

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของเชื้อ Mycobacterium tuberculosis complex จากการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ในเขตสุขภาพที่ 3 ประเทศไทย

Rifampicin-resistant patterns of Mycobacterium tuberculosis complex from Xpert MTB/RIF Ultra testing in Health Region 3, Thailand

อนุกูล บุญคง

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์
กรมควบคุมโรค

Anugoon Bunkhong

Office of Disease Prevention and Control 3,
Nakhonsawan Province, Department of Disease Control

Received: September 4, 2022 | Revised: January 24, 2023 | Accepted: March 22, 2023

บทคัดย่อ

วัณโรคดื้อยา Rifampicin (Rifampicin-resistant TB: RR-TB) เป็นอุปสรรคสำคัญในการลดอุบัติการณ์ของวัณโรค การรักษาต้องใช้งบประมาณการรักษาสูงและมีความซับซ้อน แต่กลับมีอัตราผลสำเร็จของการรักษาต่ำ ในปัจจุบันมีการใช้วิธีทางอณูชีววิทยา Xpert MTB/RIF Ultra ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ RR-TB วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของเชื้อก่อวัณโรค Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) ด้วยค่า Melt peak temperature (MPT) ที่ได้จากการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ใช้ตัวอย่างเสมหะที่ส่งตรวจพบเชื้อ MTBC และพบการดื้อยา Rifampicin จากโรงพยาบาลในเขตสุขภาพที่ 3 ที่ส่งตรวจ Xpert MTB/RIF Ultra ณ ห้องปฏิบัติการทางแพทยศาสตร์ควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ในช่วงเดือนมกราคม 2564 ถึง มีนาคม 2565 ผลการวิจัยพบเชื้อ RR-TB จำนวน 22 ตัวอย่าง จังหวัดที่พบมากที่สุด ได้แก่ พิจิตร 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 31.9) รองลงมาเป็น นครสวรรค์ พบ 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27.3) และอีกสามจังหวัด ได้แก่ กำแพงเพชร อุทัยธานี และชัยนาท พบเท่ากันจังหวัดละ 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 13.6) สามารถจำแนกรูปแบบการดื้อยา Rifampicin ได้ 8 รูปแบบ ตั้งแต่ RR1 ถึง RR8 รูปแบบที่พบมากที่สุดคือ RR4 และ RR5 จำนวนรูปแบบละ 7 ตัวอย่าง เชื้อ RR-TB ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยใหม่ ร้อยละ 72.7 ผลตรวจยืนยันพบเป็น MDR-TB ร้อยละ 63.2 การตรวจ Xpert MTB/RIF Ultra มีความสะดวกสำหรับใช้ระบุรูปแบบการดื้อยา Rifampicin ซึ่งใช้ประเมินในเบื้องต้นถึงสายพันธุ์เชื้อ RR-TB ที่มีการแพร่กระจายเชื้อในพื้นที่ ใช้ตรวจสอบความเชื่อมโยงของการแพร่เชื้อ RR-TB ตลอดจนเป็นประโยชน์ในการประเมินการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วย RR-TB จากเชื้อสายพันธุ์เดิมได้

ติดต่อผู้พิมพ์: อนุกูล บุญคง

อีเมล: ulnuka@hotmail.com

Abstract

Rifampicin-resistant TB (RR-TB) is the major obstacle to reduce tuberculosis (TB) incidence. RR-TB treatment cost is high and complicated but the success rate of RR-TB treatment is still low. These days, Xpert MTB/RIF Ultra is one of the molecular biological techniques that is a tool for RR-TB diagnosis. This study aimed to find out the rifampicin-resistant pattern of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) by melt peak temperature (MPT) from Xpert MTB/RIF Ultra testing. The samples were MTBC and rifampicin-detected sputa from hospitals in Health Region 3 that were sent for Xpert MTB/RIF Ultra testing at the Disease Control Medical Laboratory, the Office of Disease Control Region 3, Nakhon Sawan from January 2021 to March 2022. Twenty-two RR-TB cases were detected. Phichit province with the highest RR-TB had 7 cases (31.9%) followed by Nakhon Sawan province had 6 cases (27.3) and three provinces, Kamphaeng Phet, Uthai Thani, and Chai Nat each had the same number of RR-TB in 3 cases (13.6%). Rifampicin resistance can be classified into 8 patterns, coded from RR1 to RR8. The common patterns were RR4 and RR5, each found 7 cases equally. The most RR-TB cases were new patients (72.7%). 63.2% of RR-TB cases were confirmed as MDR-TB. Xpert MTB/RIF Ultra was convenient for identifying rifampicin-resistant patterns to initially assess the RR-TB strains that have spread in the area, to determine the association of RR-TB transmission, and to assess the recurrence of RR-TB patients due to the original strain.

Correspondence: Anugoon Bunkhong

E-mail: ulnuka@hotmail.com

คำสำคัญ

วัณโรค

การดื้อยา Rifampicin

การระบาด

การตรวจ Xpert MTB/RIF Ultra

Keywords

Tuberculosis

Rifampicin resistance

Outbreak

Xpert MTB/RIF Ultra testing

บทนำ

วัณโรคดื้อยา Rifampicin (Rifampicin-resistant tuberculosis: RR-TB) นับเป็นปัญหาต่อการดูแลรักษา ตลอดจนการดำเนินงานป้องกัน ควบคุมวัณโรค และเป็นอุปสรรคสำคัญยิ่งในการลดอุบัติการณ์ของวัณโรค เนื่องจากผู้ป่วย RR-TB ต้องปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยสูตรยารักษาวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (Multidrug-resistant tuberculosis: MDR-TB) ซึ่งมีความซับซ้อนและใช้เวลานานกว่าการรักษาวัณโรคไวต่อยา อีกทั้งอัตราผลสำเร็จของการรักษา (Success rate) ของผู้ป่วย MDR/RR-TB ยังต่ำเพียงร้อยละ 59 เมื่อเปรียบเทียบกับวัณโรคไวต่อยาที่มีอัตราผลสำเร็จของการรักษาอยู่ที่ร้อยละ 85⁽¹⁾ ปี พ.ศ. 2560 องค์การอนามัยโลกรายงานจำนวนผู้ป่วย RR-TB ไว้ที่ 558,000 ราย โดยร้อยละ 82 เป็น MDR-TB⁽²⁾ ซึ่งเป็นวัณโรคดื้อยาหลายขนานที่ดื้อยาหลักของสูตรยารักษาวัณโรคแนวที่ 1 (First-line

drugs: FLDs) ได้แก่ Rifampicin และ Isoniazid ร่วมกัน แสดงให้เห็นว่าหากเกิดการดื้อยา Rifampicin ผู้ป่วยมีโอกาสสูงที่จะดื้อยา Isoniazid และกลายเป็น MDR-TB อัตราผู้ป่วย RR-TB มีแนวโน้มสูงขึ้นสำหรับประเทศไทย ปี พ.ศ. 2563 มีจำนวนผู้ป่วย MDR/RR-TB ที่ได้รับการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการ 1,302 ราย มีอัตราผลสำเร็จของการรักษาเพียงร้อยละ 63⁽³⁾

