



การเปรียบเทียบฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของการดื้อยาต้านวัณโรคของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ในประเทศไทย

ทิพย์ภารัตน์ ณ ศรีสุข วท.ม.

ไกรสร โตทับเที่ยง พ.บ.

พริญา อินทมนตรี วท.บ.

กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

บทคัดย่อ

วัณโรคดื้อยา (drug-resistant tuberculosis) เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของโลก องค์การอนามัยโลกได้เสนอแนะให้ประเทศต่างๆ กำหนดนโยบาย Universal DST (Drug-Susceptibility Testing) ให้ผู้ป่วยวัณโรคทุกรายเข้าถึงการตรวจทดสอบความไวของยาต่อเชื้อวัณโรคด้วยวิธี genotypic และ phenotypic DST เพื่อให้ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาได้รับการรักษาที่ถูกต้องเหมาะสมและเข้าสู่กระบวนการรักษาโดยเร็วที่สุด¹⁻² การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบ phenotype และ genotype ของการดื้อยาต้านวัณโรคของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* เพื่อศึกษาความสอดคล้องกัน (concordance) และประเมินประสิทธิภาพการทดสอบความไวต่อยาระหว่าง genotypic และ phenotypic DST โดยเปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่างจากห้องปฏิบัติการอ้างอิงชั้นสูงตรวัณโรคแห่งชาติ isoniazid 817 ราย, rifampicin 831 ราย, levofloxacin และ moxifloxacin 742 ราย ผลการศึกษาพบว่า levofloxacin และ moxifloxacin มีความสอดคล้องกันร้อยละ 97.84 และ 97.71 มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.853 (95% CI 0.782-0.924) และ 0.845 (95% CI 0.772-0.917) ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (almost perfect agreement)³ ส่วน isoniazid และ rifampicin มีความสอดคล้องกันอยู่ในระดับดี (substantial agreement)³ ที่ร้อยละ 91.19 และ 90.85 มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.770 (95% CI 0.720-0.820) และ 0.697 (95% CI 0.634-0.760) ตามลำดับ ส่วนความไม่สอดคล้องกัน (discordance) isoniazid ร้อยละ 8.81, rifampicin ร้อยละ 9.15, levofloxacin ร้อยละ 2.16 และ moxifloxacin ร้อยละ 2.29 รูปแบบที่พบส่วนใหญ่จะเป็นผลฟีโนไทป์ดื้อยาแต่ผลจีโนไทป์ไวต่อยา (resistant in phenotypic testing, susceptible genotypic testing) เนื่องจากวิธี genotypic DST สามารถตรวจพบตำแหน่งยีนดื้อยา (hotspot region) ได้จำกัดไม่ครอบคลุมทั้งหมด ผลการดื้อยาที่ไม่สอดคล้องกันสามารถศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้การถอดรหัสพันธุกรรมวัณโรคดื้อยาทั้งจีโนม (whole genome sequencing) เพื่อทำความเข้าใจการดื้อยาต้านวัณโรคของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ได้ครอบคลุมทั้งหมด⁴⁻⁵ การศึกษานี้มีประโยชน์สามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ผลที่รวดเร็วและถูกต้องมากยิ่งขึ้น

บทนำ

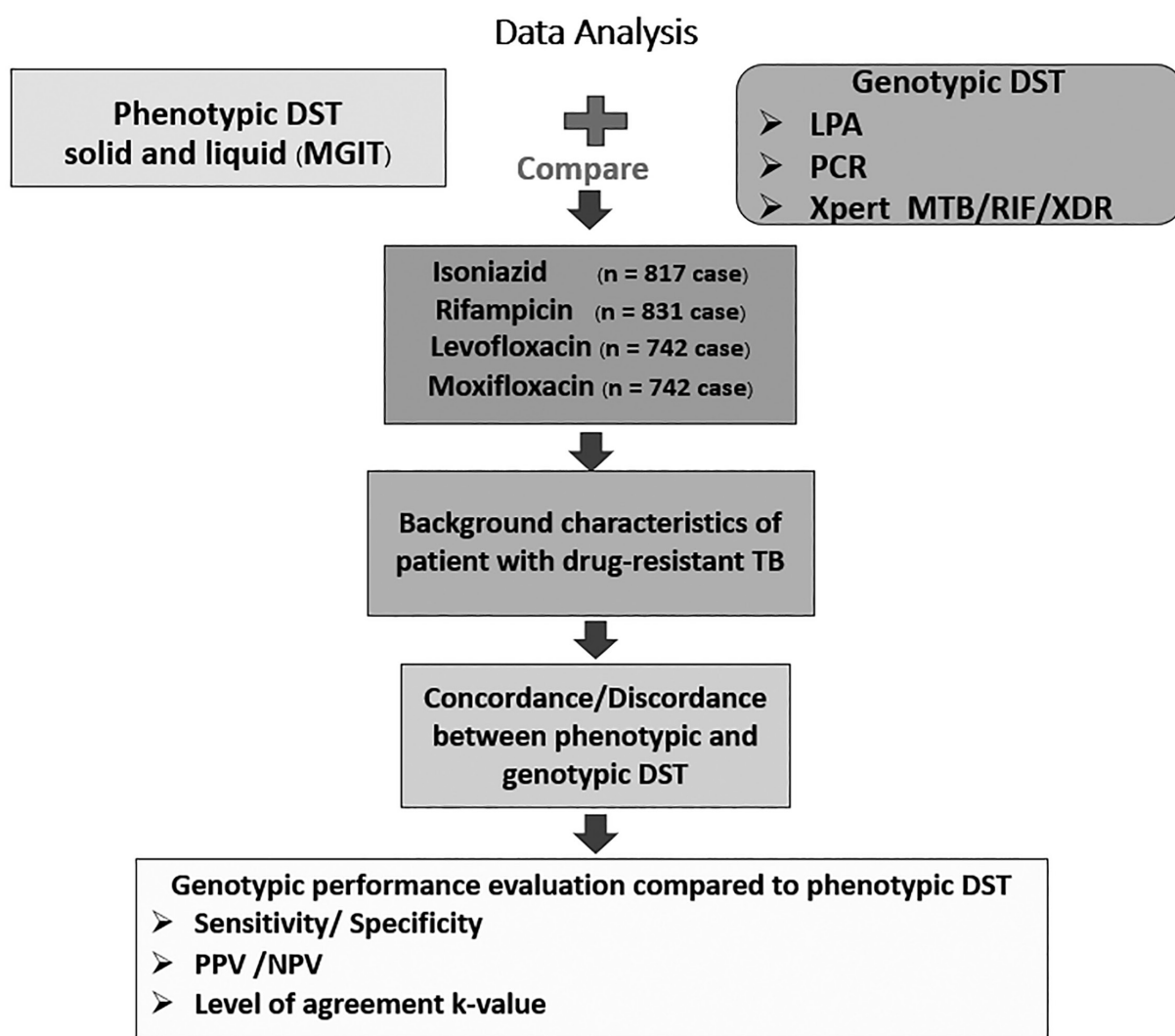
วัณโรคดื้อยา (drug-resistant tuberculosis) เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของโลก สาเหตุการดื้อยาเกิดจากการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรม (genetic mutation) ของเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ทำให้ยาไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อวัณโรคในผู้ป่วยได้ วัณโรคดื้อยาพบได้ทั้งการดื้อยาวัณโรคในผู้ป่วยรายใหม่ (primary drug resistance) และการดื้อยาวัณโรคในผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษามาก่อนหรืออยู่ระหว่างการได้รับการรักษาวัณโรค (acquired drug resistance) ซึ่งอาจเป็นได้ทั้งวัณโรคปอดและวัณโรคนอกปอด¹ สถานการณ์วัณโรคดื้อยาในปัจจุบันของประเทศไทยตามองค์การอนามัยโลกได้จัดกลุ่มประเทศที่มีภาระวัณโรคสูง (high burden countries) ของโลกช่วงปี พ.ศ. 2564-2568 พบว่า ประเทศไทยหลุดออกจาก 1 ใน 30 ประเทศของกลุ่มที่มีปัญหาวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) สูง แต่ยังคงอยู่ในกลุ่มของประเทศที่มีปัญหาวัณโรค (TB) สูง และวัณโรคที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อเอชไอวี (TB/HIV) สูง^{1,6} องค์การอนามัยโลกได้เสนอแนะให้ประเทศต่างๆ กำหนดนโยบาย Universal DST (Drug-Susceptibility Testing) ให้ผู้ป่วยวัณโรคทุกรายเข้าถึงการตรวจทดสอบความไวของยา rifampicin ด้วยวิธีการทดสอบอย่างรวดเร็ว (rapid test) และในกรณีที่มีการตรวจพบว่าการดื้อยา rifampicin จะต้องมีการทดสอบความไวของยาต่อยาในกลุ่ม fluoroquinolones ด้วย^{1,6} ปัจจุบันแผนงานวัณโรคแห่งชาติเน้นการตรวจวัณโรคดื้อยาโดยอาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (genotypic DST) เป็นการตรวจหาชิ้นที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา เช่น Xpert MTB/RIF Ultra, LPA และ RT-PCR เป็นต้น ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง แต่สามารถตรวจพบตำแหน่งยีนดื้อยา (hotspot region) ได้จำกัดไม่ครอบคลุมทั้งหมด การทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี phenotypic DST เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) จึงยังมีความสำคัญในการตรวจวัณโรคดื้อยาเนื่องจากทำการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อ *M. tuberculosis complex* โดยใช้การเจริญของเชื้อในอาหารไม่มียา เทียบกับอาหารที่มีส่วนผสมของยาและนำมาคำนวณหาค่าร้อยละ

