

วัณโรคดื้อยาชนิดรุนแรง (Extensively-drug resistant tuberculosis): สายพันธุ์ใหม่และความท้าทายในอนาคต

Extensively-drug resistant tuberculosis: A new strain and future challenge

รติกร แกมเงิน¹ ชัญญานุช ภูทิมา¹ บดินทร์ บุตรอินทร์^{1*}
Ratikorn Gamngoen¹ Chanyanuch Putim¹ Bordin Burt-Indr^{1*}

¹แขนงจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

¹Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand.

*Corresponding author : (royter99@hotmail.com bordin.b@cmu.ac.th)

Received February 2015

Accepted as revised January 2015

Abstract

Extensively-Drug Resistant Tuberculosis (XDR-TB) is emerging as an even more ominous treat. XDR-TB is defined as TB that is resistant to any fluoroquinolone, and at least one of three injectable second-line drugs (capreomycin, kanamycin and amikacin), in addition to isoniazid and rifampicin. This makes XDR-TB treatment extremely complicated, if not impossible, in general treatment. In a 2006 XDR-TB outbreak in KwaZulu-Natal, South Africa, 52 of 53 people who contracted the disease died within months, It is estimated that 70% of XDR-TB patients die within a month of diagnosis. The most recent drug-resistance surveillance data issued by the WHO estimates that an average of roughly 5 percent of Multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) cases are XDR-TB. Estimating the incidence of XDR-TB is extremely difficult because most laboratories are ill-equipped to detect and diagnose. To avoid the emergence of more resistant strains that may lead to almost untreatable disease, we must focus our efforts on the right management of drug resistance tuberculosis.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2015; 48(1): 18-28. Doi: 10.14456/jams.2015.5

Keywords: Mycobacterium tuberculosis, multi-drug resistant tuberculosis, extensively-drug resistant tuberculosis, drug-susceptibility testing, anti-tuberculosis drug

Extensively-drug resistant tuberculosis หรือ XDR-TB เกิดขึ้น และเป็นภัยคุกคามอย่างร้ายแรงทางการแพทย์ XDR-TB เป็นการติดเชื้อวัณโรคที่ดื้อต่อยากลุ่ม fluoroquinolone และอย่างน้อยหนึ่งในสามของยาฉีดกลุ่ม second-line drug (capreomycin, kanamycin และ amikacin) รวมทั้งดื้อต่อยา isoniazid และ rifampicin ทำให้การรักษา XDR-TB มีความซับซ้อนมากซึ่งแทบจะเป็นไปไม่ได้เลยสำหรับการรักษาทั่วไป ในปี ค.ศ. 2006 มีการระบาดของหนักของเชื้อ XDR-TB ในเมือง KwaZulu-Natal ประเทศแอฟริกาใต้ พบผู้ป่วยติดเชื้อ 53 คน โดยพบว่าเสียชีวิต 52 คน ในระยะเวลาภายในหนึ่งเดือน มีการประมาณการณั้ว่าร้อยละ 70 ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ XDR-TB จะเสียชีวิตภายในระยะเวลาหนึ่งเดือน และจากการประมาณการขององค์การอนามัยโลก พบว่ามีผู้ป่วยร้อยละ 5 ในกลุ่ม multi-drug resistant tuberculosis หรือ MDR-TB เป็นผู้ป่วย XDR-TB การประมาณการณั้ของผู้ติดเชื้อ XDR-TB เป็นเรื่องที่ยากมากเพราะห้องปฏิบัติการส่วนมากขาดเครื่องมือในการตรวจหา และวิธีในการวินิจฉัย เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงอุปสรรคการระบาดของ XDR-TB เราควรให้ความสำคัญในการจัดการเกี่ยวกับเชื้อวัณโรคดื้อยา

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2558; 48(1): 18-28. Doi: 10.14456/jams.2015.5

Keywords: Mycobacterium tuberculosis, multi drug resistant tuberculosis, extensively drug resistant tuberculosis, drug-susceptibility testing, anti-tuberculosis drug

บทนำ

วัณโรค หรือ tuberculosis เป็นโรคติดเชื้อที่เป็นปัญหาสำคัญของโลก มีสาเหตุมาจากเชื้อ Mycobacterium tuberculosis โดยพบว่าประชากรหนึ่งในสามของโลกติดเชื้อ *M. tuberculosis* และส่วนใหญ่พบอยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนา^{1,2} จากรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ในปี 2014 พบผู้ป่วยติดเชื้อรายใหม่ 9.0 ล้านคนทั่วโลกหรือ 126 คนต่อประชากร 100,000 คน สองอันดับแรก พบที่อินเดีย (2.2 ล้านคน) และจีน (1 ล้านคน) ตามลำดับ ในไทยพบผู้ป่วยรายใหม่ประมาณ 80,000 คนต่อปี³ ปัญหาที่พบหลังจากติดเชื้อคือเชื้อดื้อยาที่ใช้ในการรักษาวัณโรค ส่งผลให้มีอัตราการเจ็บป่วย และอัตราการเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อ *M. tuberculosis* ดื้อยามากขึ้น การวินิจฉัยเกี่ยวกับเชื้อดื้อยา ใช้นาน ซึ่งการวินิจฉัยที่ถูกต้อง และรวดเร็วมีความสำคัญต่อการรักษา ดังนั้นจึงนำไปสู่การพัฒนาวิธีการวินิจฉัยใหม่ที่ใช้เวลาน้อยลง และครอบคลุมกับยาที่ใช้วินิจฉัยเชื้อดื้อยา มีการพัฒนายาชนิดใหม่เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ที่ใช้รักษาผู้ติดเชื้อ *M. tuberculosis* ดื้อยา

