



# Xét nghiệm LPA phát hiện tính kháng thuốc của vi khuẩn lao

Hướng dẫn phiên giải và báo cáo kết quả  
dành cho xét nghiệm viên và bác sĩ lâm sàng



# Xét nghiệm LPA phát hiện tính kháng thuốc của vi khuẩn lao

Hướng dẫn phiên giải và báo cáo kết quả  
dành cho xét nghiệm viên và bác sĩ lâm sàng





---

# Nội dung

Các từ viết tắt	v
Các thuật ngữ	vi
Lời cảm ơn	vii
Đôi nét về tài liệu	viii
<b>Giới thiệu</b>	1
Nguyên lý của xét nghiệm LPA (Line Probe Assay)	2
GenoType MTBDRplus Version 2	3
GenoType MTBDRsl Version 2	4
Phiên giải và báo cáo kết quả xét nghiệm LPA	4
Các thay đổi trong phiên giải kết quả của nhà sản xuất	5
Các hoạt động chẩn đoán theo dõi bổ sung nhằm đưa ra phác đồ điều trị lao thích hợp	8
<b>Phiên giải kết quả LPA hàng 1</b>	10
Rifampicin	10
Isoniazid	12
<b>Phiên giải kết quả LPA hàng 2</b>	14
Fluoroquinolones	14
Thuốc tiêm hàng hai	18
<b>Nghiên cứu ca bệnh: Các ví dụ về đánh giá lao kháng thuốc dựa trên LPA hàng 2</b>	20
<b>Tài liệu tham khảo</b>	27
<b>Phụ lục 1.</b> Mẫu báo cáo LPA hàng 1 – Các ví dụ thực hành	31
<b>Phụ lục 2.</b> Mẫu báo cáo LPA hàng 2 – Các ví dụ thực hành	32
<b>Phụ lục 3.</b> Sự thay đổi của các nucleotide cụ thể được phát hiện bởi các mẫu dò đột biến	34

---

## Các từ viết tắt

<b>Am</b>	amikacin	Thuốc chống lao amikacin
<b>CB</b>	clinical breakpoint	Điểm gãy lâm sàng
<b>CC</b>	critical concentration	Nồng độ tới hạn
<b>Cm</b>	capreomycin	Thuốc chống lao capreomycin
<b>DST</b>	drug-susceptibility testing	Kháng sinh đồ
<b>Eto</b>	ethionamide	Thuốc chống lao ethionamide
<b>FL-LPA</b>	first line – line probe assay	LPA- hàng 1
<b>FQ</b>	fluoroquinolone	Thuốc chống lao fluoroquinolone
<b>H</b>	isoniazid	Thuốc chống lao isoniazid
<b>Km</b>	kanamycin	Thuốc chống lao kanamycin
<b>Lfx</b>	levofloxacin	Thuốc chống lao levofloxacin
<b>LPA</b>	line probe assay	Xét nghiệm LPA
<b>NTM</b>	non-tuberculous mycobacteria	Mycobacterium không lao
<b>MIC</b>	minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
<b>MDR-TB</b>	multidrug-resistant tuberculosis	Lao đa kháng thuốc
<b>Mfx</b>	moxifloxacin	Thuốc chống lao moxifloxacin
<b>MTBC</b>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	Phức hợp <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<b>MUT</b>	mutation probe	Đột biến mẫu dò
<b>Pto</b>	prothionamide	Thuốc chống lao prothionamide
<b>QRDR</b>	quinolone-resistance determining region	Vùng quy định kháng quinolone
<b>R</b>	resistant	Kháng
<b>RRDR</b>	Rifampicin- resistance determining region	Vùng quy định kháng Rifampicin
<b>Rif</b>	rifampicin	Thuốc chống lao rifampicin
<b>S</b>	susceptible	Nhạy
<b>SLI</b>	second-line injectable (drug) (i.e. kanamycin, amikacin, capreomycin)	Thuốc tiêm hàng 2 (v.d. kanamycin, amikacin, capreomycin)
<b>SL-LPA</b>	second line – line probe assay	Xét nghiệm LPA – hàng 2
<b>TB</b>	tuberculosis	Bệnh Lao
<b>WT</b>	wild-type	Chủng hoang dại

---

## Các thuật ngữ

**Nồng độ tối hạn:** Nồng độ thấp nhất của thuốc lao trong môi trường in vitro ức chế 99% số lượng vi khuẩn mọc của các chủng *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) kiểu hình hoang dại.

**Điểm gãy lâm sàng:** Là nồng độ của thuốc lao được xác định là nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) cao hơn nồng độ tối hạn, tại giá trị này sẽ tách biệt các chủng đáp ứng với điều trị với các chủng không đáp ứng với điều trị. Nồng độ này được xác định bởi nhiều biến số, bao gồm các giá trị in vivo, như là mối tương quan giữa số liệu kết quả lâm sàng có sẵn và số liệu PK/PD bao gồm liều dùng cũng như phân phối giá trị MIC và các marker phân tử. Việc tăng liều dùng có thể được sử dụng để khắc phục tính kháng đã quan sát được ở liều dùng thấp hơn, tăng cho đến mức cao nhất liều dùng dung nạp được, do đó liều dùng cao hơn điểm gãy lâm sàng cho từng thuốc không được khuyến cáo sử dụng. Sử dụng điểm gãy lâm sàng để áp dụng cho việc điều trị bệnh nhân.

**Nồng độ ức chế tối thiểu** là nồng độ thấp nhất của thuốc lao để ức chế sự phát triển của trên 99% số lượng vi sinh vật trong kỹ thuật kháng sinh đồ pha loãng trên môi trường đặc hoặc lỏng. Thông thường việc thử nghiệm các MIC theo phương thức chuẩn hóa được tổng hợp cho một loài, sự phân bố MIC theo hình thái Gaussian đơn lẻ được tạo thành, phù hợp với phân bố hoang dại kiểu hình của loài đó ( ví dụ: sự phân bố cho các loài sinh vật thiếu cơ chế kháng có thể phát hiện bằng kiểu hình). Các phân bố bổ sung với MIC tổng thể cao hơn đôi khi được xác định là tương ứng với các sinh vật có cơ chế kháng nội tại hoặc tự nhiên (ví dụ phân bố kiểu hình không hoang dại).