การดื้อยา^{1,7} การศึกษานี้เพื่อหาความสอดคล้องกัน (concordance) ระหว่างฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของการดื้อยาด้านวัณโรคของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* โดยเปรียบเทียบยา isoniazid, rifampicin, levofloxacin และ moxifloxacin และประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบความไวต่อยาของวิธี genotypic เปรียบเทียบกับ phenotypic DST เพื่อศึกษาความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity) ซึ่ง isoniazid และ rifampicin เป็นยารักษาวัณโรคแนวที่ 1 (first-line drugs) การดื้อยา isoniazid และ rifampicin พร้อมกัน จะเป็นวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) การดื้อยา isoniazid เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน kat G, fab G1 บริเวณ intergenic oxyR-aphp C และโปรโมเตอร์ inh A ส่วนการดื้อยา rifampicin เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน rpo B ในตำแหน่ง hot-spot region คือ rifampicin-resistance-determining region (RRDR)^{1,8} levofloxacin และ moxifloxacin อยู่ในกลุ่ม fluoroquinolones เป็นยารักษาวัณโรคแนวที่ 2 (second-line drugs) ใช้ในการรักษา MDR-TB วัณโรคดื้อยาชนิด MDR/RR-TB และดื้อต่อยาในกลุ่ม fluoroquinolones จะเป็นวัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง (pre-XDR-TB) การดื้อยาในกลุ่ม fluoroquinolones จะเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน gyr A (α subunit) and gyr B (β subunit) การศึกษานี้เป็นประโยชน์เพื่อให้แพทย์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกวิธีการทดสอบความไวต่อยาให้แก่ผู้ป่วยวัณโรคได้อย่างเหมาะสม เพื่อให้ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาเข้าสู่กระบวนการรักษาโดยเร็วที่สุด ช่วยเพิ่มโอกาสในการรักษาหายมากขึ้น ลดอัตราการเสียชีวิตลง และลดโอกาสในการแพร่เชื้อวัณโรคดื้อยาไปสู่สังคม ซึ่งถือเป็นกลไกที่สำคัญในการยุติปัญหาการแพร่ระบาดของวัณโรคดื้อยา^{1,2} และสามารถศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลการทดสอบความไวต่อยาที่ไม่สอดคล้องกัน (discordance) ระหว่าง phenotypic และ genotypic DST โดยใช้วิธี whole genome sequencing ซึ่งอาจนำไปสู่การทำความเข้าใจการดื้อยาด้านวัณโรคของเชื้อ *M. tuberculosis* ได้ครอบคลุมทั้งจีโนม⁴⁻⁵

วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ได้เก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยที่ได้ทดสอบความไวต่อยาทั้ง 2 วิธี phenotypic DST (solid: LJ media และ liquid: MGIT) และ genotypic DST (Line probe assay (LPA), Xpert MTB/RIF, Xpert MTB/XDR และ real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)) จากห้องปฏิบัติการอ้างอิงชั้นสูตรวัณโรคแห่งชาติ ในช่วงปี พ.ศ. 2566-2567 โดยดึงข้อมูลกลุ่มตัวอย่างที่นำมา

วิเคราะห์จากโปรแกรม TB system ในรูปแบบไฟล์ excel การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติพรรณนา (descriptive statistics) โดยโปรแกรม microsoft excel รายงานผลเป็นจำนวนและร้อยละ และสถิติเชิงวิเคราะห์ (analytical statistics) ใช้ GraphPad software (San Diego, California, USA)² โดยวิเคราะห์สถิติแคปปาของโคเฮน (Cohen's kappa) เพื่อประเมินระดับความสอดคล้อง (concordance) ระหว่าง phenotypic และ genotypic DST (แผนภูมิที่ 1)



แผนภูมิที่ 1. ขั้นตอนการวิเคราะห์ผลการเปรียบเทียบการทดสอบความไวต่อยาระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic drug susceptibility testing (DST)

วิธีการดำเนินการ

1. ทำการทดสอบความไวต่อยา isoniazid, rifampicin, levofloxacin และ moxifloxacin ด้วยวิธี phenotypic DST (solid และ liquid: MGIT 960) วิธี solid Lowenstein-Jensen (L-J) medium ความเข้มข้นของยา ดังนี้ isoniazid 0.2 และ 1.0 µg/ml, rifampicin 40 µg/ml, levofloxacin และ moxifloxacin 2 µg/ml วิธี liquid BACTEC MGIT 960 system ความเข้มข้นของยา ดังนี้ isoniazid 0.1 µg/ml, rifampicin 1.0 µg/ml, levofloxacin 1.0 µg/ml และ moxifloxacin 0.25 และ 1.0 µg/ml⁹⁻¹⁰ ทดสอบ genotypic DST ด้วยวิธี Line probe assay: GenoType MTBDR plus (ตรวจยีนดื้อยา isoniazid และ rifampicin) และ GenoType MTBDRsl (ตรวจยีนดื้อยา fluoroquinolones)¹¹, Xpert MTB/RIF (ตรวจยีนดื้อยา rifampicin), Xpert MTB/XDR (ตรวจยีนดื้อยา isoniazid, fluoroquinolones) และ real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) (ตรวจยีนดื้อยา isoniazid, rifampicin และ fluoroquinolones)