อุบัติการณ์การติดเชื้อวัณโรคดื้อยา

ปัญหาสำคัญของการติดเชื้อ *M. tuberculosis* คือ

การดื้อยาที่ใช้รักษาวัณโรค แบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือการติดเชื้อ *M. tuberculosis* ดื้อยาชนิดเดียว (mono-drug resistant tuberculosis) และการติดเชื้อ *M. tuberculosis* ดื้อยาหลายชนิด ได้แก่ multi-drug resistant tuberculosis หรือ MDR-TB และ extensively-drug resistant tuberculosis หรือ XDR-TB⁴ โดย MDR-TB เป็นการติดเชื้อดื้อยาในกลุ่มยารักษาวัณโรคอันดับแรก (first-line antituberculosis) อย่างน้อยสองชนิด ได้แก่ isoniazid (INH) และ rifampicin (RMP) สำหรับ XDR-TB คือการติดเชื้อ MDR-TB ที่ดื้อยาในกลุ่มยารักษาวัณโรคอันดับสอง (second-line antituberculosis) ด้วยได้แก่ ยากลุ่ม fluoroquinolone และยาในกลุ่มยาฉีดอย่างน้อยหนึ่งชนิด ได้แก่ amikacin, capreomycin และ kanamycin⁵ ในประเทศไทยพบว่าร้อยละ 2 เป็นผู้ป่วยรายใหม่ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น MDR-TB ร้อยละ 17 เป็นผู้ป่วยที่มีประวัติการรักษาวัณโรค และพัฒนาไปเป็น MDR-TB สำหรับอัตราการเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อ MDR-TB ประกอบด้วยผู้ป่วย MDR-TB รายใหม่ร้อยละ 19.3 และผู้ป่วยที่มีประวัติการรักษาวัณโรค และพัฒนาไปเป็น MDR-TB ร้อยละ 22 นอกจากนั้นพบผู้ป่วยที่เป็น XDR-TB ใน 92 ประเทศทั่วโลก (ดังแสดงในรูปที่ 1) โดยร้อยละ 9 เป็นผู้ป่วย MDR-TB และพัฒนาไปเป็น XDR-TB แต่ยังไม่มียาชนิดที่ชัดเจนเกี่ยวกับ XDR-TB ในประเทศไทย³

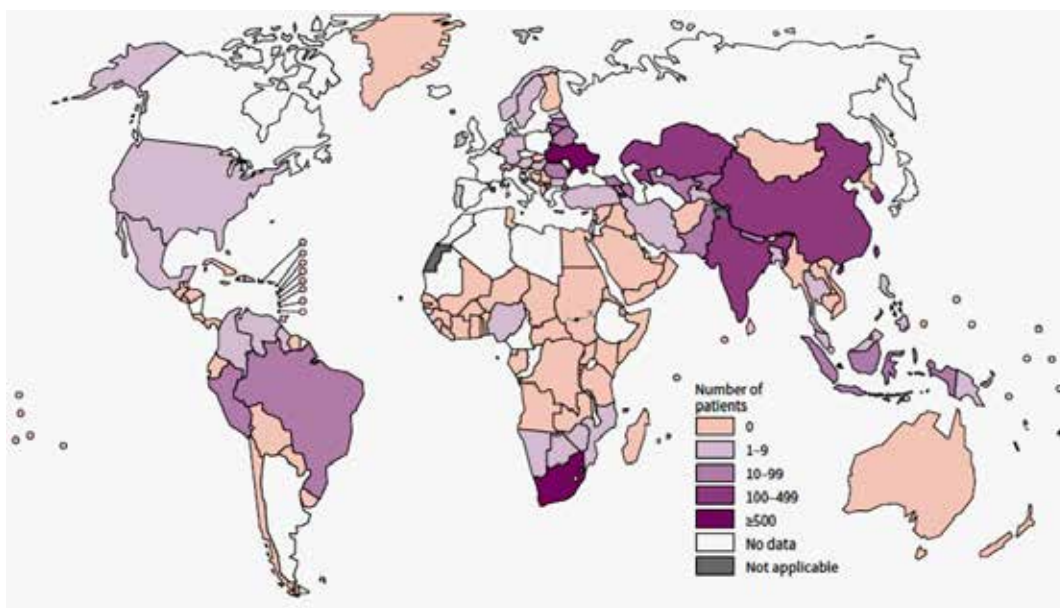


Figure 1. Number of patients with laboratory confirmed XDR-TB in 2013

สาเหตุของการดื้อยาของเชื้อ *M. tuberculosis*

สาเหตุที่ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อ อาจเนื่องมาจากการเลือกใช้ยาหรือวิธีการรักษาที่ไม่เหมาะสมของแพทย์ หรืออาจเกิดจากการรับประทานยาไม่ต่อเนื่องของผู้ป่วย จึงทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์เป็นเชื้อดื้อยา⁶ การดื้อยาของเชื้อสามารถแบ่งได้เป็นสามประเภท ได้แก่ primary resistance เป็นการดื้อยา โดยได้รับเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาจากบุคคลอื่นที่ติดเชื้อ amplified resistance เป็นการดื้อยาจากการได้รับการรักษาที่ผิดวิธี หรือการเลือกใช้ยาในการรักษาที่ไม่เหมาะสม และ acquired resistance เป็นการดื้อยาที่เกิดขึ้นระหว่างการรักษา โดยเชื้อเกิดการเปลี่ยนจากเชื้อที่ไวต่อยาเป็นเชื้อดื้อยา⁷ สาเหตุของการดื้อยาส่วนใหญ่เกิดจากการกลายพันธุ์ในบริเวณที่ยาออกฤทธิ์ โดยที่การกลายพันธุ์แบบ spontaneous mutation ภายในจีโนมของเชื้อ *M. tuberculosis* สามารถเกิดขึ้นได้ในหลายรูปแบบทั้ง point mutation, insertion, deletion และ full-gene deletion ทำให้เกิดการแปลรหัส mRNA ที่ผิดไป และเกิดเป็นเชื้อดื้อยาขึ้น⁸ ดังนั้นการพัฒนาไปเป็นเชื้อดื้อยาจึงทำให้การรักษาวัณโรคให้หายขาดเป็นไปได้ยาก และเกิดการแพร่กระจายมากขึ้น

เชื้อ *M. tuberculosis* สายพันธุ์ใหม่ (XDR-TB)

ในปี 1990 พบการระบาดของ MDR-TB สายพันธุ์ Beijing/W genotype ในประเทศสหรัฐอเมริกา^{9,10} ต่อมาในปี 1996 ในงานวิจัยของ Davies¹¹ และคณะศึกษาเชื้อ *M. tuberculosis* ในชนบทของประเทศแอฟริกาใต้ พบเชื้อ *M. tuberculosis* ดื้อต่อยาวัณโรคในกลุ่ม first-line drug ได้แก่ isoniazid