---

## Lời cảm ơn

Hướng dẫn này là sản phẩm của Nhóm chiến lược toàn cầu phòng xét nghiệm (GLI). Việc xây dựng tài liệu được hướng dẫn và hoàn thiện bởi Elisa Tagliani và Daniela Cirillo (Viện khoa học San Raffaele), với sự đóng góp của Elisa Ardizzoni, Bouke de Jong và Leen Rigouts (Viện Y học Nhiệt đới Antwerp). Xin gửi lời cảm ơn đặc biệt tới các thành viên Nhóm chủ chốt với những đóng góp to lớn của họ, bao gồm Heather Alexander, Olajumoke Tubi Abiola, Maka Akhalaia, Heidi Albert, Uladzimir Antonenka, Martina Casenghi, Petrade Haas, Kathleen Anh, Lucilaine Ferrazoli, Marguerite Massinga Loembe, Alaine Umubyeyi Nyaruhirira, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Thomas Shinnick, Alena Skrahina, Sabira Tahseen và Nguyễn Văn Hưng. Quá trình hoàn thiện tài liệu cũng ghi nhận sự nỗ lực phối hợp và các thông tin kỹ thuật quý báu từ Dennis Falzon, Christopher Gilpin, Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn, Fuad Mirzayev và Karin Weyer của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và Chương trình Lao toàn cầu.

Các tác giả đã thực hiện tất cả các biện pháp phòng ngừa hợp lý để xác minh thông tin có trong tài liệu này. Tuy nhiên, không có sự bảo đảm về việc phân phối tài liệu này dưới bất kỳ hình thức nào, thực hiện công khai hoặc mô phỏng chỉnh sửa.

Người đọc chịu trách nhiệm đối với việc diễn giải và sử dụng tài liệu này. Các tác giả không chịu trách nhiệm cho các thiệt hại phát sinh từ việc sử dụng tài liệu này trong mọi trường hợp.

GLI là nhóm nghiên cứu nhằm ngăn chặn bệnh lao. Soạn thảo và xuất bản tài liệu này được thực hiện với sự hỗ trợ tài chính từ Cơ quan phát triển Quốc tế của Hoa Kỳ. Ảnh bìa của © Alicephotography. Thiết kế đồ họa được sử dụng hạn chế nhất trong bộ cục của hướng dẫn này.

Chịu trách nhiệm bản dịch tiếng Việt: Phó Giáo sư Nguyễn Văn Hưng và Nhóm Sinh học phân tử, Khoa Vi Sinh và Phòng Xét Nghiệm Lao Chuẩn Quốc Gia, Bệnh viện Phổi Trung Ương.

---

## Đôi nét về tài liệu

Tài liệu này được xây dựng nhằm cung cấp hướng dẫn cách phiên giải kết quả của hầu hết các trường hợp thường gặp trong xét nghiệm LPA hàng 1, hàng 2 (VD.Xét nghiệm GenoType MTBDRplus V2.0 and GenoType MTBDRsl V2.0; Hain Lifescience, Đức). Ngoài việc phiên giải các đột biến được xác định bởi hai xét nghiệm trên, hướng dẫn này còn bao gồm các khuyến cáo việc thực hiện các xét nghiệm chẩn đoán theo dõi bổ sung khi có sự có mặt của các đột biến cụ thể và ý nghĩa lâm sàng mang lại trong việc lựa chọn các phác đồ điều trị bệnh lao phù hợp.

Hướng dẫn này nhằm cung cấp cho xét nghiệm viên và bác sĩ lâm sàng các thông tin sau đây:

- Mỗi quan hệ giữa các đột biến cụ thể và kiểu hình kháng thuốc.
- Các trường hợp khi tính kháng liên quan đến các đột biến cụ thể không được xác định và tính kháng chỉ có thể được suy luận.
- Ý nghĩa lâm sàng của các đột biến cụ thể được phát hiện bởi xét nghiệm LPA

Ngoài ra, hướng dẫn này còn hỗ trợ cho các nhân viên tại phòng xét nghiệm lao quốc gia và khu vực để hiểu rõ hơn và quản lý được sự khác biệt có thể có giữa kháng sinh đồ kiểu hình và kiểu gen.

Hướng dẫn này phác thảo các đột biến được xác định bởi hai xét nghiệm LPA hàng 1 và hàng 2, bao gồm thông tin liên quan đến mối liên hệ của chúng với kháng thuốc kiểu hình dựa trên nghiên cứu đã công bố của Miotto và các cộng sự (1) và với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) cho các loại thuốc lao hàng 1 và hàng 2 như WHO đã báo cáo gần đây (2, 3). Phiên giải kết quả xét nghiệm, xét nghiệm chẩn đoán theo dõi bổ sung và các ý nghĩa lâm sàng liên quan đến sự có mặt của các đột biến cụ thể cũng như đối với các trường hợp mà tính kháng được suy luận thì đều được báo cáo.

Cuối cùng, các minh họa về các nghiên cứu ca bệnh cụ thể để trình bày cách báo cáo kết quả xét nghiệm cho bác sĩ lâm sàng, ví dụ kết quả LPA và mẫu báo cáo khuyến nghị.



## Lời giới thiệu

Trong hai thập kỷ qua đã có rất nhiều cải thiện hiểu biết về cơ sở phân tử tính kháng thuốc, điều này dẫn đến sự phát triển của rất nhiều phương pháp chẩn đoán dựa trên kiểu gen cho việc xác định nhanh chóng tính kháng thuốc của vi khuẩn lao. Bên cạnh việc chẩn đoán nhanh chóng, xét nghiệm phân tử có những lợi thế bổ sung như khả năng áp dụng trực tiếp với bệnh phẩm lâm sàng (không cần nuôi cấy phân lập chủng trên môi trường đặc hoặc lỏng) và mẫu bệnh phẩm có chứa vi khuẩn không còn sống (ví dụ: vi khuẩn bị giết bởi nhiệt hoặc bất hoạt hóa học), khả năng xử lý khối lượng mẫu lớn và giảm các yêu cầu an toàn sinh học trong phòng thí nghiệm.