2. การลงบันทึกเก็บรวบรวมข้อมูลและจัดการข้อมูลในโปรแกรม TB system และไฟล์ excel

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพรรณนา (descriptive statistics) ใช้โปรแกรม microsoft excel และสถิติเชิงวิเคราะห์ (analytical statistics) ใช้ GraphPad software ตัวอย่างที่ทดสอบความไวต่อยาทั้ง 2 วิธี phenotypic และ genotypic DST มีจำนวนดังนี้ isoniazid 817 ราย, rifampicin 831 ราย, levofloxacin และ moxifloxacin 742 ราย : วิเคราะห์ข้อมูลประวัติผู้ป่วยวัณโรคดื้อยา รายงานผลเป็นจำนวนและร้อยละ, การศึกษาความสอดคล้องกัน (concordance) การทดสอบความไวต่อยา isoniazid, rifampicin, levofloxacin และ moxifloxacin ระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST โดยใช้สถิติแคปปา (Cohen's kappa) รายงานผลเป็นร้อยละและ k-value (level of agreement k-value 95% CI), ประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบความไวต่อยาของวิธี genotypic เปรียบเทียบกับ phenotypic DST เพื่อประเมินความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity)

4. สรุปผลการการศึกษาและเขียนรายงานผลการศึกษา

ผลการศึกษา

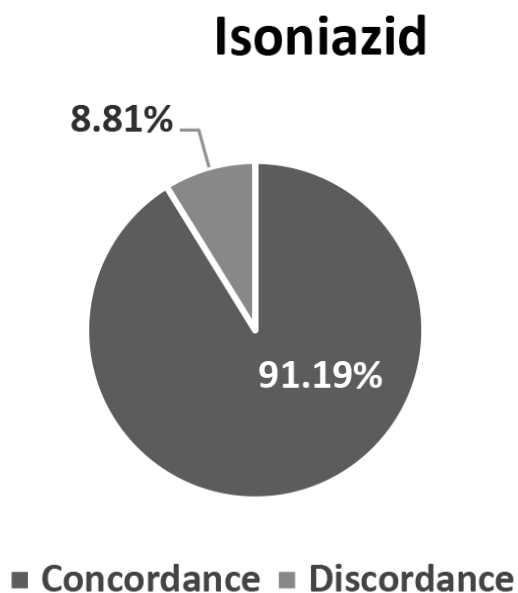
ผลการศึกษาข้อมูลประวัติของผู้ป่วยวัณโรคที่ได้ทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี phenotypic และ genotypic DST ดังนี้ มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด isoniazid 817 ราย, rifampicin 831 ราย, levofloxacin และ moxifloxacin 742 ราย ผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 45 ปี พบเพศชายมากกว่าเฉลี่ย ร้อยละ 66 ประวัติผู้ป่วยที่ส่งตรวจวัณโรคดื้อยาที่พบมากที่สุด จะเป็นผู้ป่วยที่เคยรักษามาก่อน (previously treated) isoniazid 363 ราย (ร้อยละ 44.43), rifampicin 364 ราย (ร้อยละ 43.80) และ levofloxacin และ moxifloxacin 338 ราย (ร้อยละ 45.55) (ตารางที่ 1)

ผลการศึกษาความสอดคล้อง (concordance) การทดสอบความไวต่อยาเปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST พบว่ามีความสอดคล้องกัน ดังนี้ isoniazid ร้อยละ 91.19 (745 ราย), rifampicin ร้อยละ 90.85 (755 ราย), levofloxacin ร้อยละ 97.84 (727 ราย) และ moxifloxacin ร้อยละ 97.71 (725 ราย) (รูปที่ 1, 2, 3, 4)

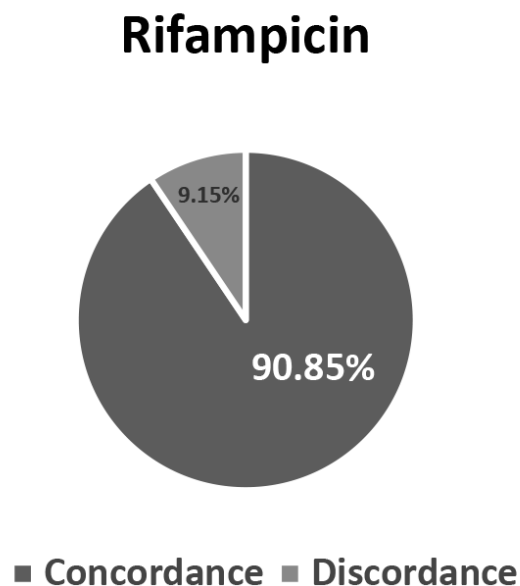
ผลการศึกษาความไม่สอดคล้องกัน (discordance) ของการทดสอบความไวต่อยา isoniazid, rifampicin, levofloxacin และ moxifloxacin เปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST โดยมีการแยกการทดสอบยาแต่ละชนิด มีผลดังนี้ พบความไม่สอดคล้องกัน isoniazid ร้อยละ 8.81 (72 ราย), rifampicin ร้อยละ 9.15 (76 ราย), levofloxacin ร้อยละ 2.16 (16 ราย) และ moxifloxacin ร้อยละ 2.29 (17 ราย) ความไม่สอดคล้องกันส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นรูปแบบผลฟีโนไทป์ดื้อยาแต่ผลจีโนไทป์ไวต่อยา (resistant in phenotypic testing, susceptible genotypic testing) isoniazid พบร้อยละ 5.75 (47 ราย), levofloxacin พบร้อยละ 1.48 (11 ราย) และ moxifloxacin พบร้อยละ 1.62 (12 ราย) ส่วน rifampicin พบรูปแบบที่ไม่สอดคล้องกันส่วนใหญ่จะเป็นผลฟีโนไทป์ไวต่อยาแต่ผลจีโนไทป์ดื้อยา (susceptible in phenotypic testing, resistant genotypic testing) พบร้อยละ 7.10 (59 ราย) (รูปที่ 5)

ตารางที่ 1. ข้อมูลประวัติของผู้ป่วยวัณโรคที่ได้ทดสอบความไวต่อยา isoniazid (INH), rifampicin (RIF), levofloxacin (Lfx) และ moxifloxacin (Mox) ด้วยวิธี phenotypic และ genotypic DST

ตัวแปร		INH (n)	RIF (n)	Lfx, Mox (n)
จำนวน		817	831	742
อายุ	อายุเฉลี่ย, ปี (mean, year)	45	45	45
เพศ	ชาย	542 (66.34 %)	557(67.03 %)	487 (65.63 %)
	หญิง	275 (33.66 %)	274(32.97%)	255 (34.37 %)
ประวัติการรักษา	ผู้ป่วยรายใหม่	240 (29.37%)	257 (30.93%)	198 (26.68%)
	ผู้ป่วยที่เคยรักษามาก่อน	363 (44.43%)	364 (43.80%)	338 (45.55%)
	ผู้ป่วยที่กำลังรักษา	148 (18.12%)	144 (17.33%)	140 (18.87%)
	อื่นๆ ไม่ระบุ	66 (8.08%)	66 (7.94%)	66 (8.90%)