และ rifampicin และอีกห้าปีต่อมาพบว่าเชื้อสายพันธุ์นี้มีการดื้อต่อยาวัณโรคในกลุ่ม second-line drug อีกหลายชนิด¹² ภายหลังพบว่าเป็นเชื้อสายพันธุ์ KwaZulu-Natal (KZN) family โดยจัดว่าเป็นเชื้อสายพันธุ์ XDR-TB ในปี 2006¹³ Gandhi และคณะ¹¹ ศึกษาเชื้อสายพันธุ์ XDR-TB ที่วินิจฉัยได้จากผู้ป่วยที่ติดเชื้อวัณโรคจากโรงพยาบาลในเมือง KwaZulu-Natal ประเทศแอฟริกาใต้ ด้วยวิธี genotyping พบว่าจำนวน 39 isolates จากทั้งหมด 46 isolates เป็นสายพันธุ์ KZN family นอกจากนั้นงานวิจัยของ Motiwala และคณะ¹⁴ นำเชื้อ *M. tuberculosis* ที่มีจีโนมคล้ายกัน จำนวน 3 isolates จากเมือง Kwazulu-Natal จำนวน 3 isolates ได้แก่ MDR-TB, XDR-TB และเชื้อที่ไวต่อยามาทำ sequencing โดยใช้เทคนิค high-throughput DNA sequencing ในบริเวณ Rv3616c-Rv3617 intergenic region พบว่าเชื้อทั้งสามสายพันธุ์มี genetic background ที่แตกต่างกันไปจากเชื้อสายพันธุ์ F15/LAM4/KZN ซึ่งเป็นสายพันธุ์หลักที่ก่อโรคในประเทศแอฟริกาใต้ และเปรียบเทียบ single-nucleotide polymorphisms (SNPs) ระหว่างเชื้อที่ไวต่อยา และเชื้อ XDR-TB พบว่ามีความแตกต่างกัน 33 SNPs (single-nucleotide polymorphisms) ร่วมกับการเกิด insertion และ deletion ซึ่งผลของ SNPs ที่ได้เป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อ XDR-TB ได้แก่ A90V (DNA gyrase subunit A, *gyrA*), L25I (transmembrane transport protein, *mmpL13a*), Y207Y (arylsulfatase, *atsD* [aryl-sulfate sulphohydrolase]), D441G (DNA-directed RNA polymerase beta subunit, *rpoB*), L458P (DNA-directed RNA polymerase beta subunit, *rpoB*), I1112T (DNA-directed RNA polymerase beta subunit,

rpoB), A1401G (ribosomal RNA 16S, *rrs*), L275P (hypothetical protein), V188A (conserved integral membrane protein), A84A (30S ribosomal protein S11, *rpsK*), D64E (hypothetical protein) และ G418W (PPE family protein)

การทำงานของยา และกลไกในการดื้อยาของเชื้อ *M. tuberculosis*

การดื้อยาของเชื้อ ส่วนมากเกิดจากการ กลายพันธุ์ บริเวณที่ยาจะไปออกฤทธิ์ ซึ่งในปัจจุบันพบการกลายพันธุ์ ของยีน และทำให้เกิดการดื้อยาในกลุ่ม first-line และ second-line antituberculosis ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยการดื้อยาส่งผลทำให้ยาไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ ตัวอย่างการทำงาน และกลไกการดื้อยาที่ใช้รักษาการติดเชื้อ XDR-TB ได้แก่ isoniazid และ rifampicin ซึ่งเป็นยารักษา วัณโรคในกลุ่ม first-line drug และยาในกลุ่ม second-line drug ได้แก่ fluoroquinolone, kanamycin, amikacin และ capreomycin

Table 1. Drug resistance gene of *M. tuberculosis*

Anti-TB drug	Genes mutated in resistance
First-line drugs	
Isoniazid	<i>katG</i> , <i>inhA</i> , <i>ahpC</i> , <i>oxyR</i> , <i>kasA</i> , <i>furA</i> , <i>ndh</i>
Rifampicin	<i>rpoB</i>
Ethambutol	<i>embCAB</i>
Pyrazinamide	<i>pncA</i>
Streptomycin	<i>rrs</i> , <i>rpsL</i> , <i>gidB</i>
Second-line drugs	
Fluoroquinolones	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>
Injectables: Kanamycin and amikacin Capreomycin	<i>rrs</i> <i>rrs</i> , <i>tlyA</i>
Streptomycin	<i>Rrs</i> , <i>rpsL</i> , <i>gidB</i>
Cycloserine	<i>alrA</i> , <i>ddl</i>
Ethionamide	<i>inhA</i> , <i>etaA/ethA</i>
Para-aminosalicylic acid	Unknown

1. Isoniazid (INH)

ยารักษาวัณโรคในกลุ่ม first-line drug หรือ isonicotinic acid hydrazide (INH) เป็นยาที่มีความจำเพาะสูง ในการกำจัดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่ม *M. tuberculosis complex*⁸ โครงสร้างของยาประกอบด้วย pyridine ring และหมู่ hydrazine^{8,15} isoniazid เป็นยาที่ยัง ไม่สามารถทำงานได้ (prodrug) จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์ KatG ของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเป็นเอนไซม์เกี่ยวกับ catalase-peroxidase ในการเปลี่ยนโครงสร้างให้สามารถ ทำงานออกฤทธิ์ทำลายเชื้อได้ (active form)¹⁵ เมื่อยาเข้าสู่เซลล์

จะถูกตัดหมู่ไนโตรเจนด้วยเอนไซม์ KatG กลายเป็น isonicotinoyl radical มีความสามารถในการดึงหมู่ NAD⁺ มาสร้างพันธะ โคเวเลนต์ ทำให้ยาอยู่ในรูปของ INH-NAD adduct สามารถยับยั้งเอนไซม์ enoyl-acyl carrier protein reductase (InhA) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่เชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ใช้สังเคราะห์ mycolic acid ที่เป็นส่วนประกอบหลักของ ผนังเซลล์^{2,8,15} เชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* มีกลไกในการดื้อยา isoniazid โดยมีการกลายพันธุ์ทั้งในระดับยีน และกรดอะมิโน ที่สัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ของยา แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม catalase-peroxidase (KatG) กลุ่ม Enoyl-acyl carrier protein reductase (InhA) กลุ่ม Alkyl hydroperoxidase reductase (AhpC) และกลุ่ม NADH dehydrogenase (Ndh)^{2,16-18} โดยส่วนมากเกิดจากการกลายพันธุ์ที่บริเวณยีน *inhA* และ *katG* โดยที่ยีน *inhA* กำหนดการสร้างเอนไซม์ InhA เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ mycolic acid ซึ่งเป็นส่วน ประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อ ส่วนยีน *katG* กำหนดการ สร้างเอนไซม์ *katG* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของ isoniazid จาก pro-drug กลายเป็น active form เมื่อเกิดการกลายพันธุ์ที่ยีน *inhA* ส่งผลให้ *inhA* มีการแสดงออกที่สูงขึ้น และจัดว่าเป็น low-level isoniazid resistance ส่วนการกลายพันธุ์ที่บริเวณ *katG* เป็น moderate ถึง high-level isoniazid resistance^{2,8}