Năm 2008, Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) đã thông qua việc sử dụng xét nghiệm LPA hàng 1, GenoType MTBDRplus (gọi tắt là GenoType MTBDRplus V1), để phát hiện nhanh bệnh lao đa kháng thuốc (MDR)-TB (4). Sau đó, các phiên bản mới hơn của công nghệ LPA đã được phát triển từ năm 2011, bao gồm (i) GenoType MTBDRplus phiên bản 2 (gọi tắt là GenoType MTBDRplus V2) và (ii) Nipro NTM + MDRTB detection kit 2 (được gọi là Nipro, Tokyo, Nhật Bản). Những phiên bản mới hơn của kỹ thuật LPA nhằm mục đích cải thiện độ nhạy phát hiện MTBC và đồng thời phát hiện kháng với rifampicin (Rif) và isoniazid (H). Vào năm 2015, FIND (Quỹ chẩn đoán sáng tạo mới) đã đánh giá xét nghiệm Nipro và GenoType MTBDRplus V2 và so sánh với GenoType MTBDRplus V1. Nghiên cứu đã chứng minh ba kit thương mại này có kết quả tương đương. Kỹ thuật LPA để phát hiện vi khuẩn lao và kháng với Rif và H (5).

Bộ kit LPA thương mại đầu tiên phát hiện kháng thuốc lao hàng hai là GenoType MTBDRsl phiên bản 1.0, được phát triển bởi Hain Lifescience một thập kỷ trước (gọi tắt là GenoType MTBDRsl V1). Phiên bản cập nhật của kỹ thuật này (GenoType MTBDRsl V2) phát hiện các đột biến liên quan đến kháng thuốc fluoroquinolone và thuốc tiêm hàng hai (SLI) được phát hiện bởi phiên bản 1.0, và bổ sung thêm các đột biến (được mô tả trong phần bên dưới), chính thức được sử dụng từ 2015.

Ngay năm tiếp theo, WHO đã đưa ra các khuyến nghị về việc sử dụng các bộ kit thương mại LPA hàng 1 có bán trên thị trường (ví dụ GenoType MTBDRplus V1, GenoType MTBDRplus V2 và Nipro) để xét nghiệm ban đầu thay vì thực hiện kháng sinh đồ kiểu hình (DST) phát hiện tính kháng của Rif và H (6). Đồng thời, các khuyến nghị về việc sử dụng GenoType MTBDRsl (V1 và V2) để phát hiện kháng với fluoroquinolones và thuốc tiêm hàng 2 ở bệnh nhân kháng rifampicin / MDR-TB và hướng dẫn bắt đầu phác đồ điều trị thích hợp cho bệnh nhân MDR-TB cũng được WHO ban hành năm 2016 (7).

Để biết chi tiết hơn về vị trí của kỹ thuật LPA hàng 1 và hàng 2 trong các sơ đồ chẩn đoán bệnh lao, vui lòng tham khảo tài liệu GLI model TB diagnostic algorithms của GLI (cập nhật vào tháng 6 năm 2018) (8). Mục đích của tài liệu này, tập trung vào hai kỹ thuật LPA được sử dụng rộng rãi nhất (ví dụ: GenoType MTBDRplus V2 và GenoType MTBDRsl V2), để cung cấp hướng dẫn cho các xét nghiệm viên và bác sĩ điều trị trong việc phân giải kết quả của 2 kỹ thuật LPA

hàng 1 và hàng 2, và để hiểu rõ và quản lý tốt hơn các trường hợp bất đồng kết quả giữa kháng sinh đồ kiểu gen và kiểu hình.

### Nguyên lý của xét nghiệm LPA

Kỹ thuật lai mẫu dò là một nhóm các xét nghiệm dựa trên strip DNA để xác định thông tin kháng thuốc của chủng MTBC thông qua mô hình liên kết của các sản phẩm khuếch đại DNA với các mẫu dò đích với các vị trí đột biến phổ biến nhất quy định tính kháng thuốc hàng 1 và hàng 2 và các mẫu dò đích tương ứng với trình tự DNA hoang dại.

Xét nghiệm LPA đã được WHO phê chuẩn sử dụng để phát hiện nhanh tính kháng thuốc hàng 1 và thứ hàng 2. Các kỹ thuật này có thể được xét nghiệm với chủng nuôi cấy (xét nghiệm gián tiếp), cũng như xét nghiệm với các mẫu đờm soi AFB dương tính (LPA hàng 1) và cả mẫu đờm soi AFB âm và dương tính (LPA hàng 2) (6, 7).

Đột biến được phát hiện bằng cách: (i) Gắn sản phẩm khuếch đại DNA với các mẫu dò đích với các đột biến xảy ra phổ biến nhất (mẫu dò MUT) hoặc (ii) được suy ra do thiếu phức hợp lai (tức là thiếu liên kết) của sản phẩm khuếch đại với các mẫu dò WT tương ứng.

Phản ứng sau bước lai dẫn đến sự xuất hiện các băng vạch trên thanh strip để phát hiện các mẫu dò tương ứng gắn vào.

*Điều quan trọng cần nhớ rằng tương tự như các xét nghiệm nhanh khác hiện đang được WHO chứng thực, xét nghiệm LPA có một số hạn chế:*

- Mặc dù xét nghiệm LPA có thể phát hiện các đột biến thường gặp nhất của các chủng kháng thuốc, một số đột biến kháng thuốc nằm ngoài vùng được bao phủ bởi xét nghiệm, do đó ngay cả khi thanh strip hiện tất cả băng WT thì cũng không thể loại trừ hoàn toàn tính kháng thuốc. Vì vậy, trong một số trường hợp, xét nghiệm bổ sung kháng sinh đồ kiểu hình có thể là cần thiết để có đánh giá đầy đủ.
- Một số đột biến được xác định cụ thể bằng sự xuất hiện băng MUT, trong khi các đột biến khác chỉ được suy ra do không có liên kết giữa sản phẩm khuếch đại với các mẫu dò WT. Trường hợp không hiện băng WT đồng thời mẫu dò MUT cũng không hiện băng, thì sẽ có khả năng hiện diện chủng mang đột biến kháng thuốc. Tuy nhiên, lỗi hệ thống là có thể do đột biến đồng nghĩa và không đồng nghĩa (ví dụ: đột biến gen phát sinh). Trên toàn cầu, điều này rất hiếm (<1% số phân lập), nhưng những chủng phân lập này có thể xảy ra thường xuyên tại địa phương (9).
- LPA kém hiệu quả hơn so với kháng sinh đồ kiểu hình trong việc tìm ra tính kháng trong các mẫu chứa vi khuẩn nhạy và kháng thuốc đồng thời (nghĩa là kháng dị hợp). Cụ thể hơn, nếu vi khuẩn kháng thuốc chiếm ít nhất 5% tổng dân số thì kỹ thuật LPA có thể phát hiện vi khuẩn kháng thuốc với các đột biến được phát hiện bởi xuất hiện băng các đầu dò MUT. Tuy nhiên, nếu dân số kháng thuốc thấp hơn 95% tổng số vi khuẩn thì kỹ thuật LPA có thể bỏ sót vi khuẩn kháng thuốc được suy ra do không xuất hiện mẫu dò WT (10, 11).

