receipt of the purported international application:	2. Drawings:		
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	☐ received:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	☐ not received:		
5. International Searching Authority (if two or more are competent):	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid		
Date of receipt of the record copy by the International Bureau:			

ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นทดสอบ

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

เทคโนโลยีชีวภาพในส่วนที่เกี่ยวข้องกับชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นทดสอบ

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

- 5 วัณโรค (Tuberculosis หรือ TB) เป็นโรคติดต่อเรื้อรังที่เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขทั่วโลก ประเมินการณว่ามีผู้ติดเชื้อวัณโรคถึงหนึ่งในสามของประชากรโลก วัณโรคเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) complex (MTBC) โดย *M. tuberculosis* นับเป็นเชื้อที่พบได้มากที่สุด ติดต่อผ่านการหายใจและเอาละอองฝอยที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่เข้าไป เป็นโรคติดต่อรุนแรงและเรื้อรังที่ก่อโรคได้กับอวัยวะทุกส่วนของร่างกาย แต่ที่พบมากที่สุดคือ วัณโรคปอด (pulmonary tuberculosis)
- 10 (มากกว่าร้อยละ 80) และยังสามารถพบได้บริเวณอื่นๆ (extrapulmonary tuberculosis) เช่น เยื่อหุ้มปอด ต่อม น้ำเหลือง กระดูกสันหลัง ข้อต่อ ข้อเท้า ระบบทางเดินปัสสาวะ ระบบสืบพันธุ์ และระบบประสาท เป็นต้น วัณโรคสามารถก่อโรคได้ในคนทั่วไป แต่มักพบก่อโรคในผู้สูงอายุ หรือผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอจากการเป็นโรคอื่นมาก่อน เช่น ไข้หวัด หัด ไ้กรน ผู้ติดยาเสพติด โรคเอดส์ รวมถึงผู้ที่มีประวัติใกล้ชิดกับคนที่เป็โรค เช่น นอนห้องเดียวกัน หรืออยู่บ้านเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามพบเพียงหนึ่งในสิบของผู้ที่รับเชื้อเท่านั้นที่สามารถพัฒนาเป็น
- 15 วัณโรคได้และส่วนมากมักอยู่ในระยะแฝง นอกจากนั้นยังมีการรายงานการเพิ่มขึ้นของวัณโรคที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Non-tuberculosis mycobacteria (NTM) ซึ่งมีอาการคล้ายกันแต่การรักษาแตกต่างกัน รวมถึงการติดเชื้อวัณโรคชนิดดื้อยาหลายขนาน (multidrug-resistant *M. tuberculosis* หรือ MDR-TB) ที่พบว่าเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงและต้องใช้เวลาในการรักษานานกว่าการติดเชื้อวัณโรคปกติ ในปี ค.ศ.2021 องค์การอนามัยโลก (WHO) มีการรายงานว่าพบผู้ติดเชื้อวัณโรคสูงถึง 9.9 ล้านคน (รายใหม่และกลับเป็นซ้ำ) ใน
- 20 จำนวนนี้พบว่าเป็นเด็กอายุ 0-14 ปี 1.1 ล้านคน และจำนวนผู้ป่วยวัณโรคเสียชีวิตสูงถึง 1.3 ล้านคน สำหรับ

ประเทศไทยมีอุบัติการณ์ผู้ป่วยวัณโรครายใหม่และกลับมาเป็นซ้ำประมาณ 105,000 หรือคิดเป็น 150 คนต่อประชากรแสนคน

- ปัจจุบันการวินิจฉัยวัณโรคเป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมาก หากมีการวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคที่ถูกต้องและรวดเร็ว จะทำให้การรักษาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถควบคุมการแพร่กระจายของโรคได้ ใน
- 5 การวินิจฉัยผู้ป่วยที่ติดเชื้อวัณโรคนั้นต้องพิจารณาหลายปัจจัยร่วมกัน เช่น ภาวะเสี่ยงในการติดเชื้อ การแสดงออกของอาการ การเอกซเรย์ทรวงอก (chest X-ray) การตรวจผิวหนัง (tubulin skin test) การตรวจย้อมเชื้อวัณโรคในเสมหะ (Acid Fast Bacilli staining หรือ AFB) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ และการเพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง (Mycobacterium growth indicator tube หรือ MGIT) อย่างไรก็ตาม การตรวจด้วยการเอกซเรย์ทรวงอก การตรวจผิวหนัง และการตรวจย้อมเชื้อวัณโรคในเสมหะ มีความไวและความจำเพาะต่ำ ทำให้การ
- 10 วินิจฉัยผิดพลาดได้ ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคสามารถทำได้เฉพาะในโรงพยาบาลที่มีห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวัณโรคและเนื่องจากเชื้อวัณโรคเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีการเจริญเติบโตช้า การวินิจฉัยโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคนี้จึงใช้เวลาออกผลวินิจฉัยนาน โดยประมาณ 6-8 สัปดาห์ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการทางอนุชีววิทยาขึ้นมาหลายรูปแบบเพื่อการวินิจฉัยวัณโรค วิธีเหล่านี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง (high specificity) แต่ก็มีข้อด้อยคือมีวิธีการทำที่ยุ่งยาก ต้องการผู้ที่มีความชำนาญในการดำเนินการ สามารถทำได้
- 15 เฉพาะในห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทางเทคนิคอนุชีววิทยา และมีราคาในการตรวจสูง จึงไม่เหมาะสมสำหรับประเทศด้อยพัฒนาและประเทศกำลังพัฒนา ซึ่งมักเป็นประเทศที่มีอัตราการระบาดของวัณโรคสูง ดังนั้น จะเห็นได้ว่าวิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรคที่ใช้ในปัจจุบันยังไม่มีความเหมาะสม เนื่องจากการวินิจฉัยวัณโรคอย่างรวดเร็วและการทราบถึงการติดเชื้อในระยะเริ่มแรกจะทำให้การรักษาเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีประโยชน์ต่อการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค ดังนั้น การศึกษาและพัฒนาวิธีการวินิจฉัยวัณโรคแบบใหม่ ๆ
- 20 จึงเป็นสิ่งจำเป็นและเป็นที่ต้องการของวงการสาธารณสุข