2. Rifampicin (RMP)

เป็นกลุ่มยารักษาวัณโรคอันดับแรกอีกหนึ่งชนิด ที่ทำให้เชื้อพัฒนาเป็น MDR-TB ยา rifampicin เป็นยาที่ กิ่งสังเคราะห์จากเชื้อ *Amiclatopsis rifamycinica* ที่อยู่ในกลุ่ม rifamycin ยา rifampicin มีผลต่อแบคทีเรียหลายชนิด¹⁹ การ ออกฤทธิ์ของยา rifampicin ออกฤทธิ์โดยจับที่ β -subunit ของ RNA polymerase ทำให้ยับยั้งการสังเคราะห์ RNA โดยยับยั้ง กระบวนการ elongation^{2,8} กลไกในการดื้อยา rifampicin ของเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* เกิดจากการกลายพันธุ์ภายในยีน *rpoB* ที่กำหนดการสร้าง β -subunit ของ RNA polymerase โดยการกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 81 bp central region ที่ กำหนดการสร้างกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 507-533 หรือ rifampicin resistant-determining region (RRDR) ซึ่งพบได้ถึงร้อยละ 96 จากเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ที่ดื้อยา rifampicin ทั้งหมด¹⁹ โดยตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์มากที่สุดคือ กรดอะมิโน ตำแหน่งที่ 531 เปลี่ยน serine เป็น leucine และตำแหน่งที่ 526 เปลี่ยน histidine เป็น tyrosine ซึ่งจัดว่าเป็น high-level rifampicin resistance นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ใน ตำแหน่งอื่น ได้แก่ กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 511, 516, 518, 522, 529 และ 533 จัดเป็น low-level rifampicin resistance^{2,16}

3. Fluoroquinolones (FQs)

Fluoroquinolones เป็น bactericidal antibiotic ที่ใช้รักษาวัณโรค จัดอยู่ในกลุ่ม second-line drug² ยาในกลุ่มนี้ประกอบด้วย moxifloxacin, levofloxacin, ofloxacin และ gatifloxacin²⁰ โดยยาจับบริเวณเอนไซม์ topoisomerase IV และ topoisomerase II หรือ DNA gyrase บน DNA ซึ่งขัดขวางการเคลื่อนที่ของ replication fork ที่เกี่ยวกับกระบวนการ DNA replication²¹ เชื้อ *M. tuberculosis* มีเฉพาะ topoisomerase II (DNA gyrase)²² ซึ่งเป็น tetramer ของ subunit A และ B ที่ถูกถอดรหัสจากยีน *gyrA* และ *gyrB* เกี่ยวข้องกับกระบวนการ catalyse supercoiling ของ DNA ในขั้นตอน replication^{23,24} กลไกในการดื้อต่อยา fluoroquinolone ของเชื้อเกิดจากการกลายพันธุ์บริเวณ conserved quinolone resistance determining region (QRDR) ของยีน *gyrA* และ *gyrB* ซึ่งส่งผลรบกวนการ interaction ระหว่างยา และ DNA gyrase²⁵ โดยส่วนมากพบการกลายพันธุ์บริเวณ Ala-90 และ Asp-94 ในยีน *gyrA*²⁶

4. Injectable second-line drugs

ยาในกลุ่มยาฉีด ได้แก่ kanamycin, amikacin และ capreomycin ใช้เป็นยารักษา MDR-TB จัดอยู่ในกลุ่ม second-line drug ยา kanamycin และ amikacin เป็น aminoglycoside antibiotic ในขณะที่ capreomycin เป็น cyclic peptide antibiotic² แต่ออกฤทธิ์เหมือนกัน โดยยารบกวนกระบวนการ translation ของเชื้อ *M. tuberculosis* เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ribosome ที่ตำแหน่ง 16S rRNA²⁷ ส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อ^{2,8} กลไกการดื้อต่อยา kanamycin และ amikacin ที่พบบ่อยคือเกิดการกลายพันธุ์ที่ A1401G ของยีน *rrs* ที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัส 16S rRNA ซึ่งเป็น high-level resistance ต่อยา kanamycin และ amikacin²⁸ กลไกในการดื้อต่อยา capreomycin คือเกิดการกลายพันธุ์บริเวณยีน *tlyA* โดยยีนนี้มีหน้าที่ในการถอดรหัส rRNA methyltransferase ที่จำเพาะกับ 2'-O-methylation ของ ribosome ใน rRNA ซึ่งเมื่อเกิดการกลายพันธุ์จะส่งผลให้ไม่เกิดกระบวนการ methylation²⁹

การวินิจฉัย

ขั้นตอนในการวินิจฉัย XDR-TB เริ่มจากเมื่อได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อ MDR-TB ซึ่งเชื้อ *M. tuberculosis* ดื้อต่อยา isoniazid และ rifampicin จากนั้นทำการทดสอบความไวต่อยา (drug susceptibility test หรือ DST) ในกลุ่ม second-line drug ได้แก่ ยาในกลุ่ม fluoroquinolone และกลุ่มยาฉีดสามชนิด ได้แก่ kanamycin, amikacin และ capreomycin โดยในปี 2008 องค์การอนามัยโลกได้แนะนำวิธี automated

liquid-culture system เป็นวิธีมาตรฐานในการทำ second-line drug susceptibility test โดยใช้ยา fluoroquinolones และยารักษาวัณโรคในกลุ่มยาฉีด ซึ่งให้ผลภายใน 4-9 สัปดาห์³⁰ แต่วิธีนี้มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน มีราคาแพง ต้องการเครื่องมือที่มีความจำเพาะ และต้องการ biosafety ระดับสาม³¹ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีทาง molecular เป็นวิธีทาง genotypic method เกี่ยวกับการเพิ่มปริมาณ nucleic acid ของเชื้อ (PCR-based method) ได้แก่วิธี Line-probe hybridization assay (Genotype® MTBDRsl) ซึ่งศึกษาหีนหรือ marker ที่พบในเชื้อที่ดื้อต่อยา fluoroquinolones, kanamycin, amikacin, capreomycin และ etambutol⁴ เป็นวิธีที่มีความถูกต้อง และความไวสูงในการวินิจฉัย แต่มีราคาแพง³² มีการพัฒนาวิธีที่มีค่าใช้จ่ายน้อย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ได้แก่ วิธี microscopic-observation drug susceptibility (MODS) assay ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (liquid culture) โดยดูการสร้าง cord ของเชื้อ *M. tuberculosis* ผ่านทางกล้องจุลทรรศน์ ใช้เวลาประมาณ 6-8 วัน^{6,7} จะเห็นได้ว่าการวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็ว มีความสำคัญ และจำเป็นต่อการรักษาการติดเชื้อ XDR-TB³³ และป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไปยังบุคคลอื่น