การดื้อยา Rifampicin ของเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) ซึ่งเป็นเชื้อก่อวัณโรค ส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 95 สัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของยีน *rpob* โดยยีนนี้จะถูกถอดรหัสและแปลรหัสไปเป็นโปรตีน β subunit ของเอนไซม์ RNA polymerase ตำแหน่งหลักที่พบการกลายพันธุ์เรียกว่า Rifampicin resistance determining region (RRDR) มีความยาว 81 คู่เบส (Base pair: bp)⁽⁴⁾ เป็นตำแหน่ง Codon ที่ 426 ถึง 452^(5,6) ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีทางอณูชีววิทยา (Molecular biology) เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยวัณโรคและทดสอบความไวต่อยาได้รวดเร็วขึ้นกว่าวิธีแบบดั้งเดิมที่ต้องอาศัยการเพาะเชื้อซึ่งใช้เวลานานนับเดือน หนึ่งในวิธีทางอณูชีววิทยาที่กล่าวมาคือ Xpert MTB/RIF Ultra เป็นวิธี Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) ตรวจหาเชื้อ MTBC ในตำแหน่งยีนที่จำเพาะและทดสอบความไวต่อยา Rifampicin จากการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง RRDR โดยมีค่าขีดจำกัดในการตรวจ (Limit of detection: LOD) เชื้อ MTBC อยู่ที่ 15.6 CFU/ml และมีค่า LOD ในการทดสอบความไวต่อยา Rifampicin อยู่ที่ 105.4 CFU/ml⁽⁷⁾

วิธี Xpert MTB/RIF Ultra ทดสอบความไวต่อยา Rifampicin ด้วยหลักการ Melting-temperature-based analysis มีความจำเพาะสูงต่อเชื้อ RR-TB เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์ค่า Melt peak temperature (MPT) ซึ่งเป็นค่าอุณหภูมิที่ทำให้สาย Deoxyribonucleic acid (DNA) เกิดการคลายออกครึ่งหนึ่งของความยาวทั้งหมด ค่า MPT แปรผันตามชนิดคู่เบสที่เกิดการกลายพันธุ์ โดยการกลายพันธุ์ของยีน *rpob* ในตำแหน่ง RRDR สามารถเกิดได้หลายจุด⁽⁸⁾ ส่งผลให้เกิดความหลากหลายของรูปแบบการกลายพันธุ์ สามารถนำมาวิเคราะห์รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของเชื้อ RR-TB เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานด้านวัณโรคและการจัดการปัญหาเชื้อ RR-TB ในพื้นที่ ประกอบกับยังไม่พบการศึกษารูปแบบการดื้อยา Rifampicin จากการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ในประเทศไทย จึงนำมาสู่วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้ เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของเชื้อ MTBC ด้วยค่า MPT ที่ได้จากการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ในเขตสุขภาพที่ 3

วัสดุและวิธีการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยภาคตัดขวาง (Cross-sectional study) โดยศึกษาข้อมูลตัวอย่างเสมอหะส่งตรวจหาเชื้อ MTBC ด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra และพบการดื้อยา Rifampicin จากโรงพยาบาลในเขตสุขภาพที่ 3 ซึ่งครอบคลุมพื้นที่รับผิดชอบ 5 จังหวัด ได้แก่ นครสวรรค์ กำแพงเพชร พิจิตร อุทัยธานี และชัยนาท ทำการทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการวัณโรค กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค

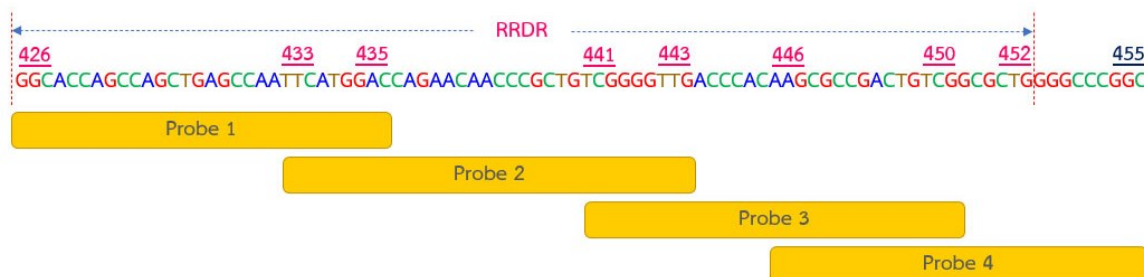
สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ในช่วงเดือนมกราคม 2564 ถึง มีนาคม 2565 โดยพบตัวอย่างเชื้อ RR-TB แบบไม่ซ้ำรายทั้งสิ้น 22 ตัวอย่าง ซึ่งถูกนำมาใช้ในการศึกษานี้ทั้งหมด

การตรวจตัวอย่างเสมหะด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra วิธี Xpert MTB/RIF Ultra เป็นการตรวจหาเชื้อ MTBC จากยีนที่จำเพาะกับเชื้อ ได้แก่ ยีน *rpoB* ในตำแหน่ง RRDR, ยีน *IS1081* และยีน *IS6110* การทดสอบความไวต่อยา Rifampicin นั้นใช้หลักการ Melting-temperature-based analysis ตรวจหาการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง RRDR ด้วย Probe 4 ตัว มีความครอบคลุมและมีการซ้อนเหลื่อมกันตลอดทั้งตำแหน่ง RRDR โดยความครอบคลุมตำแหน่ง Codon ของแต่ละ Probe มีดังนี้ Probe 1 ตำแหน่ง Codon 426 – 435, Probe 2 ตำแหน่ง Codon 433 – 443, Probe 3 ตำแหน่ง Codon 441 – 450 และ Probe 4 ตำแหน่ง Codon 446 – 455^(9,10) ดังแสดงในรูปที่ 1

ขั้นตอนการตรวจตัวอย่างเสมหะด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ทำการตรวจวิเคราะห์ตามเอกสารกำกับน้ำยาของผู้ผลิต⁽¹¹⁾ โดยใช้ตัวอย่างเสมหะปริมาตร 1 – 4 ml ผสมกับน้ำยา Sample reagent ซึ่งมีส่วนประกอบของ Sodium hydroxide และ Isopropanol อัตราส่วนของเสมหะต่อน้ำยา Sample reagent เท่ากับ 1:2 ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer อย่างน้อย 10 วินาที ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้วผสมให้เข้ากันครั้งที่สองด้วย Vortex mixer อย่างน้อย 10 วินาที ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 5 นาที จากนั้นดูดตัวอย่างปริมาตร 2 ml ใส่หลอดทดสอบ Xpert MTB/RIF Ultra นำใส่เครื่อง GeneXpert ใช้เวลาตรวจวิเคราะห์สำหรับตัวอย่างที่ให้ผลลบ 65 นาที และตัวอย่างที่ให้ผลบวก 77 นาที