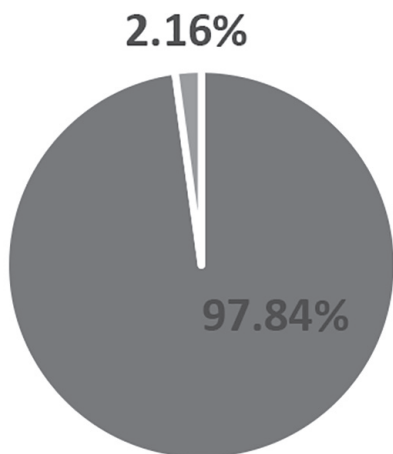


รูปที่ 1. ผลการศึกษาความสอดคล้องกัน (concordance) ของการทดสอบความไวต่อยา isoniazid เปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา

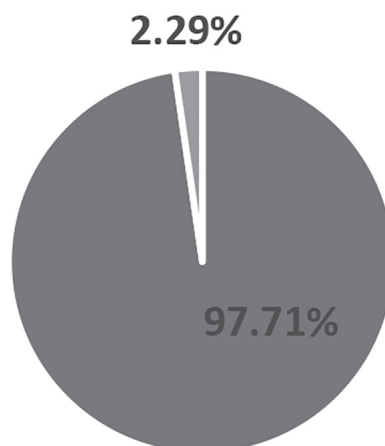


รูปที่ 2. ผลการศึกษาความสอดคล้องกัน (concordance) ของการทดสอบความไวต่อยา rifampicin เปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา

Levofloxacin



Moxifloxacin

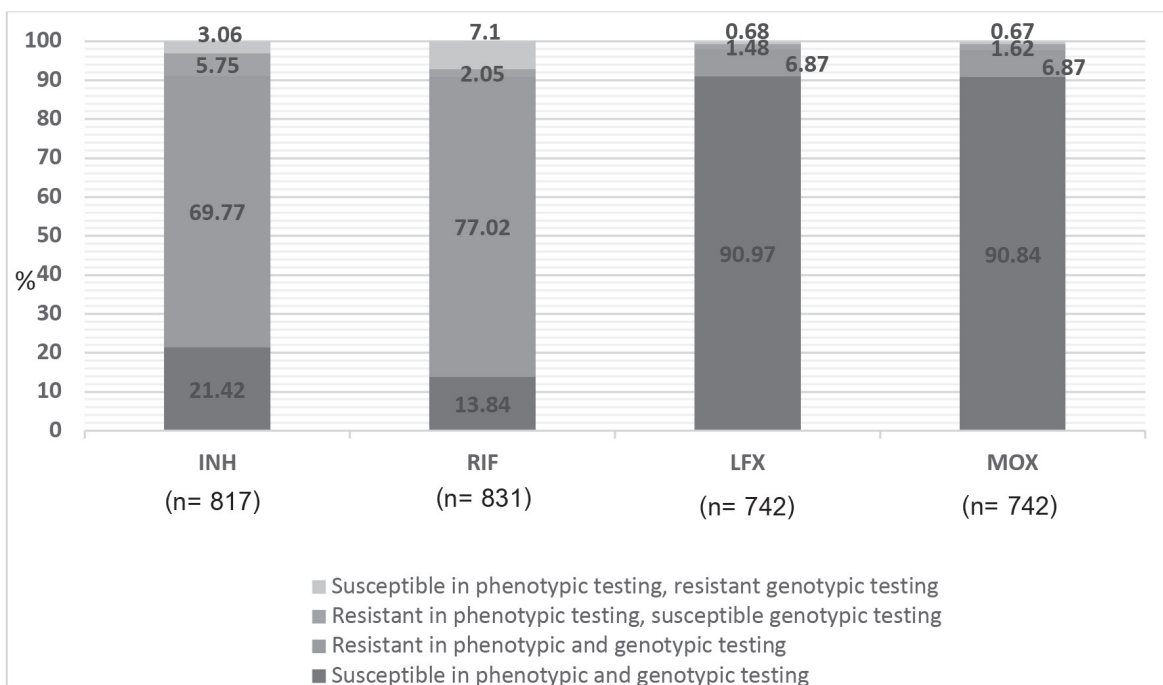


■ Concordance ■ Discordance

รูปที่ 3. ผลการศึกษาความสอดคล้องกัน (concordance) ของการทดสอบความไวต่อยา levofloxacin เปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา

■ Concordance ■ Discordance

รูปที่ 4. ผลการศึกษาความสอดคล้องกัน (concordance) ของการทดสอบความไวต่อยา moxifloxacin เปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา



รูปที่ 5. ผลการศึกษาความไม่สอดคล้องกัน (discordance) ของการทดสอบความไวต่อยา isoniazid, rifampicin, levofloxacin และ moxifloxacin เปรียบเทียบระหว่างวิธี phenotypic และ genotypic DST ที่มีการแยกทดสอบยาแต่ละชนิดในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา คำย่อ: INH = isoniazid, RIF = rifampicin, LFX= levofloxacin, MOX= moxifloxacin

การประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบความไวต่อยาของวิธี genotypic เทียบกับวิธี phenotypic DST พบว่าผลการทดสอบความไวต่อยา isoniazid, rifampicin, levofloxacin และ moxifloxacin มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 92.4, 97.4, 82.3 และ 81.0 ตามลำดับ ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 87.5, 66.1 และ 99.3 ตามลำดับ การประเมินระดับความสอดคล้องกันของผลการทดสอบความไวต่อยาเปรียบเทียบระหว่าง phenotypic และ genotypic DST พบว่าผลการทดสอบความไวต่อยา levofloxacin และ moxifloxacin มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (almost perfect agreement) มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.853 (95% confidence interval 0.782-0.924) และ 0.845 (95% confidence interval 0.772-0.917)³ ตามลำดับ ส่วนความสอดคล้องของผลการทดสอบความไวต่อยา isoniazid และ rifampicin อยู่ในระดับดี (substantial agreement)³ มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.770 (95% confidence interval 0.720-0.820) และ 0.697 (95% confidence interval 0.634-0.760)³ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

วิจารณ์

องค์การอนามัยโลกมีนโยบาย Universal DST แนะนำให้ผู้ป่วยวัณโรคทุกรายเข้าถึงการตรวจทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคด้วยวิธี genotypic และ phenotypic DST ในการตรวจทดสอบความไวของยา rifampicin ในกรณีที่มีการตรวจพบว่ามีเชื้อดื้อยา rifampicin จะต้องมีการทดสอบความไวของยากลุ่ม fluoroquinolones และยาฉีด second-line injectable drugs (SLIDs) เป็นอย่างน้อยด้วย ปัจจุบันในประเทศไทยแผนงานวัณโรคแห่งชาติเน้นการตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (genotypic DST) เป็นการตรวจหาชิ้นที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา เช่น Xpert MTB/RIF Ultra, LPA และ RT-PCR เป็นต้น ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูงและให้ผลการตรวจที่รวดเร็ว แต่สามารถตรวจพบตำแหน่งยีนดื้อยา (hotspot region) ได้จำกัดไม่ครอบคลุมทั้งหมด อาจทำให้ไม่สามารถตรวจพบการดื้อยาของผู้ป่วยวัณโรคได้ในบางราย นำไปสู่การวางแผนการรักษาและการจัดการผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี phenotypic DST