จากการสืบค้นสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องการตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคพบงานที่ปรากฏอยู่แล้วยกตัวอย่างเช่น

สิทธิบัตรยุโรปเลขที่ประกาศโฆษณา EP3726219A1 กล่าวถึง วิธีการวินิจฉัยวัณโรค ที่ประกอบด้วยชุด
 น้ำยา acidic substance สำหรับใช้คัดแยกแอนติเจนของเชื้อ tuberculosis antigen complexes จากตัวอย่าง
 จากผู้ป่วย ชุดน้ำยา neutralizing reagent (basic buffer solution) และแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจน โดย
 ที่ชุดตรวจนี้สามารถตรวจแอนติเจน ได้แก่ MPT64 (6-kDa early secreted antigenic target; ESAT6), 10-
 5 kDa culture filtrate protein (CFP10), antigen 85 complex (Ag85), Ag85A, Ag85B, Ag85C, HspX, LAM,
 และ 38kDa protein และชุดน้ำยาทดสอบนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค immunochromatography kit
 หรือ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit

สิทธิบัตรจีนเลขที่ประกาศโฆษณา CN108693345A กล่าวถึง ชุดน้ำยาทดสอบสำหรับตรวจคัดกรอง
 และวินิจฉัยวัณโรค ที่ประกอบด้วยชุดน้ำยาที่สามารถทดสอบตัวบ่งชี้วัณโรคในตัวอย่างซีรัม ได้แก่
 10 tuberculosis Ag85B antibody, interleukin-6, interleukin-8 และ interleukin-18 โดยที่ชุดน้ำยานี้สามารถใช้
 กับวิธีการตรวจได้หลายรูปแบบ เช่น ELISA (enzyme-linked immuno-sorbent assay), Luminex assay,
 Single-molecule array, flow immunoassay และ Nucleic Acid Aptamers

สิทธิบัตรจีนเลขที่ประกาศโฆษณา CN103954754A กล่าวถึง ชุดตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคระยะ
 แสดงอาการ ที่สามารถตรวจหาไซโตไคน์ I-309, MIG และ IL-8 และยังสามารถตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ
 15 *Mycobacterium tuberculosis* ด้วย IgG antibody ที่จำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจน 38-KDa, 32-KDa, 14-16-
 KDa, และ AG85B

อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่คำขอ 1903001324 กล่าวถึง ชุดตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อวัณโรคในคนด้วยวิธี
 อินไดเรกต์อิลซ่า (indirect ELISA) ที่ประกอบด้วย การเคลือบโปรตีนแต่ละตัวไว้ที่หลุมของไมโครเพลท ได้แก่
 ESAT6, CFP10, MPT64, PPE18 (Rv196), RpfD (Rv2389c), RelA (Rv2583c), และ DosR (Rv3133c)
 20 อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่คำขอ 2003001666 กล่าวถึง ชุดตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อวัณโรคในลิงแสม
 ด้วยแผ่นแถบโปรตีนจำเพาะโดยอาศัยหลักการทางอิมมูโนวิทยา ที่จำเพาะต่อรีคอมบิแนนท์โปรตีน 7 ชนิด คือ

ESAT6, CFP10, A60(Rv0440), Ag85B(Rv1886c), PPE18 (Rv196), DosR (Rv3133c) และ RpfD (Rv2389c) PPE18 (Rv196) DosR (Rv3133c) และ RpfD (Rv2389c) โดยชุดตรวจนี้สามารถบ่งบอกถึงภาวะการติดเชื้อวัณโรครวมทั้งแยกระยะแฝง (Latent-TB) หรือระยะแพร่เชื้อ (Active-TB) ได้ ทำให้ลดเวลาในการวินิจฉัยได้รวดเร็วกว่าวิธีอื่นที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคและ ช่วยแยกการติดเชื้อวัณโรคที่เกิดจาก

5 *Mycobacterium tuberculosis* complex กับ Non-tuberculous mycobacteria

จะเห็นได้ว่าแม้งานที่ปรากฏอยู่แล้วข้างต้น จะมีการกล่าวถึงชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรค โดยอาศัยเทคนิคทางอิมมูโนวิทยาอยู่บ้าง แต่อย่างไรก็ดียังไม่พบการประดิษฐ์ที่กล่าวถึงชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบที่สามารถคัดแยกเชื้อวัณโรคชนิด *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTB) และเชื้อวัณโรคชนิด Non-tuberculous mycobacteria (NTM) ที่สามารถคัดแยกเชื้อระหว่างสองชนิดได้ อีกทั้ง

10 ยังสามารถลดระยะเวลาของการวิเคราะห์เชื้อวัณโรคเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อมาตรฐานอีกด้วย