การรักษา

ในปัจจุบันยาที่ใช้รักษาวัณโรคแบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ first-line antituberculosis และ second-line antituberculosis (ดังแสดงในตารางที่ 2) การรักษาวัณโรคสามารถแบ่งได้เป็นสองแบบ ได้แก่ standardized regimen คือการให้ยาที่ใช้ในการรักษาผู้ติดเชื้อ ขึ้นอยู่กับข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อดื้อยาในพื้นที่อยู่อาศัยนั้นๆ และ individualized regimen คือการให้ยาโดยขึ้นกับประวัติการรักษาวัณโรคของผู้ป่วย และผลจากการทำการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อ ซึ่งวิธีนี้เหมาะสมในการรักษา XDR-TB^{34,35}

เมื่อได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น XDR-TB องค์การอนามัยโลกได้แนะนำแนวทางในการรักษาเชื้อ *M. tuberculosis* ที่ดื้อยา โดยให้ใช้ยาในการรักษาตามลำดับ²⁰ ดังนี้

1. Amikacin, capreomycin หรือ kanamycin
2. Moxifloxacin หรือ levofloxacin
3. Prothionamide หรือ ethionamide
4. Cycloserine หรือ terizidone
5. Para-aminosalicylic acid
6. Pyrazinamide และ etambutol
7. Linezolid ร่วมกับยาในกลุ่ม 5 anti-tuberculosis drugs ได้แก่ clofazimine, amoxicillin/clavulanate, imipenem/cilastin และ clarithromycin³⁷

ระยะเวลาในการรักษา XDR-TB ใช้เวลาอย่างน้อย 20 เดือน และควรรับคำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญ (TB expert) ในการเลือกยาในการรักษา^{20,37}

Table 2. Antibiotic drug regimen of *M. tuberculosis*³⁶

Group	Anti-tuberculosis agent
First-line oral agent	Isoniazid Rifampicin Ethambutol Pyrazinamide Streptomycin
Second-line parenteral agent (Injectable anti-tuberculosis drugs)	Kanamycin Amikacin Capreomycin
Fluoroquinolones	Levofloxacin Moxifloxacin Gatifloxacin Ofloxacin
Oral bacteriostatic second-line Anti-tuberculosis drugs	Ethionamide Prothionamide Cycloserine Terizidone Para-aminosalicylic acid
Group 5 anti-tuberculosis drugs	Clofazimine Linezolid Amoxicillin/Clavulanate Imipenem/Cilastatin Clarithromycin

ยาชนิดใหม่ที่ใช้รักษาวัณโรคดื้อยา

1. Nitroimidazole

ยาในกลุ่ม nitroimidazole แบ่งเป็นสองชนิด ได้แก่ PA-824 และ delamanid หรือ OPC-67683^{38,39} โดย PA-824 เป็น nitroimidazo-oxazine ออกฤทธิ์ทำลายเชื้อ bacilli ที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในสภาวะไม่มีออกซิเจน (anaerobic non-replicating bacilli)⁴⁰ โดยยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์และโปรตีนของเชื้อ³⁸ delamanid เป็น nitroimidazole-oxazole กลไกการออกฤทธิ์คือยับยั้งการสร้าง methoxy-mycolic acid และ keto-mycolic acid⁴¹ ปัจจุบัน delamanid ยังอยู่ใน clinical trial phase ที่ III⁴² ยาทั้งสองชนิดมีโครงสร้างทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 2

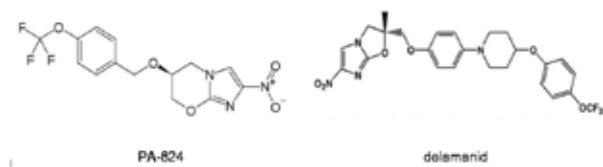


Figure 2. Chemical structure of PA-824 and delamanid (OPC-67683)

2. SQ109

เป็น 1,2-diamine analogue ของยา ethambutol การออกฤทธิ์ของยายังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่าเกี่ยวข้องกับ การสังเคราะห์ผนังเซลล์ของเชื้อ โดยใช้กลไกที่แตกต่างจาก ยา ethambutol² ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 3

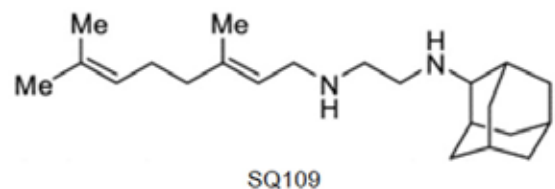


Figure 3. Chemical structure of SQ109

3. TMC207

TMC207 หรือ bedaquiline เป็นส่วนประกอบของ diarylquinoline⁴³ ออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้าง ATP ของเชื้อ mycobacteria^{43,44} การศึกษาโดยใช้ TMC207 ร่วมกับ ยามาตรฐานที่ใช้รักษา MDR-TB พบว่าทำให้รักษาได้เร็วขึ้น⁴⁵ ปัจจุบัน TMC207 ยังอยู่ใน clinical trial phase ที่ IIb⁴² และได้มีการรับรองโดยองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration) ให้ยา bedaquiline ใช้ในการรักษาวัณโรคดื้อยา MDR-TB³⁶ โครงสร้างทางเคมีของยา ดังแสดงในรูปที่ 4

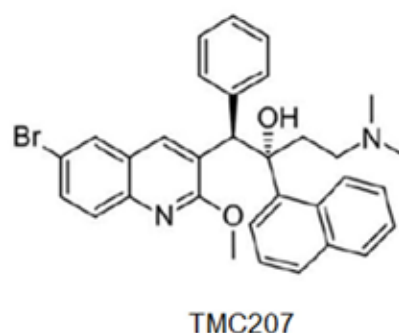


Figure 4. Chemical structure of TMC207

4. NAS-21 และ NAS-91

เป็นยาที่ใช้รักษาโรคมาลาเรีย แต่ยังสามารถรักษาวัณโรคได้ กลไกการออกฤทธิ์ของยา คือยับยั้งการสังเคราะห์ mycolic acid ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อ⁴⁶ ตำแหน่งในการออกฤทธิ์ คือ FAS-II dehydratase ซึ่งถูกถอดรหัสมาจากโปรตีน Rv063647 ยาทั้งสองชนิดมีโครงสร้างทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 5