## LỜI GIỚI THIỆU

Nhìn chung, độ nhạy và độ đặc hiệu của các loại thuốc khác nhau trong kỹ thuật LPA được báo cáo chi tiết ở các tài liệu khác (12, 13). Tóm lại, LPA hàng 1 cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu tính kháng Rif lần lượt là 96,7% và 98,8% và cho tính kháng H với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 90,2% và 99,2% (12). LPA hàng 2 (GenoType MTBDRsl V1) cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu kháng fluoroquinolone bằng cách xét nghiệm mẫu trực tiếp lần lượt 86,2% và 98,6%, và độ nhạy và độ đặc hiệu kháng thuốc thuốc tiêm hàng hai là 87,0 % và 99,5%, tương ứng (13).

### GenoType MTBDRplus Version 2

GenoType MTBDRplus (Hình 1a) nhằm vào các đột biến cụ thể trong vùng xác định kháng Rif (RRDR) của gen *rpoB* (từ codon 505 đến 533) (Hình 2) để phát hiện kháng Rif và đột biến trong vùng promoter *inhA* (từ -16 đến -8 nucleotide ngược dòng) và vùng *katG* (codon 315) để xác định kháng H. Những thay đổi nu-cleotide cụ thể được phát hiện bởi xét nghiệm được báo cáo trong Phần Phụ lục.

**Hình 1. Cấu trúc thanh strip GenoType MTBDRplus V2 (a) và GenoType MTBDRsl V2 (b)**

#### a (14)

Line	
1	Conjugate Control
2	Amplification Control
3	<i>M. tuberculosis</i> complex TUB
4	<i>rpoB</i> Locus Control <i>rpoB</i>
5	<i>rpoB</i> wild type probe 1 <i>rpoB</i> WT1
6	<i>rpoB</i> wild type probe 2 <i>rpoB</i> WT2
7	<i>rpoB</i> wild type probe 3 <i>rpoB</i> WT3
8	<i>rpoB</i> wild type probe 4 <i>rpoB</i> WT4
9	<i>rpoB</i> wild type probe 5 <i>rpoB</i> WT5
10	<i>rpoB</i> wild type probe 6 <i>rpoB</i> WT6
11	<i>rpoB</i> wild type probe 7 <i>rpoB</i> WT7
12	<i>rpoB</i> wild type probe 8 <i>rpoB</i> WT8
13	<i>rpoB</i> mutation probe 1 <i>rpoB</i> MUT1
14	<i>rpoB</i> mutation probe 2A <i>rpoB</i> MUT2A
15	<i>rpoB</i> mutation probe 2B <i>rpoB</i> MUT2B
16	<i>rpoB</i> mutation probe 3 <i>rpoB</i> MUT3
17	<i>katG</i> Locus Control <i>katG</i>
18	<i>katG</i> wild type probe <i>katG</i> WT
19	<i>katG</i> mutation probe 1 <i>katG</i> MUT1
20	<i>katG</i> mutation probe 2 <i>katG</i> MUT2
21	<i>inhA</i> Locus Control <i>inhA</i>
22	<i>inhA</i> wild type probe 1 <i>inhA</i> WT1
23	<i>inhA</i> wild type probe 2 <i>inhA</i> WT2
24	<i>inhA</i> mutation probe 1 <i>inhA</i> MUT1
25	<i>inhA</i> mutation probe 2 <i>inhA</i> MUT2
26	<i>inhA</i> mutation probe 3A <i>inhA</i> MUT3A
27	<i>inhA</i> mutation probe 3B <i>inhA</i> MUT3B
	Colored marker

#### b (15)

Line	
1	Conjugate Control
2	Amplification Control
3	<i>M. tuberculosis</i> complex TUB
4	<i>gyrA</i> Locus Control <i>gyrA</i>
5	<i>gyrA</i> wild type probe 1 <i>gyrA</i> WT1
6	<i>gyrA</i> wild type probe 2 <i>gyrA</i> WT2
7	<i>gyrA</i> wild type probe 3 <i>gyrA</i> WT3
8	<i>gyrA</i> mutation probe 1 <i>gyrA</i> MUT1
9	<i>gyrA</i> mutation probe 2 <i>gyrA</i> MUT2
10	<i>gyrA</i> mutation probe 3A <i>gyrA</i> MUT3A
11	<i>gyrA</i> mutation probe 3B <i>gyrA</i> MUT3B
12	<i>gyrA</i> mutation probe 3C <i>gyrA</i> MUT3C
13	<i>gyrA</i> mutation probe 3D <i>gyrA</i> MUT3D
14	<i>gyrB</i> Locus Control <i>gyrB</i>
15	<i>gyrB</i> wild type probe <i>gyrB</i> WT
16	<i>gyrB</i> mutation probe 1 <i>gyrB</i> MUT1
17	<i>gyrB</i> mutation probe 2 <i>gyrB</i> MUT2
18	<i>rrs</i> Locus Control <i>rrs</i>
19	<i>rrs</i> wild type probe 1 <i>rrs</i> WT1
20	<i>rrs</i> wild type probe 2 <i>rrs</i> WT2
21	<i>rrs</i> mutation probe 1 <i>rrs</i> MUT1
22	<i>rrs</i> mutation probe 2 <i>rrs</i> MUT2
23	<i>eis</i> Locus Control <i>eis</i>
24	<i>eis</i> wild type probe 1 <i>eis</i> WT1
25	<i>eis</i> wild type probe 2 <i>eis</i> WT2
26	<i>eis</i> wild type probe 3 <i>eis</i> WT3
27	<i>eis</i> mutation probe 1 <i>eis</i> MUT1
	Colored marker