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

การพัฒนาชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ (Immuno-chromatographic strip test) โดยอาศัยหลักการทางอิมมูโนวิทยา ด้วยการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ที่จำเพาะต่อโปรตีนเอนติเจน-85 (antigen-85 หรือ Ag85 protein) จำนวน 3 โคลน คือ anti-Ag85B clone 5B, 15 anti-Ag85B clone 8B และ anti-Ag85B clone 9B โดยชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคตามการประดิษฐ์นี้สามารถบ่งชี้การติดเชื้อวัณโรคชนิด *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTB) และ Non-tuberculous mycobacteria (NTM) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค

จุดมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้ คือ การพัฒนาชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ 20 เพื่อการวินิจฉัยโรคและการตรวจแยกการติดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTB) และ Non-tuberculous mycobacteria (NTM) ด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนเอนติเจน-85 ซึ่งชุดตรวจนี้สามารถ

ให้ผลการตรวจที่รวดเร็วและใช้เวลาน้อยกว่าการตรวจเชื้อด้วยวิธีมาตรฐานที่ใช้ในปัจจุบันได้ และทำให้ผู้ป่วยเข้าถึงการรักษาได้รวดเร็วและลดการแพร่เชื้อสู่ชุมชนได้

คำอธิบายรูปเขียนโดยย่อ

รูปที่ 1 คือ หลักการและองค์ประกอบที่สำคัญในชุดทดสอบของ IC strip test 8B และ IC strip test 98

5 รูปที่ 2 คือ หลักการและการอ่านผลของชุดทดสอบสำหรับผู้ติดเชื้อกลุ่ม Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC)

รูปที่ 3 คือ หลักการการอ่านผลของชุดทดสอบสำหรับผู้ติดเชื้อกลุ่ม Non-tuberculous mycobacteria (NTM)

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

10 การพัฒนาชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบซึ่งชุดตรวจทดสอบตามการประดิษฐ์นี้ ประกอบด้วย แผ่นแถบโปรตีนจำเพาะ ที่เป็นแผ่นไนโตรเซลลูโลสที่มีการพ่นและตรึงโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85

มีลักษณะเฉพาะคือ โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 ประกอบด้วย โมโนโคลนอลแอนติบอดีจำนวน 3 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-5, anti-Ag85 clone AM85B-8 และ

15 anti-Ag85 clone AM85B-9

โดยมีแถบควบคุม 1 แถบ ซึ่งมีการพ่นและตรึงโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่ออิมมูโนโกลบูลิน

และมีแถบทดสอบ 2 แถบ ซึ่งมีการพ่นและตรึงโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-8

ที่มีลักษณะเฉพาะคือ

แถบทดสอบที่ 1 ที่ซึ่งถูกพ่นและตรึงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน anti-Ag85 clone AM85B-8

20 หรือ anti-Ag85 clone AM85B-9

แถบทดสอบที่ 2 ที่ซึ่งถูกพันและตรึงด้วย โมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน anti-Ag85 clone AM85B-5 ที่เชื่อมติดด้วยอนุภาคทองคำบนแผ่นซีมซับ

ที่ซึ่งชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ประกอบด้วยชุดทดสอบจำนวน 2 ชุด คือ ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ชุดที่ 1 ชุดทดสอบสำหรับผู้ติดเชื้อกลุ่ม

5 Mycobacterium tuberculosis complex (MTB) ที่ซึ่งแผ่นไนโตรเซลลูโลส ที่มีการพันและตรึงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 จำนวน 2 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-8 และ anti-Ag85 clone AM85B-5 จัดให้ชุดทดสอบชุดนี้เรียกว่า "IC strip test 8B"

ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ชุดที่ 2 ชุดทดสอบสำหรับผู้ติดเชื้อกลุ่ม Non-tuberculous mycobacteria (NTM) ที่ซึ่งแผ่นไนโตรเซลลูโลส ที่มีการพันและตรึงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 จำนวน 2 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-9 และ anti-Ag85 clone AM85B-5 จัดให้ชุดทดสอบชุดนี้เรียกว่า "IC strip test 9B"

ตัวอย่างที่ 1 การเตรียมรีคอมบิแนนท์โปรตีนแอนติเจน-85

ทำการเพิ่มจำนวนยีน AG85B ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ดีเอ็นเอแม่แบบเชื้อวัณโรค M. tuberculosis H37Rv DNA จากนั้นทำการผลิตโปรตีนลูกผสมโดยใช้พลาสมิดชนิด pAK400CB และเซลล์เจ้าบ้าน *Escherichia coli* จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นโปรตีน AG85B ในรูป biotinylated (recombinant biotinylated-Ag85B protein)

ตัวอย่างที่ 2 การเตรียมโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85

ทำการนำรีคอมบิแนนท์โปรตีน AG85B ที่ได้มาเชื่อมติดกับอนุภาค streptavidin-coated magnetic particles ได้เป็นเม็ดปืทสำหรับการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี จากนั้นนำไปฉีดเข้าหนูทดลอง (สายพันธุ์ A BALB/c) ทางช่องท้อง โดยจะทำการฉีดเม็ดปืทจำนวน 3 ครั้ง ในระยะเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการทดสอบภูมิคุ้มกัน เมื่อค่าไตเตอร์ที่วัดได้มีค่าสูงขึ้น จะทำการเก็บและเพิ่มจำนวนโมโนโคลนอลแอนติบอดี