การรายงานผลจากเครื่อง GeneXpert ตัวอย่างที่พบเชื้อ MTBC จะแสดงระดับเชื้อเป็นค่ากึ่งปริมาณวิเคราะห์ (Semi-quantitative value) 6 ค่า จากมากไปน้อย ได้แก่ High, Medium, Low, Very low และ Trace ตามลำดับ สำหรับผลการทดสอบความไวต่อยา Rifampicin แสดงเป็นค่า MPT ของ Wild type และ Mutant โดย Wild type มีการรายงาน 4 ค่า ได้แก่ *rpoB1 melt*, *rpoB2 melt*, *rpoB3 melt* และ *rpoB4 melt* สำหรับ Mutant มีการรายงาน 5 ค่า ได้แก่ *rpoB1Mut melt*, *rpoB2 Mut melt*, *rpoB3 Mut melt*, *rpoB4 Mut melt A* และ *rpoB4 Mut melt B* สำหรับตัวอย่างที่ไม่พบการดื้อยา Rifampicin จะแสดงค่า MPT เฉพาะในส่วนของ Wild type ทั้ง 4 ค่า ส่วนตัวอย่างที่พบการดื้อยา Rifampicin จะแสดงค่า MPT ในส่วนของ Mutant ร่วมด้วย ดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 2

รูปที่ 1 ตำแหน่ง RRDR ของยีน *rpoB* ของเชื้อ MTBC ในช่วงตำแหน่ง Codon ที่ 426 ถึง 452 และ Probe จำนวน 4 ตัว ของวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ที่ใช้ตรวจสอบการกลายพันธุ์ของยีน



รูปที่ 2 ตัวอย่างผลการทดสอบความไวต่อยา Rifampicin ของวิธี Xpert MTB/RIF Ultra โดยตรวจการกลายพันธุ์ของยีน *rpoB* ด้วย Melt peak temperature, A คือ ตัวอย่างที่ไม่พบการดื้อยา Rifampicin, B คือ ตัวอย่างที่พบการดื้อยา Rifampicin

Melt Peaks	
Analyte Name	Melt Peak Temperature
rpoB1 melt	69.2
rpoB2 melt	72.9
rpoB3 melt	75.6
rpoB4 melt	66.9
rpoB1 Mut melt	
rpoB2 Mut melt	
rpoB3 Mut melt	
rpoB4 Mut melt A	
rpoB4 Mut melt B	

A

Melt Peaks	
Analyte Name	Melt Peak Temperature
rpoB1 melt	69.0
rpoB2 melt	73.6
rpoB3 melt	
rpoB4 melt	
rpoB1 Mut melt	
rpoB2 Mut melt	
rpoB3 Mut melt	72.9
rpoB4 Mut melt A	73.3
rpoB4 Mut melt B	

B

การตรวจพิสูจน์ยืนยันเชื้อ MDR-TB เมื่อตรวจพบการดื้อยา Rifampicin ด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra จากตัวอย่าง จะมีการทดสอบความไวต่อยาเพื่อพิสูจน์ยืนยันเชื้อ MDR-TB ซึ่งทำการทดสอบความไวอย่างน้อยกับยา Isoniazid และ Rifampicin ด้วยวิธี Line-probe assay (LPA) หรือ Real-time PCR หรือ MGIT 960 ทั้งนี้วิธี LPA และ Real-time PCR เป็นวิธีทางอณูชีววิทยาที่ตรวจตัวอย่างเสมหะได้โดยตรง สามารถทดสอบความไวต่อยาวัณโรค FLDs ได้ 2 ชนิด ได้แก่ Isoniazid และ Rifampicin โดยตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากการตรวจหาเชื้อ Acid-fast bacilli (AFB) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถูกทำการตรวจด้วยวิธี LPA ส่วนตัวอย่างที่ผลตรวจหาเชื้อ AFB เป็นลบถูกทำการตรวจด้วยวิธี Real-time PCR และทุกตัวอย่างที่ทำการเพาะเชื้อและพบเชื้อ MTBC เจริญในอาหารถูกทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี MGIT 960 ซึ่งสามารถทดสอบความไวต่อยาวัณโรค FLDs ได้ 5 ชนิด ได้แก่ Streptomycin, Isoniazid, Rifampicin, Ethambutol และ Pyrazinamide ทั้งสามวิธีที่กล่าวมาทำการตรวจวิเคราะห์ตามเอกสารกำกับน้ำยาของผู้ผลิต⁽¹²⁻¹⁵⁾ การวิเคราะห์ทางสถิติค่าจำนวน ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่ามัธยฐาน (Median) และค่าพิสัยควอร์ไทล์ (Interquartile range: IQR) ในการวิเคราะห์และบรรยายลักษณะของข้อมูล

ผลการศึกษา

ผลการวิจัยตัวอย่างเสมหะที่ตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra และพบเชื้อ RR-TB ไม่ซ้ำรายจำนวน 22 ตัวอย่าง พบว่าลักษณะทั่วไปของตัวอย่างในด้านเพศ เป็นตัวอย่างเพศชาย 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 68.2) มากกว่าเพศหญิงที่พบ 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 31.8) ค่ามัธยฐานของอายุเท่ากับ 51.0 โดยมีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 19 - 66 ปี ตัวอย่างที่อายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี และตัวอย่างที่อายุมากกว่า 50 ปี มีจำนวนเท่ากันอย่างละ 11 ตัวอย่าง มี IQR ของอายุอยู่ในช่วง 41.75 - 58.25 ปี ประเภทการขึ้นทะเบียนผู้ป่วยวัณโรคของตัวอย่างส่วนใหญ่ ขึ้นทะเบียนเป็นผู้ป่วยใหม่ (New) คือ ผู้ป่วยที่ไม่เคยรักษาวัณโรคมาก่อน หรือรักษาน้อยกว่าหนึ่งเดือน พบ 16 ตัวอย่าง (ร้อยละ 72.7) รองลงมาเป็นผู้ป่วยกลับเป็นซ้ำ (Relapse) คือ ผู้ป่วยที่เคยรักษาวัณโรคและได้รับการประเมินผลว่ารักษาหายหรือรักษาครบแล้ว แต่