## GenoType MTBDRs/ Version 2

Phiên bản thứ hai của GenoType MTBDRs/ (Hình 1b) bao gồm vùng xác định kháng quinolone (QRDR) của *gyrA* (từ codon 85 đến 96) (Hình 3) và của *gyrB* (từ codon 536 đến 541) (16) là các gen quy định tính kháng Fluoroquinolone và gen *rrs* (vị trí nu 1401, 1402 và 1484) và vùng promoter *eis* (từ -37 đến -2 nu ngược dòng) để phát hiện kháng thuốc tiêm hàng 2. Điều đáng chú ý là các vùng chính xác được bao phủ bởi tất cả các mẫu dò MUT chưa được tiết lộ và chỉ một số vùng được bao phủ bởi các mẫu dò WT được biết (xem Hình 2 và 3). Những thay đổi nucleotide cụ thể được phát hiện bởi các mẫu dò MUT được báo cáo trong Phần Phụ lục.

## Phiên giải và báo cáo kết quả xét nghiệm LPA

LPA có hai chứng nội trên thanh strip: **Conjugate Control** (vạch 1) và **Amplification Control** (vạch 2) (Hình 1). Conjugate Control (CC) phải luôn hiện bằng để chứng tỏ hiệu quả của gắn liên kết và phản ứng cơ chất. Amplification Control (AC) đóng vai trò tham chiếu cho việc phiên giải các mẫu dò WT và MUT: chỉ những vạch có cường độ mạnh bằng hoặc mạnh hơn bằng AC mới được xem xét. Trong trường hợp kết quả xét nghiệm dương tính, tín hiệu của bằng AC có thể yếu hoặc thậm chí biến mất hoàn toàn. Điều này xảy ra thường xuyên hơn khi xét nghiệm từ chủng vi khuẩn, và hiếm khi xảy ra khi xét nghiệm trực tiếp từ mẫu bệnh phẩm. Bằng AC không xuất hiện có thể là do sự cạnh tranh của các phản ứng đơn lẻ trong quá trình khuếch đại. Trong trường hợp này, xét nghiệm đã được thực hiện chính xác và kết quả có thể được phiên giải. Trong trường hợp có kết quả xét nghiệm âm tính, cả hai vạch CC và AC phải luôn hiển thị (nghĩa là kết quả âm tính hợp lệ). Khi không xuất hiện bằng AC trong kết quả âm tính cho thấy có lỗi trong quá trình khuếch đại hoặc sự hiện diện của chất ức chế phản ứng PCR. Trong trường hợp này, **kết quả xét nghiệm không hợp lệ và phải được lặp lại.**

**BăngTUB** (vạch 3) chỉ xuất hiện nếu DNA khuếch đại là từ các thành viên của nhóm MTBC. Sự hiện diện của các chủng NTM trong bệnh phẩm có thể dẫn đến các kiểu hình băng vạch phân bố ngẫu nhiên, với một số loài có kết quả dương tính ở một số vạch rpoB WT do sự tương đồng kiểu gen giữa các loài. Do đó, với sự hiện diện của NTM thay vì vi khuẩn MTBC, băng TUB sẽ luôn vắng mặt và kết quả được báo cáo là MTBC không được phát hiện.

Trên thanh **strip các băng locus đối chứng** đặt trước bằng WT và MUT mỗi gen tương ứng. Các băng đối chứng locus phải luôn xuất hiện thì kết quả xét nghiệm được coi là hợp lệ cho gen đó. Tuy nhiên, khi chỉ thiếu đối chứng của một locus gen, các gen khác vẫn xuất hiện bằng đối chứng locus thì kết quả của các gene khác vẫn có thể được diễn giải.

**Xét nghiệm LPA được coi là không xác định đối** với một loại thuốc hoặc nhóm thuốc cụ thể nếu locus đối chứng tương ứng cho loại thuốc hoặc nhóm thuốc cụ thể đó không xuất hiện trong khi xét nghiệm có hiệu lực (nghĩa là CC và TUB hiện bằng và có hoặc không có bằng AC). Trong trường hợp này, xét nghiệm phải được lặp lại trước khi báo cáo kết quả. Nếu kết quả tương tự khi lặp lại xét nghiệm, báo cáo kết quả như hướng dẫn phiên giải và báo cáo không xác định đối với các loại thuốc hoặc nhóm thuốc mà thiếu băng locus control. Lý do hệ thống đối với những kết quả không xác định này có thể là đột biến hoặc xóa trong vùng locus đối chứng, cũng như xóa

hoàn toàn hoặc một phần gen mục tiêu. Trong trường hợp này, giải trình tự gen có thể yêu cầu để xác định đột biến cụ thể.

**Vùng phản ứng WT** bao gồm các vùng của bộ gen với các đột biến kháng thuốc đã biết rõ. **Vùng phản ứng MUT** tương ứng với các mẫu dò xác định các đột biến kháng thuốc phổ biến nhất của gen được kiểm tra.

Mẫu được kết luận kháng khi các mẫu dò MUT hiện bằng, trong trường hợp mẫu dò WT không hiện bằng thì chỉ có thể suy ra có tính kháng (xem bên dưới để biết chi tiết).

Việc phát hiện đồng thời tất cả các mẫu dò WT và một trong các mẫu dò MUT trong vùng mục tiêu phản ứng, cho thấy sự hiện diện của sự không đồng nhất (nghĩa là cùng tồn tại của các vi khuẩn nhạy cảm và kháng thuốc trong cùng một mẫu). Trong trường hợp này, kết quả phải được báo cáo là kháng.

### Các thay đổi trong phiên giải kết quả của nhà sản xuất (14, 15)

*Sử dụng thuật ngữ "Không phát hiện tính kháng" thay vì " Nhạy cảm" để xác định hồ sơ kháng thuốc của vi khuẩn.*

Do các hạn chế của kỹ thuật LPA và cụ thể là sự kháng thuốc không thể được loại trừ hoàn toàn ngay cả khi có tất cả các mẫu dò WT (nghĩa là không phải tất cả các đột biến tạo ra kháng thuốc đều được bao phủ bởi các xét nghiệm hoặc đột biến được bao phủ có thể nằm dưới giới hạn phát hiện), vậy nên báo cáo kết quả " Phát hiện tính kháng" hoặc " Không phát hiện tính kháng" sẽ thích hợp hơn.