ตารางที่ 3. ผลการประเมินประสิทธิภาพและประเมินระดับความสอดคล้องกันของการทดสอบความไวต่อยา วิธี genotypic เทียบกับวิธี phenotypic DST ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยา

			Phenotypic DST		Total	Diagnostic performance of Genotypic DST				Level of agreement Kappa (95%CI)
			Resistant	Susceptible		Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	
Genotypic DST	INH	Resistant	570	25	595	92.4	87.5	95.8	78.8	0.770 (0.720-0.820)
		Susceptible	47	175	222					
	RIF	Resistant	640	59	699	97.4	66.1	91.6	87.1	0.697 (0.634-0.760)
		Susceptible	17	115	132					
	LFX	Resistant	51	5	56	82.3	99.3	91.1	98.4	0.853 (0.782 0.924)
		Susceptible	11	675	686					
	MOX	Resistant	51	5	56	81.0	99.3	91.1	98.3	0.845 (0.772-0.917)
		Susceptible	12	674	686					

ตัวย่อ: INH = Isoniazid, RIF = Rifampicin, LFX = Levofloxacin, MOX = Moxifloxacin, NPV = negative predictive value, PPV = positive predictive value, CI = confidence interval

จึงยังมีความสำคัญในการตรวจวินิจฉัยโรคดื้อยา ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) แต่ต้องใช้เวลานานหลายสัปดาห์หรือมากกว่าหนึ่งเดือนในการรายงานผล^{1-2,4,10}

Isoniazid

การศึกษานี้ได้ประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบความไวต่อยา isoniazid ด้วยวิธี genotypic เทียบกับ phenotypic DST พบว่ามีความไว (sensitivity) ร้อยละ 92.4 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 87.5 จากการศึกษาของ Tilahun et al.⁵, Getahun et al.¹² และ Wondale et al.¹³ พบว่าการทดสอบ genotypic DST (LPA: MTBDR plus) เทียบกับ phenotypic DST มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 42, 96 และ 33.3 ตามลำดับ ความจำเพาะ (specificity) เท่ากันที่ร้อยละ 100^{5,13} การศึกษานี้ได้ประเมินความสอดคล้องกันของผลการทดสอบความไวต่อยา isoniazid เปรียบเทียบระหว่าง phenotypic และ genotypic DST พบว่ามีความสอดคล้องกัน ร้อยละ 91.19 มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.770 (95% confidence interval 0.720-0.820) อยู่ในระดับดี (substantial agreement) จากการศึกษาของ Bonsa et al.² และ Aung et al.¹⁴ พบว่ามีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (almost perfect agreement) มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.86 (95 % confidence interval 0.70-1.00² และ 0.99) (95% confidence interval 0.96-1.01)¹⁴ ตามลำดับ และการศึกษาของ Tilahun et al.⁵ พบมีความสอดคล้องกันในระดับปานกลาง (moderate agreement) มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.56 (95% confidence interval 0.36-0.76)

ส่วนผลการทดสอบความไวต่อยา isoniazid ที่ไม่สอดคล้องกัน (discordance) ของการศึกษานี้ พบร้อยละ 8.81 ส่วนใหญ่จะเป็นรูปแบบผลฟีโนไทป์ดื้อยาแต่ผลจีโนไทป์ไวต่อยา (resistant in phenotypic testing, susceptible genotypic testing) จากการศึกษาของ Bonsa et al.² ความไม่สอดคล้องกัน (discordance) พบร้อยละ 10.5 ซึ่งสาเหตุความไม่สอดคล้องกันนี้เกิดขึ้นเนื่องจากการกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่ตำแหน่งยีนอื่นที่ไม่ใช่ Kat G (nonsynonymous mutations in the kat G gene:

high level isoniazid resistance) และ inh A genes (low level isoniazid resistance) เช่น ahp C, fabG1 และ ndh genes ซึ่งการทดสอบ genotypic DST (FL-LPA: MTBDR plus) ไม่สามารถตรวจจับการดื้อยาในเชื้อกลุ่มย่อยที่มีการกลายพันธุ์ (resistant subpopulations) ของตำแหน่งยีนดังกล่าวนี้ได้ จึงทำให้ได้ผลการทดสอบไวต่อยาปลอม (false susceptible)^{2,15-16} องค์การอนามัยโลก (WHO) มีข้อแนะนำในการวินิจฉัยเบื้องต้นของการทดสอบความไวต่อยา isoniazid ให้ใช้วิธี FL-LPA ในการตรวจยีนดื้อยา inh A และ kat G ซึ่งมีความไว (sensitivity) ร้อยละ 85 เทียบกับ phenotypic DST (MGIT) และมีความจำเพาะสูง (specificity) และแนะนำให้ใช้วิธี phenotypic DST (MGIT) เป็นวิธีอ้างอิง (reference method)¹⁰ จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าการทดสอบความไวต่อยา isoniazid ด้วยวิธี genotypic DST มีความน่าเชื่อถือในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาแต่ในบางกรณีการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี genotypic DST อาจจะให้ผลไวต่อยาปลอมได้ (false-susceptible) จึงควรทำการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี phenotypic DST (MGIT: reference method) เพื่อตรวจยืนยันวัณโรคดื้อยา^{2,10}

Rifampicin

การศึกษานี้พบว่าการทดสอบความไวต่อยา rifampicin ที่ไม่สอดคล้องกัน (discordance) ระหว่าง phenotypic และ genotypic DST ร้อยละ 9.15 ส่วนใหญ่จะเป็นรูปแบบผลฟีโนไทป์ไวต่อยาแต่ผลจีโนไทป์ดื้อยา (susceptible in phenotypic testing, resistant genotypic testing) พบร้อยละ 7.10 ส่วนผลการทดสอบที่มีผลฟีโนไทป์ดื้อยาแต่ผลจีโนไทป์ไวต่อยา (resistant in phenotypic testing, susceptible genotypic testing) พบร้อยละ 2.05 จากการศึกษาของ Zegeye Bonsa et al.² พบความไม่สอดคล้องกัน (discordance) ร้อยละ 10.5 การดื้อยา rifampicin โดยทั่วไปจะเกิดการกลายพันธุ์ที่บริเวณตำแหน่ง 81bp RRDRa rpo B gene (hotspot region) อยู่ใน codons 531 (ร้อยละ 58), 513 (ร้อยละ 25), 526 (ร้อยละ 8), 511 (ร้อยละ 8) และไม่มี codon 522 (ไม่รวมถึง silent mutations)^{8,17} ซึ่งการทดสอบด้วยวิธี genotypic DST จะตรวจหายีน rpo B

ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา rifampicin โดยการออกแบบ probes ตรวจจับตำแหน่งการกลายพันธุ์ (hotspot region) ที่พบได้บ่อยนี้ จึงเป็นข้อจำกัดของวิธีการตรวจที่ทำให้ตรวจพบตำแหน่งยีนดื้อยาได้จำกัด ทำให้บางกรณีผลการทดสอบอาจได้ผลไวต่อยาปลอม (false-susceptible) หรือดื้อยาปลอมได้ (false-resistant) เช่น กรณีที่มีการติดเชื้อวัณโรคหลายสายพันธุ์ในผู้ป่วยคนเดียว (mixed MTBC infections) ถึงแม้ว่าการทดสอบ Xpert MTB/RIF จะมีความสามารถในการตรวจจับตำแหน่งการกลายพันธุ์ใน rpo B จำนวนมากพร้อมกันได้ แต่ก็ไม่สามารถตรวจจับการกลายพันธุ์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดการดื้อต่อ rifampicin ได้ การติดเชื้อแบบผสมหลายสายพันธุ์ (mixed MTBC infections) จึงทำให้เกิดผลบวมปลอม (false-resistant) และผลลบปลอมได้ (false-susceptible)¹⁷⁻¹⁹ หรือมีการเกิดการกลายพันธุ์เงียบ (silent mutations in the RRDR) ของยีน rpo B ซึ่งการกลายพันธุ์เงียบนี้จะไม่ส่งผลต่อการดื้อยา rifampicin แต่การตรวจด้วยวิธี genotypic DST (Xpert MTB/RIF, GenoType MTBDR plus assay) สามารถตรวจพบการกลายพันธุ์นี้ได้และจะแปลผลการทดสอบเป็นวัณโรคดื้อยาซึ่งเป็นผลบวกปลอม (false-resistant) ในขณะที่การทดสอบด้วยวิธี phenotypic DST ให้ผลไวต่อยา^{2,20-22} แต่ในบางกรณีถ้าหากมีการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน rpo B ที่อยู่นอกบริเวณตำแหน่ง RRDR แต่ยังคงมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยา rifampicin เมื่อทดสอบด้วยวิธี genotypic DST จะไม่สามารถตรวจพบการกลายพันธุ์ในตำแหน่งดังกล่าวนี้ได้ จึงให้ผลการทดสอบไวต่อยาปลอม (false-susceptible) ในขณะที่ผลการทดสอบฟีโนไทป์ดื้อยา ในกรณีแบบนี้ผู้ป่วยจึงจำเป็นต้องได้รับการรักษาด้วยสูตรยาวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB)^{2,10,20}

การศึกษานี้ได้ประเมินประสิทธิภาพการทดสอบความไวต่อยา rifampicin ด้วยวิธี genotypic เทียบกับ phenotypic DST พบว่ามีความไว (sensitivity) ร้อยละ 97.4 ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 66.1 จากการศึกษาของ Getahun et al.¹² และ Wondale et al.¹³ พบว่าการทดสอบ genotypic DST (LPA: GenoType MTBDR plus) เทียบกับ phenotypic DST มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 94

และ 100 ตามลำดับ ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.2¹³ การศึกษาของ Cayci et al.¹⁷ และ Mboowa et al.⁸ การทดสอบความไวต่อยา rifampicin ด้วยวิธี Xpert MTB/RIF เทียบกับ phenotypic DST มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 95, 94.4 -100 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 98, 98.3-100 ตามลำดับ การประเมินความสอดคล้องกันของผลการทดสอบความไวต่อยา rifampicin ระหว่าง phenotypic และ genotypic DST ของการศึกษานี้พบมีความสอดคล้องกัน ร้อยละ 90.85 มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.697 (95% confidence interval 0.634-0.760) อยู่ในระดับดี (substantial agreement) จากการศึกษาของ Aung et al.¹⁴ พบมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (almost perfect agreement) มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.99 (95% confidence interval 0.96-1.01) และการศึกษาของ Mboowa et al.⁸ พบมีความสอดคล้องกัน ร้อยละ 100

การทดสอบความไวต่อยา rifampicin องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้แนะนำให้ตรวจอย่างรวดเร็วด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ส่วนการทดสอบความไวต่อยาดด้วยวิธี phenotypic DST (MGIT) ให้ผลการทดสอบอาจไม่น่าเชื่อถือสำหรับเชื้อบางสายพันธุ์ (isolates) จึงได้เสนอแนะให้ใช้วิธีการถอดรหัสพันธุกรรม (DNA sequencing) ของยีน rpo B ทั้งจีโนมเป็นวิธีอ้างอิง (reference method)¹⁰ จากการศึกษาของ Viksna et al. พบว่าผลการทดสอบความไวต่อยา rifampicin และ isoniazid เปรียบเทียบระหว่าง phenotypic DST และ genotypic DST (WGS) มีความสอดคล้องกัน ร้อยละ 100 ซึ่งสามารถใช้วิธี whole genome sequencing แทนวิธี phenotypic DST ได้ เพื่อให้ผลการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาที่ถูกต้องและรวดเร็วขึ้น^{4,15}

Levofloxacin และ Moxifloxacin

Levofloxacin และ moxifloxacin เป็นยาในกลุ่ม fluoroquinolones (FQ) ซึ่งเป็นยาพื้นฐานสำคัญที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) จะยับยั้ง DNA gyrase (type II topoisomerase composed of α and β subunits) ซึ่งจะจำกัดความสามารถของเซลล์ในกระบวนการ DNA replication และ transcription²⁴ การ

ดื้อยาในกลุ่ม FQ เกิดการกลายพันธุ์ในยีน *gyr A* และ *gyr B* โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณ *quinolone resistance-determining region (QRDR)* ของยีน *gyr A* (codons 74-113) และ *gyr B* (codons 500-540) เป็นสาเหตุหลักของการดื้อยา FQ ของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis (MTB)*^{23,25} โดยทั่วไปยีน *gyr A* ถือเป็นยีนเป้าหมาย (target gene) ที่มีแนวโน้มการดื้อยาของ FQ มากที่สุด ยาที่ใช้รักษาเพื่อยับยั้งวัณโรคที่มีศักยภาพก็ได้รับการพัฒนาจากยีนเป้าหมายนี้ รวมไปถึงใช้ในการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยตามหลักโมเลกุล (molecular-based) ซึ่งจะตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน *gyr A* และ *gyr B* ในบริเวณ QRDR²³ แต่อย่างไรก็ตามพบว่า MTB ที่ดื้อต่อ FQ ประมาณร้อยละ 60 ไม่ทราบการกลายพันธุ์ในบริเวณ QRDR ของยีน *gyr A* และ *gyr B* จึงส่งผลต่อความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ในการตรวจวินิจฉัยทาง genotypic DST²⁴

การศึกษานี้ได้ประเมินประสิทธิภาพของวิธี genotypic DST เทียบกับ phenotypic DST พบว่า levofloxacin และ moxifloxacin มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 82.3 และ 81.0 ตามลำดับ มีความจำเพาะ (specificity) เท่ากัน ร้อยละ 99.3 และการประเมินความสอดคล้องกันของผลการทดสอบความไวต่อยาเปรียบเทียบระหว่าง phenotypic และ genotypic DST พบ levofloxacin มีความสอดคล้องกัน ร้อยละ 97.84, moxifloxacin ร้อยละ 97.71 ซึ่ง levofloxacin และ moxifloxacin มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (almost perfect agreement) มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.853 (95% confidence interval 0.782-0.924) และ 0.845 (95% confidence interval 0.772-0.917) ตามลำดับ ส่วนความไม่สอดคล้องกัน levofloxacin พบร้อยละ 2.16 และ moxifloxacin ร้อยละ 2.29 รูปแบบความไม่สอดคล้องกัน (discordance) ส่วนใหญ่จะเป็นผลฟิโนไทป์ดื้อยาแต่ผลจีโนไทป์ไวต่อยา (resistant in phenotypic testing, susceptible genotypic testing) สาเหตุเนื่องจากวิธี genotypic DST จะตรวจพบตำแหน่งยีนดื้อยา (hotspot region) ได้จำกัดไม่ครอบคลุมทั้งหมด