กลับมาป่วยเป็นวัณโรคซ้ำ พบ 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 18.2) และลำดับสุดท้ายเป็นผู้ป่วยรักษาซ้ำภายหลังขาดการรักษา (Treatment after loss to follow-up: TALF) คือ ผู้ป่วยที่มีประวัติเคยรักษาวัณโรคและขาดการรักษาตั้งแต่สองเดือนติดต่อกันขึ้นไป และกลับมารักษาซ้ำ พบ 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.1) จังหวัดที่พบเชื้อ RR-TB มากที่สุด ได้แก่ พิจิตร พบ 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 31.9) รองลงมาเป็น นครสวรรค์ พบ 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27.3) ส่วนที่เหลือสามจังหวัด ได้แก่ กำแพงเพชร อุทัยธานี และชัยนาท พบเท่ากัน จังหวัดละ 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 13.6) สำหรับระดับของเชื้อ MTBC ที่ตรวจพบเป็นค่ากึ่งปริมาตรวิเคราะห์ ส่วนใหญ่เป็นระดับ High จำนวน 12 ตัวอย่าง (ร้อยละ 54.5) รองลงมาเป็นระดับ Low จำนวน 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27.3) ระดับ Medium จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 13.6) และระดับ Very low จำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4.6) ตามลำดับ รายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะทั่วไปของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ RR-TB (N = 22)

ลักษณะทั่วไปของตัวอย่าง	จำนวน	ร้อยละ
เพศ		
ชาย	15	68.2
หญิง	7	31.8
อายุ		
≤ 50	11	50.0
> 50	11	50.0
ค่ามัธยฐาน (ค่าสูงสุด – ค่าต่ำสุด)	51.0 (19 – 66)	
IQR (Q1 , Q3)	16.5 (41.75 , 58.25)	
ประเภทการขึ้นทะเบียนผู้ป่วยวัณโรค		
New	16	72.7
Relapse	4	18.2
TALF	2	9.1
จังหวัด		
นครสวรรค์	6	27.3
กำแพงเพชร	3	13.6
พิจิตร	7	31.9
อุทัยธานี	3	13.6
ชัยนาท	3	13.6
ระดับเชื้อ MTBC จากการตรวจ Xpert MTB/RIF Ultra		
High	12	54.5
Medium	3	13.6
Low	6	27.3
Very low	1	4.6

การแบ่งรูปแบบการดื้อยา Rifampicin โดยใช้ค่า MPT พบว่ามีรูปแบบที่แตกต่างกันถึง 8 รูปแบบ โดยให้รหัส RR1 ถึง RR8 รูปแบบการดื้อยาที่พบจากมากไปน้อย ได้แก่ รูปแบบ RR4 และ RR5 พบเท่ากันรูปแบบละ 7 ตัวอย่าง รูปแบบ RR3 และ RR6 พบเท่ากันรูปแบบละ 2 ตัวอย่าง และที่พบน้อยสุด คือ รูปแบบ RR1, RR2, RR7 และ RR8 พบรูปแบบละ 1 ตัวอย่าง ในบรรดา รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ทั้งหมดนี้ พบรูปแบบการดื้อยาที่มีค่า MPT ทั้ง Wild type และ Mutant ที่ตำแหน่ง Probe เดียวกัน ได้แก่ รูปแบบ RR1 พบค่า MPT ของทั้ง Wild type และ Mutant ตำแหน่งเดียวกันที่ Probe 1 รูปแบบ RR2 พบค่า MPT ของทั้ง Wild type และ Mutant ตำแหน่งเดียวกันที่ Probe 3 รูปแบบ RR6 พบค่า MPT ของทั้ง Wild type และ Mutant ตำแหน่งเดียวกันที่ Probe 2 สำหรับค่าเฉลี่ย MPT ในตำแหน่ง Probe เดียวกันของ Mutant ส่วนใหญ่จะต่ำกว่าค่าเฉลี่ย MPT ของ Wild type ยกเว้นค่าเฉลี่ย MPT ของ Mutant ในตำแหน่ง Probe 4 ได้แก่ rpoB4 Mut melt A มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ย MPT ของ Wild type ได้แก่ rpoB4 melt รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของตัวอย่าง RR-TB จากการวิเคราะห์ค่า MPT ของยีน *rpoB* (N = 22)

รูปแบบการดื้อยา Rifampicin	ตัวอย่างที่	ค่า MPT ของยีน <i>rpoB</i>								
		Wild-type				Mutant				
		rpoB1	rpoB2	rpoB3	rpoB4	rpoB1	rpoB2	rpoB3	rpoB4	rpoB4
		melt	melt	melt	melt	Mut melt	Mut melt	Mut melt	Mut melt A	Mut melt B
RR1	1	68.6	72.8	75.3	67.1	64.7				
RR2	2	69.2	73.0	75.8	68.1			71.0		
RR3	3	69.1	72.8	75.5						61.0
	4	69.3	72.9	75.6						61.3
RR4	5	69.0	72.9		67.5			71.7		
	6	69.0	72.9		67.5			71.8		
	7	69.2	73.0		67.1			72.4		
	8	69.2	73.1		66.2			72.3		
	9	69.2	73.2		67.3			72.5		
	10	69.2	73.2		67.3			72.5		
	11	70.4	71.7		67.7			71.9		
RR5	12	69.0	73.7					72.9	73.4	
	13	69.1	73.6					73.0	73.4	
	14	69.1	73.6					73.0	73.4	
	15	69.1	73.8					73.0	73.4	
	16	69.2	73.6					73.0	73.5	
	17	69.3	74.2					73.2	73.7	
	18	69.4	74.3					73.4	73.8	

ตารางที่ 2 รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของตัวอย่าง RR-TB จากการวิเคราะห์ค่า MPT ของยีน *rpoB* (N = 22)(ต่อ)

รูปแบบการดื้อยา Rifampicin	ตัวอย่างที่	ค่า MPT ของยีน <i>rpoB</i>								
		Wild-type				Mutant				
		rpoB1	rpoB2	rpoB3	rpoB4	rpoB1	rpoB2	rpoB3	rpoB4	rpoB4
		melt	melt	melt	melt	Mut melt	Mut melt	Mut melt	Mut melt A	Mut melt B
RR6	19	69.2	73.9				69.7	73.0	73.5	
	20	69.4	74.1				69.5	73.2	73.7	
RR7	21	69.6		75.4	67.0		69.2			
RR8	22				66.9	65.7	70.1	73.6		
ค่าเฉลี่ย		69.2	73.3	75.5	67.2	65.2	69.6	72.6	73.5	61.2