*Sự khác biệt giữa 2 kiểu kháng " Phát hiện tính kháng" và "Suy ra có tính kháng"*

Thuật ngữ "Suy ra có tính kháng" được sử dụng khi một hoặc nhiều mẫu dò WT của gene không xuất hiện bằng và không có mẫu dò MUT nào tương ứng hiện bằng. Trong trường hợp này, đột biến chính xác không thể được báo cáo, chỉ có khu vực đột biến được xác định.

Thuật ngữ "Phát hiện tính kháng" được sử dụng khi một hoặc nhiều mẫu dò MUT xác định các đột biến cụ thể tạo ra tính kháng thuốc hiện bằng (bất kể mẫu dò WT có hiện bằng hay không).

*Sự phân tầng các đột biến kháng thuốc đối với Isoniazid (H) và Moxifloxacin (Mfx) thành các đột biến liên quan đến sự "tăng MIC mức độ thấp " và "tăng MIC mức độ cao"*

Đột biến kháng với H và Mfx được phân tầng thành các đột biến liên quan đến tăng MIC ở mức độ thấp và tăng MIC ở mức độ cao, tùy thuộc vào phân bố MIC liên quan. Sự phân tầng này có ý nghĩa quan trọng trong việc đưa H và Mfx vào phác đồ điều trị, bởi vì tình trạng kháng thuốc gây ra bởi đột biến liên quan đến tăng MIC ở mức độ thấp đối với H hoặc Mfx có thể được khắc phục bằng cách tăng liều thuốc.

Đối với H, bằng chứng in vitro cho thấy rằng khi xuất hiện đột biến tại vùng promoter inhA, thường liên quan đến tăng MIC ở mức độ thấp, (và trong trường hợp không có bất kỳ đột biến tại gene katG), việc tăng liều thuốc có thể có hiệu quả; do đó, sử dụng H với liều tối đa 15mg/kg mỗi ngày có thể được xem xét. Trong trường hợp xảy ra đột biến tại gen katG, thường liên quan đến

tăng MIC ở mức độ cao, việc sử dụng isoniazid liều cao hơn sẽ ít có hiệu quả hơn. Sự hiện diện các đột biến cả trong vùng gene promoter inhA và gen katG làm tăng đáng kể MIC, việc tăng liều điều trị là không hiệu quả (17).

Đối với Mfx, nếu đột biến liên quan đến MIC tăng trên nồng độ tới hạn (CC) nhưng dưới điểm dừng lâm sàng (CB), được xác định là đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ thấp, Mfx liều cao (lên đến 800 mg mỗi ngày cho người lớn), có khả năng có hiệu quả điều trị (18 -21). Khi kháng với Mfx được suy ra (nghĩa là không xuất hiện bằng WT đồng thời cũng không xuất hiện bằng đột biến MUT cụ thể) sự hiện diện của các đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ thấp ít nhất được suy ra và do đó, liều thuốc cao vẫn có thể có hiệu quả. Tuy nhiên, trong trường hợp này kháng sinh đồ được khuyến cáo thực hiện cho Mfx tại CB và có thể thêm giải trình tự để xác định đột biến cụ thể. Nếu chủng MTBC kháng Mfx tại CB do xuất hiện các đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao, lúc này Mfx không phải là thuốc điều trị hiệu quả.

Bất cứ khi nào có hơn một mẫu dò của mỗi thuốc cung cấp thông tin (ví dụ, phát hiện đồng thời các đột biến kháng thuốc liên quan đến các mức độ tăng MIC khác nhau), tiêu chuẩn sử dụng cho phiên giải kết quả sẽ là các đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao luôn áp đảo các đột biến tăng MIC mức độ thấp.

Tóm lại, kết quả được báo cáo dựa theo các quy tắc sau ( ">" nghĩa là áp đảo)

**Đôi với H:** Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao > Suy ra đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao > Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp > Suy ra có đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp > Không phát hiện tính kháng

**Đôi với Mfx:** Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao > Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp > Suy ra có đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp > Không phát hiện tính kháng

**Đôi với Rif, levofloxacin (Lfx), amikacin (Am), kanamycin (Km) và capreomycin (Cm):**  
Phát hiện tính kháng > Suy ra có tính kháng > Không phát hiện kháng

Tổng hợp

TH	Vùng phản ứng WT	Vùng phản ứng MUT	Phiên giải
1	Tất cả các băng WT xuất hiện	Tất cả các băng MUT không xuất hiện	Không phát hiện tính kháng
2	Một hoặc nhiều băng WT không xuất hiện	Một hoặc nhiều băng MUT tương ứng xuất hiện	Tùy từng thuốc cụ thể: – Phát hiện tính kháng (Rif, thuốc tiêm hàng 2); – Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC liều cao (H và Mfx); – Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC liều thấp ít nhất (H và Mfx).
3	Một hoặc nhiều băng WT không xuất hiện	Không có băng MUT xuất hiện	Tùy từng thuốc cụ thể: – Suy ra có tính kháng (Rif, thuốc tiêm hàng 2); – Suy ra có đột biến liên quan đến tăng MIC liều cao (H và Mfx); – Suy ra có đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC liều thấp (H và Mfx).
4	Tất cả các băng WT xuất hiện	Một băng MUT xuất hiện	Phát hiện tính kháng (do bởi kháng dị hợp); Cách phiên giải dựa theo trường hợp 2.

*Loại bỏ kết quả eis WT3*

Cho đến nay, không có băng chứng rõ ràng nào cho thấy đột biến **c-2a** trong khu vực promoter gen *eis* là chỉ thị đại diện cho kháng thuốc hợp lệ (1). Do đó, nếu mẫu dò WT3 của *eis* không xuất hiện, việc phiên giải kết quả cho Km đã được sửa đổi thành “ Không phát hiện tính kháng”.