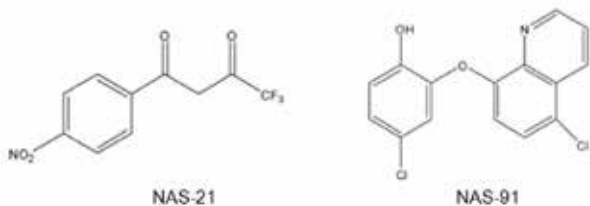


Figure 5. Chemical structure of NAS-21 and NAS-91

5. Phenothiazines

ยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ thioridazine และ chlorpromazine เป็น calmodulin antagonist⁴⁸ ออกฤทธิ์ทำลายเชื้อ mycobacteria ที่อาศัยอยู่ใน macrophage⁴⁹ โดยยับยั้งกระบวนการขนส่งแคลเซียม และยับยั้งเอนไซม์ที่ต้องอาศัยแคลเซียม นอกจากนี้พบว่ายากลุ่ม phenothiazines อาจเกี่ยวข้องกับ efflux pump inhibitor⁵⁰ ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของยา thioridazine ดังแสดงในรูปที่ 6

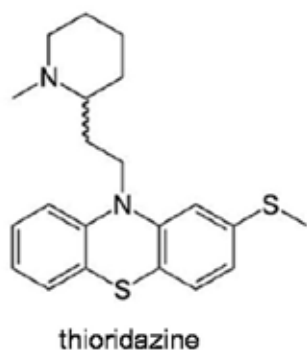


Figure 6. Chemical structure of thioridazine

6. Benzothiazinones

ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของเชื้อ โดยพบว่าตำแหน่งที่ยาออกฤทธิ์อยู่ที่ DprE1 subunit ของเอนไซม์ decaprenylphosphoryl-β-o-ribose 2'-epimerase ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์ผนังเซลล์² มีโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 7

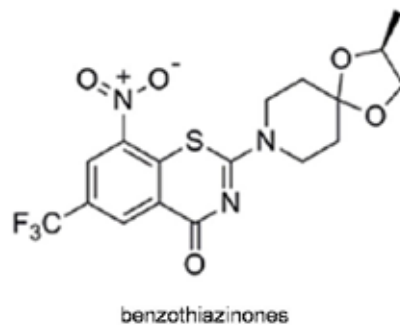


Figure 7. Chemical structure of benzothiazinones

นอกจากนี้ยังมียาชนิดใหม่ที่มีการค้นพบ มีกลไกในการทำลายเชื้อที่แตกต่างจากยารักษาวัณโรคเดิมที่สามารถนำมาใช้ในการรักษาผู้ติดเชื้อวัณโรคได้ ได้แก่ ยา bedaquiline หรือ delamanid ซึ่งมีการเพิ่มในสูตรยาที่ใช้รักษา MDR-TB โดยพบว่าสามารถเพิ่มระยะเวลาของ sputum-culture conversion ในสัปดาห์ที่ 8 ของการรักษา^{45, 51} ปัจจุบันยังอยู่ในขั้นตอนของ clinical trial และจะมีแนวโน้มนำมาใช้ในการรักษาวัณโรคได้จริง

การป้องกัน

การลดอุบัติการณ์ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ XDR-TB เป็นเป้าหมายของการป้องกันการติดเชื้อ XDR-TB แพทย์ควรให้คำแนะนำในการรับประทานยาแก่ผู้ป่วย โดยให้กินยาอย่างสม่ำเสมอ และให้ผู้ป่วยเข้ารับการรักษอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้หายขาดจากโรค ลดการแพร่กระจายเชื้อไปยังบุคคลอื่น นอกจากนั้นควรใช้ยาที่มีประสิทธิภาพ โดยใช้สูตรยาตามท้องที่การอนามัยโลกได้แนะนำให้ใช้ในการรักษา XDR-TB และรักษาตามที่แพทย์เห็นสมควร สำหรับการตรวจวินิจฉัยควรมีความรวดเร็ว ถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ เนื่องจากการวินิจฉัยได้เร็วมีประโยชน์ในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสมแก่ผู้ติดเชื้อ บุคลากรในห้องปฏิบัติการควรได้รับการอบรมเกี่ยวกับการเก็บส่งตรวจ และวิธีปฏิบัติงานกับเชื้อ mycobacteria เมื่อต้องปฏิบัติงานเกี่ยวกับเชื้อควรทำใน biological safety cabinets (BSC) ระดับ 3 โดยใส่อุปกรณ์ป้องกันตัวเอง เช่น เสื้อกาวน์ ถุงมือ และหน้ากากทุกครั้งในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการหรือภายในโรงพยาบาล ควรมีเครื่องกรองอากาศ (air filtration) หรือ หลอดยูวี (ultraviolet germicidal radiation) เพื่อทำลายเชื้อที่อาจอยู่ในอากาศ^{52, 53} สำหรับการจัดการกับสิ่งส่งตรวจที่มีเชื้อ ควรทิ้งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำลายเชื้อก่อนนำออกนอกห้องปฏิบัติการ หากเป็นของเหลวควรทิ้งใน 5% phenol เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง แล้วทิ้งลงในถังขยะที่จัดแยกไว้ นอกจากนั้นการป้องกันตัวเองจากเชื้อ

เป็นสิ่งที่สำคัญ โดยหลีกเลี่ยงการอยู่ในที่มีผู้ติดเชื้อ บริเวณที่คนอยู่กันหนาแน่น หรือถ้าจำเป็นควรใส่ผ้าปิดจมูกเพื่อเป็นการป้องกัน