แสดงค่า MPT ของ Wild type และ Mutant ที่พบในตำแหน่ง Probe เดียวกัน ในตัวอย่างเดียวกัน รูปแบบการดื้อยา Rifampicin และลักษณะทั่วไปของตัวอย่างพบว่า ในด้านของเพศนั้น พบรูปแบบ RR4 และ RR5 มากที่สุดทั้งในตัวอย่างเพศชายและเพศหญิง ในด้านของอายุพบว่าตัวอย่างอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี มีการดื้อยาในรูปแบบ RR4 มากที่สุด จำนวน 4 ตัวอย่าง รองลงมาเป็น RR5 จำนวน 3 ตัวอย่าง ในขณะที่ตัวอย่างที่อายุมากกว่า 50 ปี พบรูปแบบ RR5 มากที่สุด จำนวน 4 ตัวอย่าง รองลงมาเป็นรูปแบบ RR4 จำนวน 3 ตัวอย่าง สำหรับประเภทการขึ้นทะเบียนผู้ป่วยวัณโรค พบว่าในกลุ่ม New มีการดื้อยาทั้ง 8 รูปแบบ โดยพบรูปแบบ RR5 มากที่สุด จำนวน 5 ตัวอย่าง รองลงมาเป็นรูปแบบ RR4 จำนวน 3 ตัวอย่าง กลุ่ม Relapse พบการดื้อยาเฉพาะรูปแบบ RR4 และ RR5 เท่ากันรูปแบบละ 2 ตัวอย่าง ในขณะที่กลุ่ม TALF พบการดื้อยาเพียงรูปแบบเดียว คือ RR4 จำนวน 2 ตัวอย่าง รูปแบบการดื้อยาที่พบจากมากไปน้อยในแต่ละจังหวัดเป็นดังนี้ จังหวัดพิจิตรพบรูปแบบ RR5 จำนวน 4 ตัวอย่าง รูปแบบ RR1, RR6 และ RR8 อย่างละ 1 ตัวอย่าง จังหวัดนครสวรรค์พบรูปแบบ RR4 จำนวน 3 อย่าง รูปแบบ RR3 จำนวน 2 ตัวอย่าง และรูปแบบ RR6 จำนวน 1 ตัวอย่าง จังหวัดกำแพงเพชรพบรูปแบบ RR4 จำนวน 2 ตัวอย่าง และรูปแบบ RR2 จำนวน 1 ตัวอย่าง จังหวัดอุทัยธานีพบรูปแบบ RR4 จำนวน 2 ตัวอย่าง และรูปแบบ RR5 จำนวน 1 ตัวอย่าง จังหวัดชัยนาทพบรูปแบบ RR5 จำนวน 2 ตัวอย่าง และรูปแบบ RR7 จำนวน 1 ตัวอย่าง รายละเอียดดังตารางที่ 3

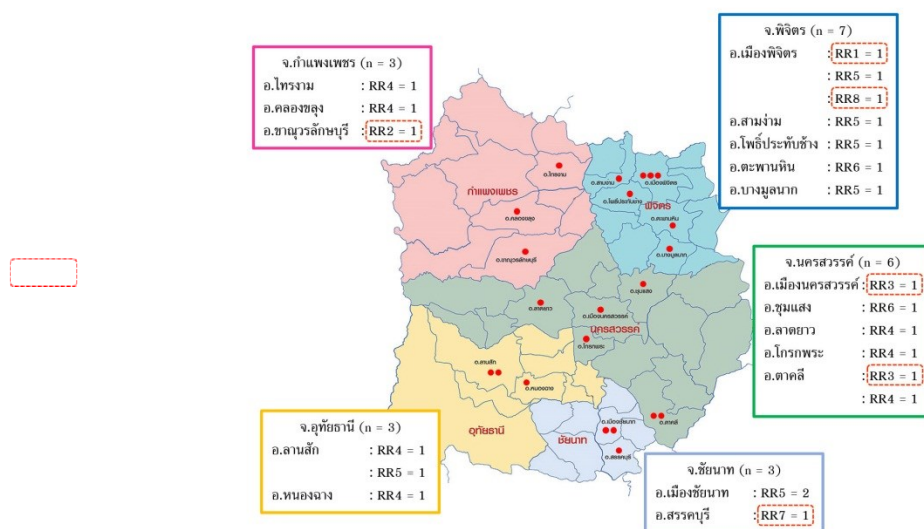
การกระจายตัวของเชื้อ RR-TB ในระดับอำเภอของแต่ละจังหวัด พบว่าจังหวัดพิจิตรมีการกระจายตัวของเชื้ออยู่ใน 5 อำเภอ พบมากที่สุดที่อำเภอเมืองพิจิตร จำนวน 3 ตัวอย่าง รูปแบบการดื้อยาของจังหวัดพิจิตรที่ไม่เหมือนจังหวัดอื่น ได้แก่ RR1 และ RR8 พบที่อำเภอเมืองพิจิตร จังหวัดนครสวรรค์พบเชื้อ RR-TB กระจายตัวใน 5 อำเภอ พบมากที่สุดที่อำเภอตาคลี จำนวน 2 ตัวอย่าง รูปแบบการดื้อยาของจังหวัดนครสวรรค์ที่ไม่เหมือนจังหวัดอื่น ได้แก่ RR3 พบที่อำเภอเมืองนครสวรรค์ และอำเภอตาคลี จังหวัดกำแพงเพชรพบเชื้อ RR-TB จำนวน 3 อำเภอ มีรูปแบบการดื้อยาที่ไม่เหมือนจังหวัดอื่น ได้แก่ RR2 พบที่อำเภอขาณุวรลักษบุรี จังหวัดอุทัยธานีพบเชื้อ RR-TB จำนวน 2 อำเภอ พบ

มากที่สุดที่อำเภอลานสัก จำนวน 2 ตัวอย่าง และจังหวัดชัยนาทพบเชื้อ RR-TB จำนวน 3 ตัวอย่าง พบมากที่สุดที่อำเภอเมืองชัยนาท มีรูปแบบการดื้อยาไม่เหมือนจังหวัดอื่น ได้แก่ RR7 พบที่อำเภอสรรคบุรี รายละเอียดดังรูปที่ 3

ตารางที่ 3 รูปแบบการดื้อยา Rifampicin และลักษณะทั่วไปของตัวอย่าง (N = 22)

ลักษณะทั่วไปของตัวอย่าง	รูปแบบการดื้อยา Rifampicin								รวม
	RR1	RR2	RR3	RR4	RR5	RR6	RR7	RR8	
รวม	1	1	2	7	7	2	1	1	22
เพศ									
ชาย	1	1	1	5	5	1	0	1	15
หญิง	0	0	1	2	2	1	1	0	7
อายุ									
≤ 50	1	1	0	4	3	1	0	1	11
> 50	0	0	2	3	4	1	1	0	11
ประเภทการขึ้นทะเบียน									
New	1	1	2	3	5	2	1	1	16
Relapse	0	0	0	2	2	0	0	0	4
TALF	0	0	0	2	0	0	0	0	2
จังหวัด									
นครสวรรค์	0	0	2	3	0	1	0	0	6
กำแพงเพชร	0	1	0	2	0	0	0	0	3
พิจิตร	1	0	0	0	4	1	0	1	7
อุทัยธานี	0	0	0	2	1	0	0	0	3
ชัยนาท	0	0	0	0	2	0	1	0	3