*Phiên giải thông tin kháng cho ethionamide and prothionamide*

Các đột biến dẫn tới biểu hiện quá mức gen *inhA* được phát hiện với kỹ thuật LPA hàng 1, các đột biến này liên quan đến tính kháng chéo với thuốc ethionamide (Eto) và prothionamide (Pto) (1, 22, 23). Do đó, nếu các đột biến này được phát hiện bởi xét nghiệm LPA, *tính kháng* Eto và Pto cần được thông báo và các thuốc này không được sử dụng trong phác đồ điều trị. Tuy nhiên, cần chú ý rằng mặc dù vắng mặt các đột biến trong khu vực promoter *inhA*, *tính kháng* Eto và Pto không thể bị loại bỏ. Đột biến kháng Eto/Pto hiện diện trong genome mà không phải là mục tiêu phát hiện của kỹ thuật LPA (cụ thể *ethA*, *ethR*).

## XÉT NGHIỆM LPA PHÁT HIỆN TÍNH KHÁNG THUỐC CỦA VI KHUẨN LAO

### *Báo cáo kết quả về kanamycin và capreomycin*

WHO gần đây đã đưa ra một thông báo nhanh chóng về những thay đổi chính trong điều trị MDR và lao kháng Rif (24) thảo luận trước các khía cạnh chính của hướng dẫn mới về điều trị lao kháng đa thuốc của WHO, dự kiến được phát hành vào cuối năm 2018. Những thay đổi này dựa trên kết quả của một phân tích tổng hợp nhằm ước tính mối liên quan giữa điều trị thành công và tử vong với việc sử dụng từng loại thuốc, số lượng và thời gian điều trị tối ưu với các thuốc đó ở bệnh nhân mắc lao đa kháng thuốc (25).

Về việc sử dụng thuốc tiêm hàng 2, kết quả phân tích tổng hợp này cho thấy so với phác đồ điều trị không dùng thuốc tiêm, amikacin mang lại lợi ích khiêm tốn, trong khi kanamycin và capreomycin không mang lại lợi ích hoặc thậm chí có kết quả xấu hơn. Do đó, WHO không còn khuyến cáo sử dụng kanamycin và capreomycin, do bởi tăng nguy cơ thất bại điều trị và tái phát liên quan đến việc sử dụng chúng trong các phác đồ điều trị lao đa kháng.

Ngoài ra, các chương trình đang sử dụng phác đồ điều trị lao đa kháng rút ngắn chuẩn hóa cần thay thế kanamycin bằng amikacin mà không cần đợi đến lúc sử dụng hết kanamycin còn tồn (24).

Nhận thức được việc không thể ngay lập tức đạt được tiêu chuẩn chăm sóc mới của WHO cho từng bệnh nhân lao đa kháng, và kanamycin, capreomycin sẽ có thể được sử dụng trong suốt giai đoạn chuyển dịch, việc phiên giải kết quả LPA hàng 2 cho kanamycin và capreomycin vẫn được đưa vào tài liệu này với mục đích hướng dẫn tạm thời.

### Thực hiện chẩn đoán theo dõi bổ sung để đưa ra phác đồ điều trị thích hợp

Phụ thuộc vào vùng cụ thể được kiểm tra bởi kỹ thuật LPA hàng 1 và hàng 2, một hoặc nhiều hơn một hành động chẩn đoán theo dõi bổ sung được khuyến cáo hoặc được đề nghị tùy chọn để có định hướng hợp lý hơn trong lựa chọn phác đồ điều trị. Quyết định thực hiện các xét nghiệm chẩn đoán theo dõi thêm được hướng dẫn bởi sự xem xét dựa trên nguy cơ của từng bệnh nhân đối với kháng thuốc và bởi tỉ lệ phổ biến kháng thuốc tại địa phương, cũng như các yếu tố khác ảnh hưởng tới giá trị dự đoán dương tính của xét nghiệm

Các hành động chẩn đoán theo dõi khác nhau được khuyến cáo hoặc đề nghị tùy chọn, phụ thuộc vào loại thuốc cụ thể cần xem xét. Các hành động được tóm tắt ngắn gọn dưới đây:

#### Rifampicin (Rif):

- Nếu tính kháng được suy ra bởi thiếu liên kết của sản phẩm khuếch đại và các mẫu dò WT (nghĩa là một hoặc nhiều băng WT không xuất hiện), giải trình tự gen *rpoB* được đề nghị tùy chọn để xác định đột biến cụ thể. Việc phiên giải kết quả đột biến *rpoB* tham khảo tới tài liệu của WHO hướng dẫn kỹ thuật giải trình tự gene (3). Điều quan trọng cần lưu ý rằng xét nghiệm kháng sinh đồ môi trường lỏng không được coi là xét nghiệm xác nhận lý tưởng do bởi phương pháp này bỏ lỡ các đột biến liên quan đến thiết lập tốt tính kháng (nghĩa là các đột biến tranh chấp) (26–29).

#### Isoniazid (H):

- Nếu tính kháng được suy ra bởi thiếu liên kết của sản phẩm khuếch đại với các mẫu dò



## LỜI GIỚI THIỆU

WT của vùng gen *katG* (nghĩa là một hoặc nhiều bản WT không xuất hiện), giải trình tự gen *katG* được đề nghị như là tùy chọn để xác định đột biến cụ thể. Việc phiên giải kết quả đột biến *katG* tham khảo tới tài liệu của WHO hướng dẫn kỹ thuật giải trình tự gene (3).

- Nếu phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ thấp (nghĩa là các mẫu dò MUT được phát hiện trong vùng promoter *inhA* và không xuất hiện đột biến tại vùng *katG*), giải trình tự gene *inhA* và *katG* được đề nghị như là tùy chọn. Điều này do sự hiện diện đồng thời các đột biến khác tại vùng promoter *inhA* hoặc tại vị trí ngoài 315 tại *katG* (các đột biến không được phát hiện bởi GenoType MTBDRplus) (30,31), hiếm khi xảy ra trên thế giới nhưng có thể xảy ra thường xuyên hơn tại một khu vực địa lý nhất định, có thể gây ra việc tăng MIC bổ sung, khiến cho việc tăng liều dùng cũng không thể đưa lại hiệu quả điều trị.

Nếu đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ thấp được bởi thiếu vắng liên kết giữa sản phẩm khuếch đại với các mẫu dò WT tại vùng promoter *inhA* (và không có đột biến tại vùng gen *katG* được phát hiện), cần thực hiện lại xét nghiệm để khẳng định. Các hành động chẩn đoán theo dõi tùy chọn bao gồm giải trình tự vùng promoter *inhA* để xác định đột biến cụ thể hoặc thực hiện kháng sinh đồ kiểu hình cho H.