สรุป

XDR-TB เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุข โดยมีอัตราการติดเชื้อ และอัตราการเสียชีวิตสูง เนื่องจากเชื้อดื้อยาที่ใช้รักษาวินโรค ทำให้ผู้ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อไปยังบุคคลอื่น สาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เชื้อดื้อยาเกิดจากการกลายพันธุ์ในบริเวณยีนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยา ในปัจจุบันยังมีเครื่องมือไม่เพียงพอ และไม่เหมาะสมในการวินิจฉัยเชื้อดื้อยา ยิ่งไปกว่านั้นการรักษา XDR-TB ถูกจำกัดเนื่องจากเชื้อดื้อยาที่ใช้รักษาวินโรคเกือบทุกชนิด ดังนั้นจึงต้องการการตรวจวินิจฉัยที่มีความรวดเร็ว ถูกต้อง มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน ราคาถูก และมีประสิทธิภาพ เพื่อใช้รักษาผู้ติดเชื้อ และเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อ วิธีตรวจวินิจฉัย XDR-TB ที่มีในปัจจุบัน ได้แก่ automated liquid-culture system, line-probe hybridization assay และ MODS assay เป็นต้น และมีการพัฒนาการวินิจฉัยวินโรค โดยการหา biomarker ที่ใช้แยกระหว่าง active tuberculosis และ latent tuberculosis นอกจากนั้นยังมี marker ที่ใช้บอกเกี่ยวกับการดื้อยาของเชื้อ ได้แก่ Rv0560c และ Rv0559c ซึ่งใช้เป็น marker เกี่ยวกับการดื้อยา rifampicin ของเชื้อ mycobacteria⁵⁴ และ

มีการคิดค้นพัฒนายาชนิดใหม่ ได้แก่ ยาในกลุ่ม nitroimidazole ได้แก่ PA-824, delamanid (OPC-67683), SQ109, bedaquiline (TMC207), NAS-21, NAS-91, phenothiazines และ benzothiazinones เพื่อใช้รักษาผู้ป่วยที่ไม่สามารถ ใช้ยารักษาวินโรคเดิมรักษาได้ หรือใช้ยาใหม่ร่วมกับยาสูตรเดิม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา สำหรับห้องปฏิบัติการควรเตรียมเครื่องมือให้พร้อม และเพียงพอต่อการทำการทดสอบความไวต่อยา และควรมี biosafety ระดับ 3 เพื่อป้องกันอันตรายจากการปฏิบัติงานบุคลากรในห้องปฏิบัติการควรได้รับการอบรมเกี่ยวกับการปฏิบัติงานต่อเชื้อ *M. tuberculosis* และในอนาคตเมื่อเข้าสู่สมาคมอาเซียน จะมีการเคลื่อนย้ายของประชากรจากประเทศเพื่อนบ้านเข้ามาในประเทศไทย ดังนั้นจึงควรมีการตรวจคัดกรองเชื้อวินโรคของบุคคลที่จะเข้ามาในประเทศ โดยบุคคลที่เข้ามาควรมีเอกสารทางการแพทย์รับรอง เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ นอกจากนั้นภายในประเทศควรมีการเฝ้าระวังการเกิดเชื้อดื้อยาภายในประเทศ ไม่ให้มีแนวโน้มที่สูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการวิจัยพัฒนาและวิศวกรรมทุนสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกลุ่มวิจัยวินโรคแขนงจุลชีววิทยาคลินิกภาควิชาเทคนิคการแพทยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ ผศ.ดร.สุชาติ ปันจยสีห์ ที่ให้คำปรึกษา ช้แนะในการศึกษาเชื้อวินโรคดื้อยาเป็นอย่างสูง

เอกสารอ้างอิง

1. da Silva PE, Von Groll A, Martin A, Palomino JC. Efflux as a mechanism for drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. FEMS Immunol Med Microbiol 2011; 63(1): 1-9.
2. Almeida Da Silva PE, Palomino JC. Molecular basis and mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: classical and new drugs. J Antimicrob Chemother 2011; 66(7): 1417-30.
3. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2014 2014: [cited 2014 Nov 12]. Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
4. Gunther G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current concepts and future challenges. Clin Med 2014; 14(13): 279-85.
5. World Health Organization. Definitions and Reporting Framework for Tuberculosis – 2013 revision.2014 [cited 2014 Oct 24]. Available from: <http://www.who.int/tb/publications/definitions/en/>
6. Banerjee R, Schechter GF, Flood J, Porco TC. Extensively drug-resistant tuberculosis: new strains, new challenges. Expert Rev Anti Infect Ther 2008; 6(5): 713-24.

7. Jassal M, Bishai WR. Extensively drug-resistant tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2009; 9(1): 19-30.
8. Kolyva AS, Karakousis PC. Old and New TB Drugs: Mechanisms of Action and Resistance: InTech; 2012. Available from: <http://www.intechopen.com/books/understanding-tuberculosis-new-approaches-to-fighting-against-drug-resistance/old-and-new-tb-drugs-mechanisms-of-action-and-resistance>
9. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn JO, Cauthen GM, Dooley SW. The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 1993; 328(8): 521-6.
10. Frieden TR, Woodley CL, Crawford JT, Lew D, Dooley SM. The molecular epidemiology of tuberculosis in New York City: the importance of nosocomial transmission and laboratory error. *Tuber Lung Dis* 1996; 77(5): 407-13.
11. Davies GR, Pillay M, Sturm AW, Wilkinson D. Emergence of multidrug-resistant tuberculosis in a community-based directly observed treatment programme in rural South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3(9): 799-804.
12. Pillay M, Sturm AW. Evolution of the extensively drug-resistant F15/LAM4/KZN strain of *Mycobacterium tuberculosis* in KwaZulu-Natal, South Africa. *Clin Infect Dis* 2007; 45(11): 1409-14.
13. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, Pawinski R, Govender T, Lalloo U, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006; 368(9547): 1575-80.
14. Motiwala AS, Dai Y, Jones-Lopez EC, Hwang SH, Lee JS, Cho SN, et al. Mutations in extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* that do not code for known drug-resistance mechanisms. *J Infect Dis* 2010; 201(6): 881-8.
15. Timmins GS, Deretic V. Mechanisms of action of isoniazid. *Mol Microbiol* 2006; 62(5): 1220-7.
16. Somoskovi A, Parsons LM, Salfinger M. The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Respir Res* 2001; 2(3): 164-8.
17. Guo H, Seet Q, Denkin S, Parsons L, Zhang Y. Molecular characterization of isoniazid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from the USA. *J Med Microbiol* 2006; 55(Pt11): 1527-31.
18. Hazbon MH, Brimacombe M, Bobadilla del Valle M, Cavatore M, Guerrero MI, Varma-Basil M, et al. Population genetics study of isoniazid resistance mutations and evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(8): 2640-9.
19. Wehrli W. Rifampin: mechanisms of action and resistance. *Rev Infect Dis* 1983; 5 Suppl 3: S407-11.
20. World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis 2011 update. 2011 [cited 2014 Oct 24]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501583_eng.pdf.
21. Drlica K, Malik M. Fluoroquinolones: action and resistance. *Curr Top Med Chem* 2003;3(3):249-82.
22. Aubry A, Pan XS, Fisher LM, Jarlier V, Cambau E. *Mycobacterium tuberculosis* DNA gyrase: interaction with quinolones and correlation with antimycobacterial drug activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(4): 1281-8.
23. Drlica K. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2(5): 504-8.