รูปที่ 3 รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ที่กระจายตัวอยู่ในเขตสุขภาพที่ 3




 แทนจำนวนตัวอย่าง RR-TB ในแต่ละอำเภอ

 รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ของเชื้อ RR-TB ที่พบเฉพาะพื้นที่ภายในจังหวัด

ตัวอย่าง RR-TB จำนวน 19 ตัวอย่าง จาก 22 ตัวอย่าง ได้มีการทดสอบความไวต่อยาเพิ่มเติมเพื่อพิสูจน์ยืนยันเชื้อ MDR-TB โดยทดสอบความไวต่อยา Isoniazid และ Rifampicin ด้วยวิธี LPA หรือ Real-time PCR หรือ MGIT 960 พบว่าเป็นเชื้อ MDR-TB จำนวน 12 ตัวอย่าง (ร้อยละ 63.2) และไม่ใช่เชื้อ MDR-TB (Non-MDR-TB) ซึ่งดื้อยา Rifampicin แต่ไวต่อยา Isoniazid จำนวน 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 36.8) โดยรูปแบบการดื้อยา Rifampicin ส่วนใหญ่ของตัวอย่าง MDR-TB คือ RR4 จำนวน 5 ตัวอย่าง รองลงมาเป็น RR5 จำนวน 3 ตัวอย่าง รูปแบบการดื้อยาที่พบเฉพาะกลุ่มตัวอย่าง MDR-TB ได้แก่ RR3 และ RR7 สำหรับตัวอย่าง Non-MDR-TB รูปแบบการดื้อยาส่วนใหญ่ ได้แก่ RR5 จำนวน 3 ตัวอย่าง รองลงมาเป็น RR4 จำนวน 2 ตัวอย่าง รูปแบบการดื้อยาที่พบเฉพาะกลุ่มตัวอย่าง Non-MDR-TB ได้แก่ RR2 รายละเอียดดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 รูปแบบการดื้อยา Rifampicin และผลการตรวจยืนยัน MDR-TB (N = 19)

ผลการตรวจยืนยัน	รูปแบบการดื้อยา Rifampicin								รวม
	RR1 ^a	RR2	RR3	RR4	RR5 ^a	RR6	RR7	RR8 ^a	
MDR-TB	0	0	2	5	3	1	1	0	12
Non-MDR-TB	0	1	0	2	3	1	0	0	7
รวม	0	1	2	7	6	2	1	0	19

^a รูปแบบ RR1, RR5 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ RR8 รวม 3 ตัวอย่าง ไม่มีการส่งตรวจยืนยัน MDR-TB

วิจารณ์และสรุปผล

จากงานวิจัยนี้ผู้ป่วย RR-TB ส่วนใหญ่เป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิงในอัตราส่วน 2.1:1 จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเพศชายมีปัจจัยเสี่ยงหลายด้านต่อการป่วยเป็นวัณโรคมากกว่าเพศหญิง ดังเช่น การเคยเป็นผู้ต้องขังในเรือนจำ การติดเครื่องตีแมลงกอลหรือยาเสพติด ตลอดจนการมีโรคร่วม เช่น โรคปอดฝุ่นหิน (Silicosis) และมะเร็งปอด เป็นต้น⁽¹⁶⁾ การคัดกรองวัณโรคในเพศชายจึงมีความสำคัญ โดยเฉพาะกลุ่มที่มีปัจจัยเสี่ยงควรทำให้เข้าถึงการวินิจฉัยและรักษาวัณโรค⁽¹⁷⁾ จากค่า IQR พบว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วย RR-TB อยู่ในช่วงอายุ 41.75 – 58.25 ซึ่งเป็นช่วงอายุของวัยทำงาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhu และคณะ⁽¹⁸⁾ พบว่าอุบัติการณ์ของผู้ป่วยวัณโรคเพิ่มมากขึ้นในอายุตั้งแต่ 45 ปีขึ้นไป โดยงานวิจัยของ Adejumo และคณะ⁽¹⁹⁾ พบผู้ป่วย RR-TB ในกลุ่มอายุตั้งแต่ 45 ปี มีจำนวนมากกว่ากลุ่มที่อายุน้อยกว่า 45 ปี ประมาณสองเท่า ในงานวิจัยนี้พบผู้ป่วย RR-TB ที่เป็นกลุ่ม New สูงถึงร้อยละ 72.7 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มเสี่ยงสูงต่อการดื้อยา ได้แก่ กลุ่ม Relapse และ TALF การดื้อยา Rifampicin ของกลุ่ม New ถือเป็นการดื้อยาวัณโรคตั้งแต่เริ่มแรก (Primary drug resistance) ทั้งนี้อัตราการดื้อยาของเชื้อ MTBC ต่อยา Rifampicin ชนิดเดียวมีโอกาสพบได้ประมาณ 1 เซลล์ ใน 10^8 เซลล์ ซึ่งมีอัตราน้อยกว่าการดื้อยา Isoniazid ที่พบประมาณ 1 เซลล์ ใน 10^6 เซลล์ และโอกาสการเกิดเชื้อดื้อต่อยาทั้งสองชนิดเป็น MDR-TB อยู่ที่ประมาณ 1 เซลล์ ใน 10^{14} เซลล์ จึงมีโอกาสเกิดขึ้นได้ต่ำมากจนไม่น่าจะเกิดได้เองในธรรมชาติ⁽²⁰⁾ ดังนั้นการเกิดวัณโรคดื้อยาโดยปกติจะเกิดขึ้นได้เมื่อเชื้อสัมผัสยารักษาวัณโรค ซึ่งหมายถึงเกิดขึ้น

ระหว่างการใช้ยารักษาผู้ป่วยวัณโรคนั้นเอง ดังเช่น กลุ่ม Relapse และ TALF สำหรับกลุ่ม New เป็นผู้ป่วยใหม่ซึ่งยังไม่เคยรักษาด้วยยารักษาวัณโรคมามาก่อน การพบเชื้อ RR-TB ย่อมต้องเกิดจากการได้รับเชื้อ RR-TB จากผู้ป่วย RR-TB รายอื่นที่แพร่เชื้อให้ ปริมาณเชื้อ RR-TB ที่พบในตัวอย่างส่วนใหญ่มากกว่าครึ่งเป็นระดับ High โดยทั่วไปเชื้อที่พบในระดับ High และ Medium จะให้ผลบวกจากการตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ และมีโอกาสในการแพร่เชื้อได้สูง⁽²¹⁾