ด้วยเทคนิคการทำเซลล์ไฮบริดโนมา (hybridoma technique) และทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบ แอฟฟินิตี (affinity chromatography)

ตัวอย่างที่ 3 การทดสอบความจำเพาะของโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85

ทำการนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 (โคลน anti-Ag85 clone AM85B-

- 5 5, anti-Ag85 clone AM85B-8 และ anti-Ag85 clone AM85B-9) เคลือบลงบนเพลต ELISA และบล็อกเพลต ด้วย 2% skimmed milk (ละลายในสารละลาย PBS) จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคและปมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม HRP-conjugated anti-rabbit immunoglobulin antibody และปมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการล้าง เพื่อกำจัดแอนติบอดีส่วนเกินออก เติม TMB substrate และหยุดปฏิกิริยาด้วย HCl และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

ตัวอย่างที่ 4 ชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคแบบรวดเร็ว (IC strip test)

ชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคแบบรวดเร็ว ประกอบด้วย 4 ส่วน คือ

- (1) sample pad ใช้สำหรับการดูดซับตัวอย่าง โดยวัสดุที่ใช้เป็นเส้นใยแก้ว (Fiberglass)
- (2) conjugate releasing pad ใช้สำหรับพ่นและตรึงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี โคลน anti-Ag85 clone AM85B-5
- (3) nitrocellulose membrane ใช้สำหรับพ่นและตรึงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี โคลน anti-Ag85 clone AM85B-8 หรือ anti-Ag85 clone AM85B-8 (แถบทดสอบ) และ goat anti-mouse immunoglobulins (แถบควบคุม)
- (4) absorbent pad ใช้สำหรับดูดซับของเหลวที่เกิดจากการแพร่ของของเหลว

- 20 ตัวอย่างที่ 5 การทดสอบชุดตรวจเชื้อวัณโรคกับตัวอย่างน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ (culture filtrate)

เพื่อการพัฒนาการวินิจฉัยวัณโรคโดยนำชุดตรวจเชื้อวัณโรคมาตรวจน้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการ
เพาะเลี้ยงจากเสมหะในอาหารเหลว โดยมีหลายละเอียดดังนี้ นำเสมหะเพาะเลี้ยงเชื้อในการอาหารเหลวและ
นำไปเลี้ยงในระบบ BACTEC MGIT Mycobacteria culture system เพื่อตรวจการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเป็น
เวลาอย่างน้อย 42 วัน ถ้าในตัวอย่างที่มีเชื้อเจริญขึ้นและมีสัญญาณแจ้งเตือนในวันใดๆ จะนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ
5 มาตรวจด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคทั้งชนิด 8B และ 9B และตัวอย่างที่เพาะเลี้ยงจนครบเวลา 42 วันโดยที่ไม่มี
สัญญาณแจ้งเตือนจะรายงานผลว่าไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรค มาตรวจด้วยชุดตรวจเชื้อเช่นกัน โดย
ทำการเปรียบเทียบผลกับการตรวจด้วยชุดตรวจโปรตีน MPT-64 ที่มีจำหน่ายเชิงพาณิชย์แล้ว จากนั้นทำการ
เปรียบเทียบผลของชุดตรวจเชื้อกับผลการตรวจพบเชื้อ mycobacterium โดยระบบการเพาะเลี้ยงเชื้อ
มาตรฐาน

10 ผลการตรวจเชื้อ *M. tuberculosis* จากตัวอย่างตรวจ จำนวน 129 ตัวอย่าง พบว่ามีตัวอย่างที่ระบุการ
ติดเชื้อจำนวน 99 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ตรวจไม่พบเชื้อจำนวน 30 ตัวอย่าง

ผลการทดลองพบว่า ในตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *M. tuberculosis* จำนวน 99 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)
พบว่า ชุดตรวจเชื้อวัณโรคทั้งชนิด 8B ให้ผลบวกจำนวน 93 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 94 และชุดตรวจเชื้อวัณ
โรคทั้งชนิด 9B ให้ผลบวกจำนวน 85 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 86% ซึ่งแสดงว่าชุดตรวจเชื้อวัณโรคทั้งชนิด 8B
15 เพื่อตรวจหาโปรตีนแอนติเจน-85 ที่พัฒนาขึ้นให้ผลค่อนข้างสอดคล้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ *M.*
tuberculosis และที่น่าสนใจคือ ผลการตรวจจากชุดตรวจโปรตีน MPT-64 ให้ผลค่อนข้างสอดคล้องกับการ
วินิจฉัยการติดเชื้อ *M. tuberculosis* เพียงร้อยละ 87 เท่านั้น

เมื่อนำน้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่ไม่พบการโตของเชื้อ *M. tuberculosis* จำนวน 30 ตัวอย่าง มาตรวจด้วยชุด
ตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B, 9B และ MPT-64 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า ชุดตรวจเชื้อวัณโรคทั้งชนิด 8B
20 ให้ผลลบจำนวน 28 ตัวอย่าง และชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 9B ให้ผลลบจำนวน 28 ตัวอย่าง (ร้อยละ 93)

ในขณะที่ชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MPT-64 ให้ผลลบทุกราย (ร้อยละ 100) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B ให้ผลบวกปลอม (false positive) น้อยมาก

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบตัวอย่างที่ตรวจพบ *M. tuberculosis* โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน

ร่วมกับการตรวจน้ำกรองเลี้ยงเชื้อด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B, 9B และ MPT-64