จากการศึกษาของ Hameed et al. ความไว

(sensitivity) ในการทดสอบความไวต่อยา FQ ด้วยวิธี genotypic DST มีดังนี้ เชื้อยีสต์ ร้อยละ 80.5 (16), ปักกิ่ง ร้อยละ 89.7, ฝรั่งเศส ร้อยละ 87.5 เยอรมัน ร้อยละ 90.6 และ เวียดนาม ร้อยละ 75.6 การศึกษามีการตรวจพบ 18 novel mutations ในยีน *gyr A* และ *gyr B* เกิดการกลายพันธุ์ A 90, D 94 และ T 500, G 510, G 512 ของยีน *gyr A* และ *gyr B* ตามลำดับ เป็นตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่พบได้บ่อยในบริเวณ QRDR(s) ของสายพันธุ์ดื้อยา LVX^RMXF^R strains พบร้อยละ 71.50 ซึ่ง novel mutations ที่พบเกิดขึ้นทั้งในและนอกบริเวณ QRDR ของยีน *gyr A* (L105R, A 126E, M 127K, D 151T, V 165A) และ *gyr B* (D 461H, N 499S, G 520A) และที่น่าสนใจอย่างยิ่งพบว่ามี 25 LVX^RMXF^R strains ไม่ทราบกลไกการดื้อยา²³ จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี genotypic DST (Xpert MTB/XDR, GenoType MTBDRsl, RT-PCR) ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาบางรายอาจจะตรวจไม่พบเชื้อวัณโรคที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *gyr A* และ *gyr B* แต่อาจยังคงดื้อยาได้ จึงให้พิจารณาทำการทดสอบ phenotypic DST หากมีความสงสัยสูงว่าเชื้อจะดื้อยา^{10,12,23}

การวินิจฉัยเบื้องต้นของการทดสอบความไวต่อยา levofloxacin และ moxifloxacin องค์การอนามัยโลก (WHO) แนะนำให้ใช้วิธี SL-LPA (GenoType MTBDRsl) และควรทำการทดสอบในผู้ป่วย RR TB ทุกราย ซึ่ง SL-LPA มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 85 และมีความจำเพาะสูง เทียบกับ MGIT DST สำหรับการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี phenotypic DST มีความน่าเชื่อถือสูง จึงแนะนำให้ใช้ phenotypic DST (MGIT) เป็นวิธีอ้างอิง (reference method)¹⁰

สรุป

การศึกษานี้ผลการทดสอบความไวต่อยาเปรียบเทียบระหว่าง phenotypic และ genotypic DST พบว่า isoniazid และ rifampicin มีความสอดคล้องกันอยู่ในระดับดี (substantial agreement)³ ที่ร้อยละ 91.19 และ 90.85 มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.770 (95% CI 0.720-0.820)

และ 0.697 (95% CI 0.634-0.760) ตามลำดับ ส่วน levofloxacin และ moxifloxacin มีความสอดคล้องกัน (concordance) ที่ร้อยละ 97.84 และ 97.71 มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (almost perfect agreement) มีค่าสถิติ Kappa เท่ากับ 0.853 (95% CI 0.782-0.924) และ 0.845 (95% CI 0.772-0.917)³ ตามลำดับจะเห็นได้ว่าพบความไม่สอดคล้องกัน (discordance) ของผลการทดสอบความไวต่อยาระหว่าง phenotypic และ genotypic DST ดังนี้ isoniazid ร้อยละ 8.81, rifampicin ร้อยละ 9.15, levofloxacin ร้อยละ 2.16 และ moxifloxacin ร้อยละ 2.29 และรูปแบบความไม่สอดคล้องกัน (discordance) ส่วนใหญ่จะเป็นผลฟีโนไทป์ดื้อยาแต่ผลจีโนไทป์ไวต่อยา (resistant in phenotypic testing, susceptible genotypic testing) สาเหตุเนื่องจากวิธี genotypic DST สามารถตรวจพบตำแหน่งยีนดื้อยา (hotspot region) ได้จำกัดไม่ครอบคลุมทั้งหมด ทำให้ไม่สามารถตรวจพบผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาได้ในบางกรณี จึงอาจจะศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการดื้อยาที่ไม่สอดคล้องกันนี้ โดยใช้การถอดรหัสพันธุกรรมวัณโรคดื้อยาทั้งจีโนม (whole genome sequencing) เพื่อศึกษาทำความเข้าใจเกี่ยวกับผลการดื้อยาที่ไม่สอดคล้องกันของสายพันธุ์ *M. tuberculosis* ให้ครอบคลุมทั้งหมด และอาจนำไปสู่การค้นพบตำแหน่งยีนดื้อยาใหม่ที่เกิดขึ้นได้ (novel mutation associated with drug resistant)^{4-5,23}

การศึกษานี้เป็นประโยชน์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกวิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาได้อย่างเหมาะสม ทำให้ผู้ป่วยวัณโรคทุกรายได้เข้าถึงการตรวจทดสอบความไวต่อยาเบื้องต้นได้อย่างรวดเร็วด้วยวิธี genotypic DST ถ้าหากผู้ป่วยรายใดที่มีความสงสัยดื้อยาวัณโรคสูง แต่ผลการตรวจด้วยวิธี genotypic DST ไม่พบการดื้อยา ก็แนะนำให้ทำการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี phenotypic DST (gold standard) เพื่อยืนยันผลวัณโรคดื้อยา ซึ่งการเลือกการทดสอบความไวต่อยาได้เหมาะสม ส่งผลให้ผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาได้รับผลที่รวดเร็วและถูกต้องมากยิ่งขึ้น ทำให้เข้าสู่กระบวนการรักษาที่เหมาะสมโดยเร็วที่สุด ช่วยเพิ่มโอกาสในการรักษาหายมากขึ้นรวมทั้งลดอัตราการเสียชีวิตลง และลดโอกาสในการแพร่เชื้อวัณโรคดื้อยาไปสู่สังคม ซึ่งถือเป็น

กลไกที่สำคัญในการยุติปัญหาการแพร่ระบาดของวัณโรคดื้อยา^{1,26}

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่กองวัณโรคที่เกี่ยวข้อง ทนพญ.ชนัญตรี ก่ำดี ดร.ทนพ.วรารุณี เลาลีศ และ ดร.ทนพ.สงบ หลักแหล่ง ที่ให้คำปรึกษาและสนับสนุนงานวิจัยสำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. เจริญ ชูโชติถาวร, ผลิน กมลวัทน, ยุทธิชัย เกษตรเจริญ และคนอื่นๆ. แนวทางการบริหารจัดการผู้ป่วยวัณโรคดื้อยา พ.ศ. 2567 (Guideline for Programmatic Management of Drug-Resistant tuberculosis 2024: PMDT 2024) กรุงเทพฯ: กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2567.
2. Bonsa Z, Tadesse M, Balay G, et al. Discordance between genotypic and phenotypic methods for the detection of rifampicin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* and the correlation with patient treatment outcomes. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis* 2023; 34:100410.
3. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33:159-74.
4. Viksna A, Sadovska D, Berge I, et al. Genotypic and phenotypic comparison of drug resistance profiles of clinical multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates using whole genome sequencing in Latvia. *BMC Infect Dis* 2023; 23:638.
5. Tilahun M, Wegayehu T, Wondale B, et al. Phenotypic and genotypic drug susceptibility patterns of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from pulmonary tuberculosis patients in Central and Southern Ethiopia. *Plos One* 2023; 18(9):e0285063.