รูปแบบการดื้อยา Rifampicin ที่พบส่วนใหญ่เป็นรูปแบบ RR4 และ RR5 ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง Probe 3 ช่วง Codon 441 – 450 และ Probe 4 ช่วง Codon 446 – 455 สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง RRDR ของยีน *rpoB* ส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ Codon 450 และ 445 ตามลำดับ^(4,22) การกลายพันธุ์ที่ Codon 445 เป็นตำแหน่งการพันธุ์ที่อยู่ในช่วงการตรวจจับของ Probe 3 ทำให้ค่า MPT ของ Wild type ได้แก่ *rpoB3* melt หายไป และเกิดค่า MPT ของ Mutant ขึ้นมา ได้แก่ *rpoB3* Mut melt สำหรับการกลายพันธุ์ Codon 450 เป็นตำแหน่งซ้อนเหลื่อมของ Probe 3 และ 4 ทำให้ค่า MPT ของ Wild type สองค่าหายไป ได้แก่ *rpoB3* melt และ *rpoB4* และเกิดค่า MPT ของ Mutant จำนวนสองค่า ได้แก่ *rpoB3* Mut melt และ *rpoB4* Mut melt A งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการกลายพันธุ์ที่ Codon 450 เป็นตำแหน่งเดียวที่ให้ค่า MPT ของ Mutant ของ Probe 4 ได้แก่ *rpoB4* Mut melt A สูงกว่าค่า MPT ของ Wild type ได้แก่ *rpoB4* melt⁽²³⁾ ในการวิจัยนี้พบลักษณะเข้าได้กับการดื้อยา Rifampicin แบบ Heteroresistance ซึ่งเป็นการติดเชื้อ MTBC อย่างน้อยสองสายพันธุ์ขึ้นไป (Mixed infection)⁽²⁴⁾ ได้แก่ ตัวอย่างที่มีรูปแบบ RR1, RR2 และ RR6 โดยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra สามารถตรวจพบการดื้อยา Rifampicin แบบ Heteroresistance ได้จากตัวอย่างที่ให้ค่า MPT ทั้งของ Wild type และ Mutant ในตำแหน่ง Probe เดียวกัน การดื้อยาแบบ Heteroresistance อาจเกิดได้จากสาเหตุสองประการ ได้แก่ ประการแรกเกิดจากการติดเชื้อ MTBC สองสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน และประการที่สองคือเกิดจากเชื้อ MTBC สายพันธุ์เดียวกันที่ประชากรของเชื้อส่วนหนึ่งยังคงไวต่อยาและส่วนหนึ่งกลายพันธุ์เป็นเชื้อดื้อยา⁽²⁵⁾ อย่างไรก็ตามวิธี Xpert MTB/RIF Ultra จะสามารถตรวจพบการดื้อยา Rifampicin แบบ Heteroresistance ได้ต้องมีเชื้อดื้อยาอย่างน้อยร้อยละ 20 – 70 ของประชากรเชื้อ MTBC ทั้งหมดในตัวอย่าง⁽²⁶⁾

สำหรับลักษณะทั่วไปของตัวอย่างกับรูปแบบการดื้อยา Rifampicin นั้น ในด้านของเพศ อายุ และประเภทการขึ้นทะเบียนผู้ป่วยวัณโรค พบรูปแบบการดื้อยาส่วนใหญ่เป็นรูปแบบ RR4 และ RR5 เหมือนดังที่กล่าวมาข้างต้น ในส่วนของประเภทการขึ้นทะเบียน เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวอย่างกลุ่ม Relapse พบการดื้อยา Rifampicin เฉพาะรูปแบบ RR4 และ RR5 ส่วนตัวอย่างกลุ่ม TALF พบเฉพาะรูปแบบ RR4 เพียงอย่างเดียว การกระจายของเชื้อ RR-TB ในพื้นที่ 5 จังหวัด ของเขตสุขภาพที่ 3 พบว่า ส่วนใหญ่เป็นรูปแบบ RR4 และ RR5 เช่นเดียวกัน โดยจังหวัดอุทัยธานีพบทั้งสองรูปแบบ แต่จังหวัดนครสวรรค์และกำแพงเพชรพบเฉพาะรูปแบบ RR4 ส่วนจังหวัดพิจิตรและชัยนาทพบเฉพาะรูปแบบ RR5 นอกจากนี้ยังพบรูปแบบการดื้อยา Rifampicin ที่มีลักษณะเฉพาะในพื้นที่ ได้แก่ รูปแบบ RR1, RR2, RR3, RR7 และ RR8 ซึ่งจะมีประโยชน์ในการสอบสวนโรค หากมีผู้ป่วย RR-TB ที่มีรูปแบบการดื้อยา

Rifampicin เหล่านี้เกิดขึ้นในพื้นที่ที่สามารถประเมินความเชื่อมโยงและการสัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วย RR-TB เดิมที่อาจเป็นผู้แพร่เชื้อ (Index case) ได้ นอกจากนี้ยังอาจใช้ในการช่วยประเมินการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยจากเชื้อ RR-TB สายพันธุ์เดิมได้เช่นกัน⁽²³⁾ ตัวอย่าง RR-TB จากงานวิจัยครั้งนี้ส่วนใหญ่เมื่อทำการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติมพบว่าส่วนใหญ่เกินกว่าครึ่งเป็น MDR-TB อย่างไรก็ตามรูปแบบการดื้อยา Rifampicin ทั้งตัวอย่างที่เป็น MDR-TB และ Non-MDR-TB ส่วนใหญ่ยังคงมีรูปแบบที่เหมือนกัน คือ เป็นรูปแบบ RR4 และ RR5 สำหรับรูปแบบการดื้อยาที่พบเฉพาะ MDR-TB ได้แก่ รูปแบบ RR3 และ RR7 หากตรวจพบรูปแบบทั้งสองนี้จากตัวอย่างควรตระหนักและส่งตรวจยืนยันเชื้อ MDR-TB โดยจากการวิจัยมีข้อเสนอแนะว่า แม้จะมีแนวทางการสอบสวนโรคของวัณโรค RR-TB ตามแนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ. 2564⁽²⁷⁾ อย่างไรก็ตามควรจะมีนโยบายเพื่อสนับสนุนการดำเนินงานสอบสวนวัณโรคอย่างจริงจังและต่อเนื่อง เพื่อป้องกันควบคุมวัณโรคดื้อยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งการดื้อยาแบบ Primary drug resistance เพื่อไม่ให้เกิดผู้ป่วยวัณโรคดื้อยามากขึ้นจนยากเกินกว่าจะแก้ไขได้ในอนาคต และด้วยเหตุว่าวัณโรคอาจมีระยะฟักตัวได้นานหลายปี^(28,29) การใช้ค่า MPt จากการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra จะช่วยในการสอบสวนวัณโรค RR-TB เพื่อประเมินในเบื้องต้นถึงความเชื่อมโยงทางระบาดวิทยาของการแพร่เชื้อ RR-TB ในพื้นที่ ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากเพราะทุกจังหวัดในประเทศไทยสามารถตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ได้ แต่อย่างไรก็ตามควรพัฒนาการตรวจทางอณูชีววิทยาที่สามารถระบุรายละเอียดของการกลายพันธุ์และระบุสายพันธุ์ของเชื้อ MTBC ได้ ดังเช่น การตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมด้วยวิธี Next-generation sequencing (NGS) หรือวิธีอื่น ๆ ให้มีการตรวจอย่างแพร่หลายมากกว่าในปัจจุบัน จะเป็นประโยชน์อย่างสูงต่อการสอบสวนวัณโรคและวัณโรคดื้อยา เพื่อการเฝ้าระวัง ป้องกัน ควบคุมวัณโรคและวัณโรคดื้อยาของประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวัณโรค กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ และทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ซึ่งกรุณาช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2021. Geneva, Switzerland: WHO; 2021.
2. World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. Geneva, Switzerland: WHO; 2018.
3. World Health Organization. Tuberculosis profile: Thailand 2020. [Internet]. [cited 2022 Apr 27]. Available from: <https://shorturl.asia/N4FxG>.
4. Zaw MT, Emran NA, Lin Z. Mutations inside rifampicin-resistance determining region of *rpoB* gene associated with rifampicin-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Public Health 2018; 11(5): 605–10.