No.	IC strip test			Culture method identification	No.	IC strip test			Culture method identification
	MPT 64	8B	9B			MPT 64	8B	9B	
1	+	+	+	MTB	51	+	+	+	MTB
2	+	+	+	MTB	52	+	+	+	MTB
3	+	+	+	MTB	53	+	+	+	MTB
4	+	+	+	MTB	54	+	+	+	MTB
5	+	+	+	MTB	55	+	+	+	MTB
6	+	+	+	MTB	56	+	+	+	MTB
7	+	+	+	MTB	57	+	+	+	MTB
8	+	+	+	MTB	58	+	+	+	MTB
9	+	+	+	MTB	59	+	+	+	MTB
10	+	+	+	MTB	60	+	+	+	MTB
11	+	+	+	MTB	61	+	+	+	MTB
12	+	+	+	MTB	62	+	+	+	MTB
13	+	+	+	MTB	63	+	+	+	MTB
14	+	+	+	MTB	64	+	+	+	MTB
15	+	+	+	MTB	65	+	+	+	MTB
16	+	+	+	MTB	66	+	+	+	MTB
17	+	+	+	MTB	67	+	+	+	MTB
18	+	+	+	MTB	68	+	+	+	MTB
19	+	+	+	MTB	69	+	+	+	MTB
20	+	+	+	MTB	70	+	+	+	MTB
21	+	+	+	MTB	71	+	+	+	MTB
22	+	+	+	MTB	72	+	+	+	MTB
23	+	+	+	MTB	73	+	+	+	MTB
24	+	+	+	MTB	74	+	+	+	MTB
25	+	+	+	MTB	75	+	+	+	MTB
26	+	+	+	MTB	76	+	+	+	MTB
27	+	+	+	MTB	77	+	+	+	MTB
28	+	+	+	MTB	78	+	+	+	MDR
29	+	+	+	MTB	79	+	+	+	MTB
30	+	+	+	MTB	80	+	+	+	MTB
31	+	+	+	MTB	81	+	+	+	MTB
32	+	+	+	MTB	82	+	+	+	MTB
33	+	+	+	MTB	83	-	+	+	MTB

34	+	+	+	MTB	84	-	+	+	MTB
35	+	+	+	MTB	85	-	+	+	MTB
36	+	+	+	MTB	86	+	+	-	MTB
37	+	+	+	MTB	87	+	+	-	MTB
38	+	+	+	MTB	88	+	+	-	MTB
39	+	+	+	MTB	89	+	+	-	MTB
40	+	+	+	MTB	90	-	+	-	MTB
41	+	+	+	MTB	91	-	+	-	MTB
42	+	+	+	MTB	92	-	+	-	MTB
43	+	+	+	MTB	93	-	+	-	MTB
44	+	+	+	MTB	94	-	-	-	MTB
45	+	+	+	MTB	95	-	-	-	MTB
46	+	+	+	MTB	96	-	-	-	MTB
47	+	+	+	MTB	97	-	-	-	MTB
48	+	+	+	MTB	98	-	-	-	MTB
49	+	+	+	MTB	99	-	-	-	MTB
50	+	+	+	MTB					

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบตัวอย่างที่ตรวจไม่พบ *M. tuberculosis* โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน

ร่วมกับการตรวจน้ำกรองเลี้ยงเชื้อด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B, 9B และ MPT-64

No.	IC strip test			Culture method Identification
	MPT-64	8B	9B	
1	-	-	-	No Growth
2	-	-	-	No Growth
3	-	-	-	No Growth
4	-	-	-	No Growth
5	-	-	-	No Growth
6	-	+	-	No Growth
7	-	-	-	No Growth
8	-	-	-	No Growth
9	-	-	-	No Growth
10	-	-	-	No Growth
11	-	-	-	No Growth
12	-	-	-	No Growth
13	-	-	-	No Growth
14	-	-	-	No Growth
15	-	-	-	No Growth
16	-	-	-	No Growth
17	-	-	-	No Growth

No.	IC strip test			Culture method
	MPT-64	8B	9B	Identification
18	-	-	-	No Growth
19	-	-	-	No Growth
20	-	-	-	No Growth
21	-	-	-	No Growth
22	-	-	-	No Growth
23	-	-	-	No Growth
24	-	-	-	No Growth
25	-	+	+	No Growth
26	-	-	-	No Growth
27	-	-	-	No Growth
28	-	-	-	No Growth
29	-	-	+	No Growth
30	-	-	-	No Growth

ตัวอย่างที่ 6 ผลการทดสอบการระบุแยกเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) และ Non-tuberculous mycobacterium (NTM) โดยการตรวจด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B

เนื่องจากชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ให้ผลบวกกับโปรตีนแอนติเจน-85 ที่ผลิตจาก *Mycobacterium* spp. ในขณะที่ชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 9B ให้ผลบวกเฉพาะกับโปรตีนแอนติเจน-85 ที่ผลิตจากเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) ดังนั้น การใช้ชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B ควบคู่กันจะสามารถตรวจแยกเชื้อ MTB และ NTM ออกจากกันได้ พบว่าการใช้ชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B กรวดน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างที่พบการติดเชื้อ NTM จำนวน 19 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า การใช้ชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ควบคู่กับชนิด 9B สามารถบ่งชี้การติดเชื้อ NTM ได้จำนวน 12 ตัวอย่าง กล่าวคือตัวอย่างที่ให้ผลเพาะเลี้ยงเชื้อเป็น NTM จะให้ผลบวกกับชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B แต่ให้ผลลบกับชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 9B และเมื่อพิจารณาร่วมกับตารางที่ 1 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ให้ผลเพาะเลี้ยงเชื้อเป็น MTB จะให้ผลบวกกับทั้งชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B ดังนั้น การใช้ชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ร่วมกับ 9B จึงน่าจะสามารถนำมาตรวจแยกเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) และ Non-tuberculous mycobacterium (NTM) ได้