6. World Health Organization. Global tuberculosis report 2023. Geneva: WHO; 2023.
7. เพชรวรรณ พึ่งรัศมี, ผลิน กมลวัฑน์, ศรีประพา เนตรนิยม และคนอื่นๆ. แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ. 2564 (National Tuberculosis Control Programme Guideline, Thailand 2021) กรุงเทพฯ: กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2564.
8. Mboowa G, Namaganda C, Ssengooba W. Rifampicin resistance mutations in the 81 bp RRDR of rpoB gene in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates using Xpert MTB/RIF in Kampala, Uganda: a retrospective study. BMC Infect Dis 2014; 14:481.
9. Salman HS, Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual for BACTEC MGIT 960 TB System (Also applicable for Manual MGIT) Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) Culture and Drug Susceptibility Demonstration Projects 2006.
10. World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis 2018.
11. Lifescience H. GenoType MTBDRplus VER 2.0. Instructions for Use. Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany; 2015. https://www.hain-lifescience.de/inc_lude_datei/kundenmodule/packungsbeilage/download.php?id=936.
12. Getahun M, Ameni G, Mollalign H, et al. Genotypic and phenotypic drug-resistance detection and prevalence of heteroresistance in patients with isoniazid and multidrug-resistant tuberculosis in Ethiopia. IJID Regions 2022; 2:149-53.
13. Wondale B, Medhin G, Abebe G, et al. Phenotypic and genotypic drug sensitivity of Mycobacterium tuberculosis complex isolated from south Omo Zone, southern Ethiopia. Infect Drug Resist 2018; 11:1581-9.
14. Aung WW, Ei PW, Nyunt WW, et al. Phenotypic and genotypic analysis of anti tuberculosis drug resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates in Myanmar. Ann Lab Med 2015; 35:494-9.
15. Li J, Yang T, Hong C, et al. Whole-genome sequencing for resistance level prediction in multidrug-resistant tuberculosis. Microbiology Spectrum 2020; 10:e0271421.
16. ปวีณา กมลรักษ์, ชีระพงษ์ สิงห์โตหิน, นุชรา กลางประพันธ์ และคนอื่นๆ. ศึกษาอัตราและรูปแบบการกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา Rifampicin และ Isonizid ด้วยวิธี Line probe assay ในตัวอย่างส่งตรวจที่สำคัญป้องกันควบคุมโรคที่ 7 จังหวัดขอนแก่น เดือน สิงหาคม - ธันวาคม 2565. วารสารวิชาการสำนักป้องกันและควบคุมโรคที่ 8 จังหวัดอุบลราชธานี 2567; 2:46-57.
17. Cayci YT, Bilgin K, Coban AY, et al. An evaluation of false-positive rifampicin resistance on the Xpert MTB/RIF. Mem Inst Oswaldo Cruz 2017; 112:756-9.
18. Blakemore R, Story E, Helb D, et al. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. J Clin Microbiol 2010; 48:2495-501.
19. Zetola NM, Shin SS, Tumedi KA, al et. Mixed Mycobacterium tuberculosis complex infections and false-negative results for rifampicin resistance by GeneXpert MTB/RIF are associated with poor clinical outcomes. J Clin Microbiol 2014; 52: 2422-9.
20. Alonso M, Palacios JJ, Herranz M, et al. Isolation of Mycobacterium tuberculosis strains with a silent mutation in rpoB leading to potential misassignment of resistance category. J Clin Microbiol 2011; 49:2688-90.
21. Mathys V, Vyvere NV, Droogh E, et al.. False-positive rifampicin resistance on Xpert MTB/RIF caused by a silent mutation in the rpoB gene. Int J Tuberc Lung Dis 2014; 18 :1255-7.
22. Moure R, Martín R, Alcaide F. Silent mutation in rpoB detected from clinical samples with

- rifampin-susceptible *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 2011; 49:3722.
23. Hameed HMA, Tan Y, Islam MM, et al. Phenotypic and genotypic characterization of levofloxacin- and moxifloxacin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in southern China. J Thorac Dis 2019; 11:4613-25.
 24. Maruri F, Sterling TR, Kaiga AW, et al. A systematic review of gyrase mutations associated with fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and a proposed gyrase numbering system. J Antimicrob Chemother 2012; 67:819-31.
 25. Chaoui I, Oudghiri A, El Mzibri M. Characterization of gyrA and gyrB mutations associated with fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Morocco. J Glob Antimicrob Resist 2018; 12:171-4.
 26. วิภา รัชชัยพิชิตกุล, ศรีประพา เนตรนิยม, เพชรวรรณ พึ่งรัมย์ และคนอื่นๆ. แนวทางการบริหารจัดการผู้ป่วยวัณโรคดื้อยา พ.ศ. 2558 (Guideline for Programmatic Management of Drug-Resistant tuberculosis) กรุงเทพฯ: กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2558.

Abstract: Nasrisuk T, Tohtubtiang K, Intaramontree P. Phenotypic and genotypic comparison of antituberculosis drug resistance *Mycobacterium tuberculosis* in Thailand

Thai J Tuberc Chest Dis Crit Care 2025; 44:51-63.

Division of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health

Drug-resistant tuberculosis concerns a significant public health challenge globally. The World Health Organization (WHO) recommended for the establishment of a universal drug sensitivity testing (DST) policy in endemic regions globally, permitting infected patients to get tuberculosis drug sensitivity testing by genotypic and phenotypic approaches.¹⁻² This facilitates the timely treatment of patients with DST utilizing the appropriate medication. This study comparison the genotypic and phenotypic DST of *Mycobacterium tuberculosis* to assess the agreement and performance between genotypic and phenotypic methods for detecting drug resistance. A sample from National Tuberculosis Reference Laboratory were included, comprising isoniazid (817), rifampicin (831), levofloxacin, and moxifloxacin (742). The results indicated that levofloxacin and moxifloxacin exhibited a concordance of 97.84% and 97.71% with kappa values of 0.853 (95% CI 0.782-0.924) and 0.845 (95% CI 0.772-0.917) respectively, signifying almost perfect agreement between phenotypic and genotypic DST.³ Concordance rate between phenotypic and genotypic DST results was detected for isoniazid 91.19% and rifampicin 90.85% and signifying substantial agreement, kappa values of 0.770 (95% CI 0.720-0.820) and 0.697 (95% CI 0.634-0.760) respectively.³ In contrast, discordance between genotypic and phenotypic DST for isoniazid, rifampicin, levofloxacin, and moxifloxacin were 8.81, 9.15, 2.16, and 2.29, respectively. The most commonly found discordance pattern is resistant in phenotypic testing, sensitive in genotypic testing because the genotypic DST method can detect drug resistance gene locations (hotspot region) with limited coverage.⁴⁻⁵ Consequently, whole genome sequencing (WGS) technology may be employed to address this issue in the next stage. This study serves as a guideline for medical laboratories in selecting the appropriate methodology for DST.