- 5.Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. *Tuber Lung Dis* 1998; 79(1): 3–29.
- 6.Andre E, Goeminne L, Cabibbe A, Beckert P, Mukadi BK, Mathys V, et al. Consensus numbering system for the rifampicin resistance-associated *rpoB* gene mutations in pathogenic mycobacteria. *Clin Microbiol Infect* 2017; 23(3): 167–72.
7. Chakravorty S, Simmons AM, Rownecki M, Parmar H, Cao Y, Ryan J, et al. The new Xpert MTB/RIF Ultra: improving detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in an assay suitable for point-of-care testing. *mBio* 2017; 8(4): e00812–17.
- 8.Hameed S, Moganeradj K, Mahmood N, McHugh TD, Chaudhry MN, Arnold C. Sequence analysis of the rifampicin resistance determining region (RRDR) of *rpoB* gene in multidrug resistance confirmed and newly diagnosed tuberculosis patients of Punjab, Pakistan. *PLoS One* 2017; 12(8): e0183363.
9. World Health Organization. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of isoniazid and the rifamycins (rifampicin, rifabutin and rifapentine). Geneva, Switzerland: WHO; 2021.
- 10.National Center for Biotechnology Information. *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv complete genome. [Internet]. [cited 2022 Jul 27]. Available from: <https://shorturl.asia/FK9vi>
- 11.Cepheid. Xpert® MTB/RIF Ultra package insert. USA: Cepheid; 2021.
- 12.Hain Lifescience GmbH. GenoType MTBDRplus VER 2.0 package insert. Germany: Hain Lifescience; 2015.
- 13.Seegene. Anyplex™ II MTB/MDR Detection package insert. Republic of Korea: Seegene; 2015.
- 14.Becton, Dickinson and Company. BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE Kits package insert. USA: BD; 2019.
- 15.Becton, Dickinson and Company. BD BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Kit package insert. USA: BD; 2019.
- 16.Marçôa R, Ribeiro AI, Zão I, Duarte R. Tuberculosis and gender – Factors influencing the risk of tuberculosis among men and women by age group. *Pulmonology* 2018; 24(3): 199–202.
- 17.Horton KC, MacPherson P, Houben RMGJ, White RG, Corbett EL. Sex differences in tuberculosis burden and notifications in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2016 Sep; 13(9): e1002119.
- 18.Zhu M, Han G, Takiff HE, Wang J, Ma J, Zhang M, et al. Times series analysis of age-specific tuberculosis at a rapid developing region in China, 2011–2016. *Sci Rep* 2018; 8: 8727.
- 19.Adejumo OA, Olusola-Faleye B, Adepoju V, Bowale A, Adesola S. et al. Prevalence of rifampicin resistant tuberculosis and associated factors among presumptive tuberculosis patients in a secondary referral hospital in Lagos Nigeria. *Afr Health Sci* 2018; 18(3): 472–8.

20. Nachega JB, Chaisson RE. Tuberculosis drug resistance: a global threat. Clin Infect Dis 2003; 36: 24–30.
21. Opota O, Mazza-Stalder J, Greub G, Jaton K. The rapid molecular test Xpert MTB/RIF ultra: towards improved tuberculosis diagnosis and rifampicin resistance detection. Clin Microbiol Infect 2019; 25(11): 1370–6.
22. Zeng MC, Jia QJ, Tang LM. *rpoB* gene mutations in rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from rural areas of Zhejiang, China. J Int Med Res 2021; 49(3): 300060521997596.
23. Ng KCS, van Deun A, Meehan CJ, Torrea G, Driesen M, et al. Xpert Ultra Can Unambiguously Identify Specific Rifampin Resistance-Conferring Mutations. J Clin Microbiol 2018; 56(9): e00686–18.
24. European TB Laboratory Initiative core group members. Algorithm for laboratory diagnosis and treatment-monitoring of pulmonary tuberculosis and drug-resistant tuberculosis using state-of-the-art rapid molecular diagnostic technologies. Copenhagen, Denmark: WHO Regional Office for Europe; 2017.
25. Hofmann-Thiel S, van Ingen J, Feldmann K, Turaev L, Uzakova GT, Murmusaeve G, et al. Mechanisms of heteroresistance to isoniazid and rifampin of *Mycobacterium tuberculosis* in Tashkent, Uzbekistan. Eur Respir J 2009; 33: 368–74.
26. Ng KCS, Supply P, Cobelens FGJ, Gaudin C, Gonzalez-Martin J, de Jong BC, et al. How Well Do Routine molecular diagnostics detect rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis*? J Clin Microbiol 2019; 57(11): e00717–19.
27. กองวินโรค กรมควบคุมโรค. แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ. 2564. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ดีไซน์; 2564.
28. Borgdorff MW, Sebek M, Gesskus RB, Kremer K, Kalisvaart N, van Soolingen D. The incubation period distribution of tuberculosis estimated with a molecular epidemiological approach. Int J Epidemiol 2011; 40: 964–70.
29. Behr MA, Edelstein PH, Ramakrishnan L. Revisiting the timetable of tuberculosis. BMJ 2018; 362: k2738.