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ Non-tuberculous mycobacterium โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อมาตรฐานร่วมกับการตรวจน้ำกรองเลี้ยงเชื้อด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B

No.	IC strip test		Culture method
	8B	9B	Identification
1	+	-	NTM
2	+	-	NTM
3	+	-	NTM
4	+	-	NTM
5	+	-	NTM
6	+	-	NTM
7	+	-	NTM
8	+	-	NTM
9	+	-	NTM
10	+	-	NTM
11	+	-	NTM
12	-	-	NTM
13	+	-	NTM
14	+	+	NTM
15	-	-	NTM
16	-	-	NTM
17	-	-	NTM
18	-	-	NTM
19	-	-	NTM

ตัวอย่างที่ 7 ผลการตรวจวินิจฉัยวัณโรค โดยการตรวจด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคที่พัฒนาขึ้น

จากผลการทดลองที่กล่าวมาชุดตรวจชนิดชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B และ 9B ที่พัฒนาขึ้นสามารถ

- นำมาประยุกต์ใช้ตรวจน้ำกรองเลี้ยงเชื้อจากระบบการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคในอาหารเหลวเพื่อการวินิจฉัยได้ เนื่องจากวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานนี้ใช้เวลาในการวินิจฉัยวัณโรคนานถึง 6-8 สัปดาห์ ผู้พัฒนาจึงตั้งคำถามว่าการตรวจวินิจฉัยด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคนี้จะสามารถลดระยะเวลาการวินิจฉัยลงได้หรือไม่ โดยทำการวิเคราะห์วันที่อ่านผลจากชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ในรายที่ให้ผลพบเชื้อ *M. tuberculosis* จำนวน

99 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่า สามารถอ่านผลได้ตั้งแต่วันที่ 1-28 พบว่าชุดตรวจเชื้อวัณโรคนี้ สามารถบ่งชี้การติดเชื้อ *M. tuberculosis* ได้ประมาณร้อยละ 60 (59 จาก 99 ตัวอย่าง) ภายใน 5 วันหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ และบ่งชี้การติดเชื้อได้ถึงร้อยละ 80 (81 จาก 99 ตัวอย่าง) ภายใน 19 วันหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะเห็นได้ว่าชุดตรวจเชื้อวัณโรคที่พัฒนาขึ้นสามารถวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคได้ไวกว่าวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ

5 มาตรฐาน

ตารางที่ 4 แสดงระยะเวลา (วัน) ที่อ่านผลจากชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ในรายที่ให้ผลการเพาะเลี้ยงที่พบเชื้อ *M. tuberculosis* และความถี่ของตัวอย่างในวันนั้นๆ (จำนวน 99 ตัวอย่าง)

Date of detection	Frequency of sample
7	14
8	1
9	6
6	2
10	17
11	10
12	17
13	14
14	3
15	3
16	5
17	3
18	4
19	4
21	5
23	1
24	1
26	2
27	1
28	1

ตัวอย่างที่ 8 ผลของการดื้อยา isoniazid และ rifampicin ของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ต่อการตรวจชุดตรวจเชื้อวัณโรคที่พัฒนาขึ้น

เนื่องจากการดื้อยา isoniazid และ rifampicin ของเชื้อ *M. tuberculosis* จะมีผลต่อการตรวจหาโปรตีนแอนติเจน-85 จากการศึกษาพบว่า การดื้อยา isoniazid และ rifampicin ของเชื้อ *M. tuberculosis* ไม่ผลต่อการตรวจด้วยชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ที่พัฒนาขึ้น ดังนั้นการใช้ชุดตรวจเชื้อวัณโรคนี้สามารถนำไปใช้กับตัวอย่างได้โดยไม่ต้องคำนึงว่าตัวอย่างนั้นจะมีเชื้อ *M. tuberculosis* ที่ดื้อยาหรือไม่

- 5 ตารางที่ 5 แสดงการผลของการทดสอบชุดตรวจเชื้อวัณโรคชนิด 8B ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่ได้จากเชื้อ *M. tuberculosis* ที่ดื้อและไม่ดื้อต่อยา isoniazid (H) และ rifampicin (R) (จำนวน 20 ตัวอย่าง)

Sample	IC strip test	Culture method	Drug susceptibility test	
	8B	Identification	H	R
1	+	MTB	S	S
2	+	MTB	S	S
3	+	MTB	R	S
4	+	MTB	S	S
5	+	MTB	S	S
6	+	MTB	S	R
7	+	MTB	S	S
8	+	MTB	S	S
9	+	MTB	S	S
10	+	MTB	S	S
11	+	MTB	S	S
12	+	MTB	S	S
13	+	MTB	S	S
14	+	MTB	S	R
15	+	MTB	S	S
16	+	MTB	S	S
17	+	MTB	R	S
18	+	MTB	S	S
19	+	MTB	R	R
20	+	MTB	R	R