24. Takiff HE, Salazar L, Guerrero C, Philipp W, Huang WM, Kreiswirth B, et al. Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis* *gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38(4): 773-80.
25. Ginsburg AS, Grosset JH, Bishai WR. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(7): 432-42.
26. Aubry A, Veziris N, Cambau E, Truffot-Pernot C, Jarlier V, Fisher LM. Novel gyrase mutations in quinolone-resistant and -hypersusceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: functional analysis of mutant enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(1): 104-12.
27. Wade MM, Zhang Y. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Biosci* 2004; 9: 975-94.
28. Jugheli L, Bzekalava N, de Rijk P, Fissette K, Portaels F, Rigouts L. High level of cross-resistance between kanamycin, amikacin, and capreomycin among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Georgia and a close relation with mutations in the *rrs* gene. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(12): 5064-8.
29. Johansen SK, Maus CE, Plikaytis BB, Douthwaite S. Capreomycin binds across the ribosomal subunit interface using tlyA-encoded 2'-O-methylations in 16S and 23S rRNAs. *Mol Cell* 2006; 23(2): 173-82.
30. World Health Organization Policy Guidance on Drug-Susceptibility Testing (DST) of Second-Line Antituberculosis Drugs. 2008 [cited 2014 Oct 24]. Available from: http://www.who.int/tb/publications/2008/whohtmtb_2008_392/en/
31. O'Grady J, Maeurer M, Mwaba P, Kapata N, Bates M, Hoelscher M, et al. New and improved diagnostics for detection of drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med* 2011; 17(3): 134-41.
32. Dheda K, Ruhwald M, Theron G, Peter J, Yam WC. Point-of-care diagnosis of tuberculosis: past, present and future. *Respirology* 2013; 18(2): 217-32.
33. Nunn P, Williams B, Floyd K, Dye C, Elzinga G, Raviglione M. Tuberculosis control in the era of HIV. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(10): 819-26.
34. Dhingra VK, Rajpal S, Mittal A, Hanif M. Outcome of multi-drug resistant tuberculosis cases treated by individualized regimens at a tertiary level clinic. *Indian J Tuberc* 2008; 55(1): 15-21.
35. Mukherjee JS, Rich ML, Succi AR, Joseph JK, Viru FA, Shin SS, et al. Programmes and principles in treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Lancet* 2004; 363(9407): 474-81.
36. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, von Reyn CF. Tuberculosis. *N Engl J Med* 2013; 368(8): 745-55.
37. Lange C, Abubakar I, Alffenaar JW, Bothamley G, Caminero JA, Carvalho AC, et al. Management of patients with multidrug-resistant/extensively drug-resistant tuberculosis in Europe: a TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2014; 44(1): 23-63.
38. Stover CK, Warren P, VanDevanter DR, Sherman DR, Arain TM, Langhorne MH, et al. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis. *Nature* 2000; 405(6789): 962-6.
39. Rivers EC, Mancera RL. New anti-tuberculosis drugs in clinical trials with novel mechanisms of action. *Drug Discov Today* 2008; 13(23-24): 1090-8.
40. Singh R, Manjunatha U, Boshoff HI, Ha YH, Niyomrattanakit P, Ledwidge R, et al. PA-824 kills nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis* by intracellular NO release. *Science* 2008; 322(5906): 1392-5.

41. Matsumoto M, Hashizume H, Tomishige T, Kawasaki M, Tsubouchi H, Sasaki H, et al. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazo[4,5-c]quinoxaline derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. *PLoS Med* 2006; 3(11): e466.
42. Matteelli A, Roggi A, Carvalho AC. Extensively drug-resistant tuberculosis: epidemiology and management. *Clin Epidemiol* 2014; 6: 111-8.
43. Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, Gohlmann HW, Neefs JM, Winkler H, et al. A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 2005; 307(5707): 223-7.
44. Koul A, Dendouga N, Vergauwen K, Molenberghs B, Vranckx L, Willebrords R, et al. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase. *Nat Chem Biol* 2007; 3(6): 323-4.
45. Diacon AH, Pym A, Grobusch M, Patientia R, Rustomjee R, Page-Shipp L, et al. The diarylquinoline TMC207 for multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med* 2009; 360: 2397-405.
46. Gratraud P, Surolia N, Besra GS, Surolia A, Kremer L. Antimycobacterial Activity and Mechanism of Action of NAS-91. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(3): 1162-6.
47. Bhowruth V, Brown AK, Besra GS. Synthesis and biological evaluation of NAS-21 and NAS-91 analogues as potential inhibitors of the mycobacterial FAS-II dehydratase enzyme Rv0636. *Microbiology* 2008; 154(Pt 7): 1866-75.
48. Zhang Y. The magic bullets and tuberculosis drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 529-64.
49. Ordway D, Viveiros M, Leandro C, Bettencourt R, Almeida J, Martins M, et al. Clinical concentrations of thioamides kill intracellular multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(3): 917-22.
50. Martins M, Dastidar SG, Fanning S, Kristiansen JE, Molnar J, Pages JM, et al. Potential role of non-antibiotics (helper compounds) in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections: mechanisms for their direct and indirect activities. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31(3): 198-208.
51. Gler MT, Skripconoka V, Sanchez-Garavito E, Xiao H, Cabrera-Rivero JL, Vargas-Vasquez DE, et al. Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *N Engl J Med* 2012; 366: 2151-60.
52. Porco TC, Getz WM. Controlling extensively drug-resistant tuberculosis. *Lancet* 2007; 370(9597): 1464-5.
53. Stroud LA, Tokars JI, Grieco MH, Crawford JT, Culver DH, Edlin BR, et al. Evaluation of infection control measures in preventing the nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in a New York City hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16(3): 141-7.
54. de Knecht GJ, Bruning O, ten Kate MT, de Jong M, van Belkum A, Endtz HP, et al. Rifampicin-induced transcriptome response in rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb)* 2013; 93(1): 96-101.