S = sensitive; R = resistance

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

ตามที่ได้เปิดเผยแล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถกเถียง

1. ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ประกอบด้วย แผ่นแถบโปรตีนจำเพาะ ที่เป็นแผ่นไนโตรเซลลูโลสที่มีการพันและตรึงโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85

ที่มีลักษณะเฉพาะคือ โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 ประกอบด้วย

5 โมโนโคลนอลแอนติบอดีจำนวน 3 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-5, anti-Ag85 clone AM85B-8 และ anti-Ag85 clone AM85B-9

2. ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ตามข้อถกเถียงที่ 1 ที่ซึ่ง แผ่นแถบโปรตีนจำเพาะ ที่มีแถบควบคุม (control line) และแถบทดสอบ (test line)

โดยมีแถบควบคุม 1 แถบ ซึ่งมีการพันและตรึงโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่ออิมมูโนโกลบูลิน

10 และมีแถบทดสอบ 2 แถบ ซึ่งมีการพันและตรึงโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 ที่มีลักษณะเฉพาะคือ

แถบทดสอบที่ 1 ที่ซึ่งถูกพันและตรึงด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน anti-Ag85 clone AM85B-8 หรือ anti-Ag85 clone AM85B-9

แถบทดสอบที่ 2 ที่ซึ่งถูกพันและตรึงด้วย โมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน anti-Ag85 clone AM85B-5

15 ที่เชื่อมติดด้วยอนุภาคทองคำบนแผ่นซีมีซี

3. ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ตามข้อถกเถียงที่ 1 ที่ซึ่ง ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบชุดที่ 1 สำหรับผู้ติดเชื้อกลุ่ม *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) ประกอบด้วย โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 จำนวน 2 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-8 และ anti-Ag85 clone AM85B-5

20 4. ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบ ตามข้อถกเถียงที่ 1 ที่ซึ่ง ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นแถบทดสอบชุดที่ 2 สำหรับผู้ติดเชื้อกลุ่ม Non-tuberculous mycobacteria (NTM)

ประกอบด้วย โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 จำนวน 2 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-9 และ anti-Ag85 clone AM85B-5

5. ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นทดสอบ ตามข้อถ้อยสิทธิ์ที่ 1 ที่ซึ่ง โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่ออิมมูโน-โกลบูลิน คือ goat anti-mouse immunoglobulins

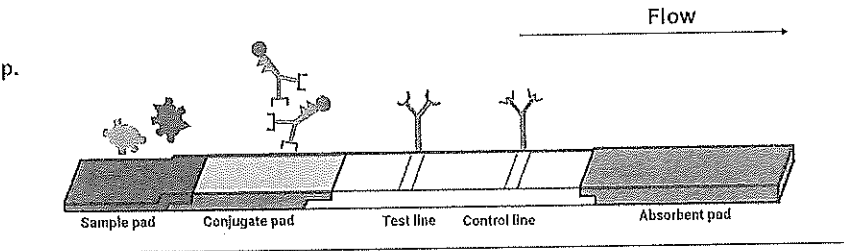
5 6. ชุดตรวจคัดกรองเชื้อวัณโรคในรูปแบบแผ่นทดสอบ ข ตามข้อถ้อยสิทธิ์ที่ 1 ที่ซึ่ง ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบคือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคในอาหารเหลว (MGIT)

บทสรุปการประดิษฐ์

ชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคด้วยแผ่นแถบโปรตีนจำเพาะ (Immunochromatographic strip test) โดยอาศัยหลักการทางอิมมูโนวิทยา ด้วยการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ที่จำเพาะต่อโปรตีนแอนติเจน-85 (antigen-85 หรือ Ag85 protein) จำนวน 3 โคลน คือ anti-Ag85 clone AM85B-5, anti-Ag85 clone AM85B-8 และ anti-Ag85 clone AM85B-9 โดยชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคตามการประดิษฐ์นี้สามารถบ่งชี้การติดเชื้อวัณโรคชนิด Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) และ Non-tuberculous mycobacteria (NTM) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค ซึ่งชุดตรวจนี้สามารถให้ผลการตรวจที่รวดเร็วและใช้เวลาน้อยกว่าการตรวจเชื้อด้วยวิธีมาตรฐานที่ใช้ในปัจจุบัน ทำให้ผู้ป่วยเข้าถึงการรักษาได้รวดเร็วและลดการแพร่เชื้อสู่ชุมชนได้

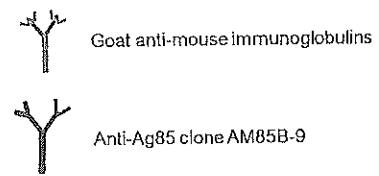
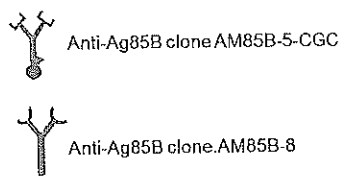
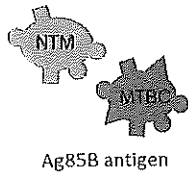
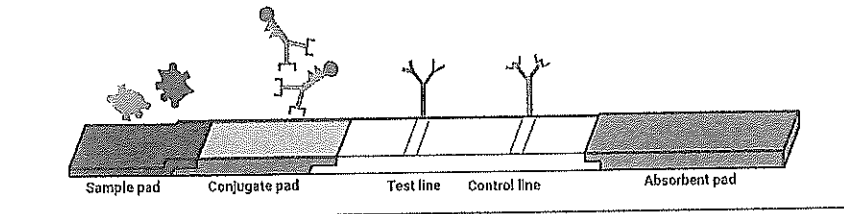
For *Mycobacterium* ssp.

Strip 8B



For MTBC

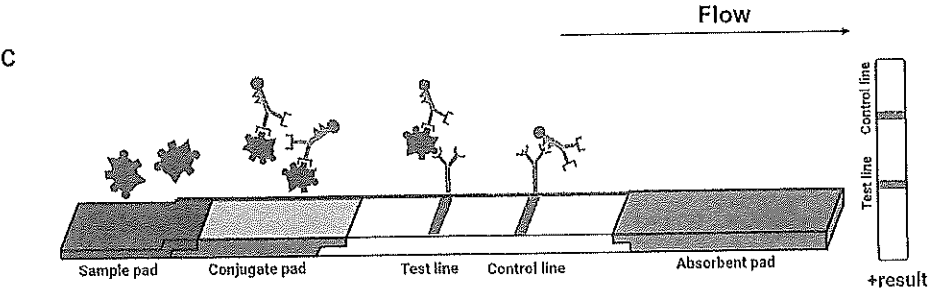
Strip 9B



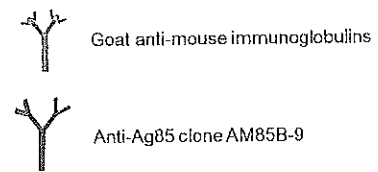
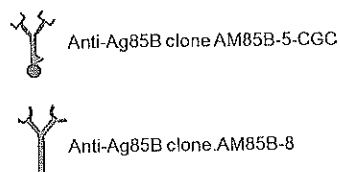
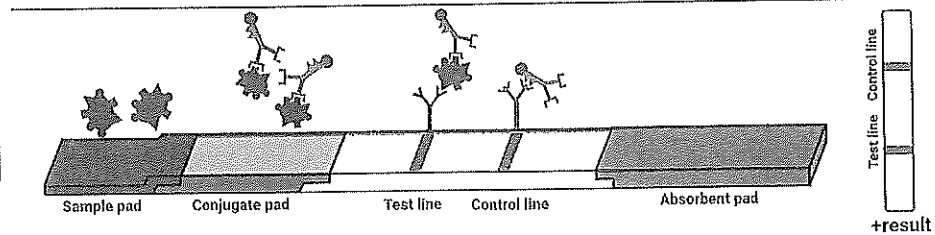
รูปที่ 1

Sample : MTBC

Strip 8B

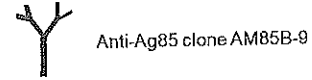
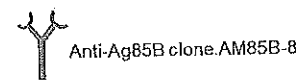
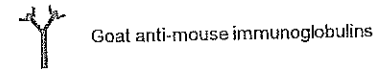
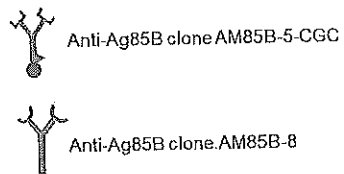
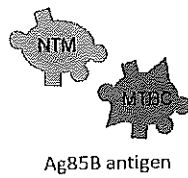
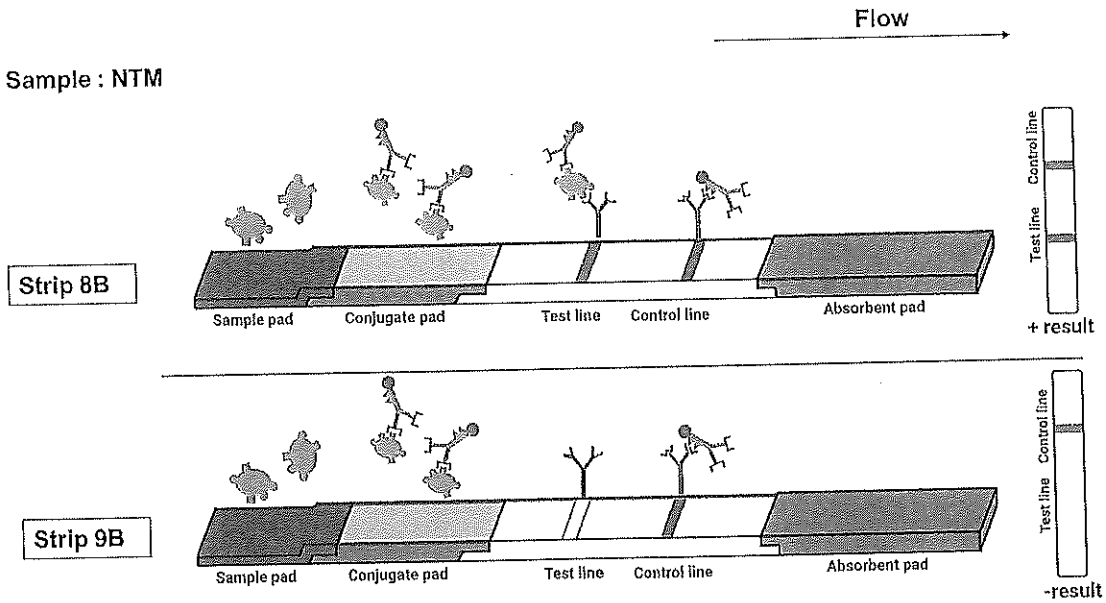


Strip 9B



รูปที่ 2

Sample : NTM



รูปที่ 3