### Moxifloxacin (Mfx):

- Nếu phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ thấp (nghĩa là mẫu dò MUT1, MUT2, MUT3A của gen *gyrA* xuất hiện và/hoặc MUT1, MUT2 của gen *gyrB* xuất hiện), kháng sinh đồ kiểu hình cho Mfx được khuyến cáo thực hiện để loại bỏ kháng tại điểm dừng lâm sàng.
- Nếu đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ thấp được suy ra do bởi thiếu liên kết giữa sản phẩm khuếch đại với các mẫu dò WT của gen *gyrA* hoặc *gyrB* (nghĩa là bản WT không xuất hiện), kháng sinh đồ kiểu hình cho Mfx được khuyến cáo thực hiện để loại bỏ kháng tại điểm dừng lâm sàng. Các hành động theo dõi tùy chọn bao gồm giải trình tự gen *gyrA* và/hoặc *gyrB* vùng quy định tính kháng quinolones để xác định đột biến cụ thể và/hoặc để thực hiện kháng sinh đồ kiểu hình với Mfx (và/hoặc Lfx) tại nồng độ tới hạn (tùy thuộc vào khả năng của PXN)

### Amikacin (Am), kanamycin (Km),<sup>1</sup> capreomycin (Cm):<sup>1</sup>

- Nếu tính kháng được suy ra do bởi thiếu liên kết giữa sản phẩm khuếch đại và các mẫu dò WT của gene *rrs* (nghĩa là một hoặc nhiều bản WT không xuất hiện), trường hợp này được khuyến cáo lặp lại xét nghiệm để khẳng định. Nếu kết quả được xác nhận, kháng sinh đồ kiểu hình cho Am, Km, Cm cần được thực hiện để xác nhận tính kháng. Giải trình tự gen *rrs* được đề nghị tùy chọn để xác định đột biến cụ thể.

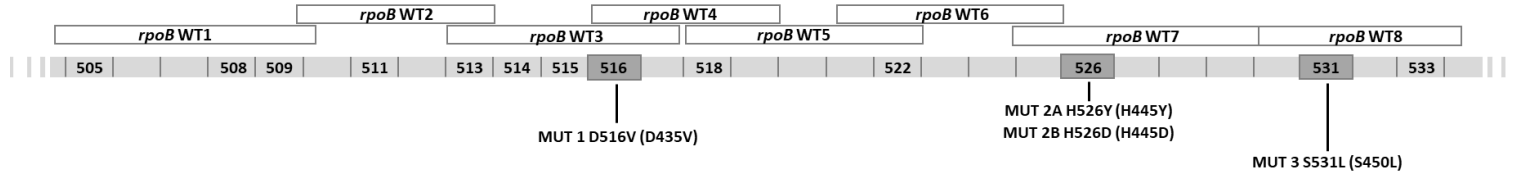
<sup>1</sup>Việc sử dụng Km và Cm trong phác đồ điều trị lao kháng Rif/lao đa kháng không còn được khuyến cáo (24). Các PXN nên tiếp tục báo cáo kết quả Cm và Km đến khi khuyến cáo này được triển khai hoàn toàn.

# Phiên giải kết quả LPA hàng 1

## Rifampicin

**Bảng 2. Vùng quy định tính kháng Rifampicin bởi GenoType MTBDRplus**

Vùng quy định tính kháng Rifampicin (RRDR) của gen *rpoB*, các codon được bao phủ bởi các mẫu dò WT và các đột biến cụ thể được nhận biết bởi các mẫu dò MUT trong bộ kit GenoType MTBDRplus Ver 2.0- thứ tự codon và acid amin tương ứng trong *E.coli* và MTB (14). Nhìn chung độ đặc hiệu của GenoType MTBDRplus Ver 2.0 cho tính kháng Rifampicin là tốt, tuy nhiên trong trường hợp nghi ngờ kết quả kháng Rifampicin, có thể thực hiện giải trình tự *rpoB* như là tiêu chuẩn vàng.



Vùng đích	Mẫu dò MTBDRplus	Đột biến hoặc vùng đích kiểm tra	Phiên giải kết quả	Xét nghiệm bổ sung <sup>a</sup>	Ý nghĩa lâm sàng
<i>rpoB</i> WT1	<i>rpoB</i> WT1 không được phát hiện	Các đột biến tại các codon 505–509 (424–428) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả
<i>rpoB</i> WT2	<i>rpoB</i> WT2 không được phát hiện	Các đột biến tại các codon 510–513 (429–432) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả
<i>rpoB</i> WT2/3	<i>rpoB</i> WT2 và WT3 không được phát hiện	Các đột biến tại các codon 510–517 (429–436) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả

Vùng đích	Mẫu dò MTBDRplus	Đột biến hoặc vùng đích kiểm tra	Phiên giải kết quả	Xét nghiệm bổ sung <sup>a</sup>	Ý nghĩa lâm sàng
<i>rpoB</i> WT3/4	<i>rpoB</i> MUT1 được phát hiện	D516V (D435V) <sup>b</sup>	Phát hiện kháng Rif	Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung	Rifampicin không hiệu quả
	<i>rpoB</i> WT3, WT4 và MUT1 <b>không được phát hiện</b>	Các đột biến tại các codon 513–519 (432–438) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả
<i>rpoB</i> WT4/5	<i>rpoB</i> WT4 và WT5 <b>không được phát hiện</b>	Các đột biến tại các codon 516–522 (435–441) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể.	Rifampicin không hiệu quả
<i>rpoB</i> WT5/6	<i>rpoB</i> WT5 và WT6 <b>không được phát hiện</b>	Các đột biến tại các codon 518–525 (437–444) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả
<i>rpoB</i> WT7	<i>rpoB</i> MUT2A được phát hiện	H526Y (H445Y) <sup>b</sup>	Phát hiện kháng Rif	Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung	Rifampicin không hiệu quả
	<i>rpoB</i> MUT2B được phát hiện	H526D (H445D) <sup>b</sup>	Phát hiện kháng Rif	Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung	Rifampicin không hiệu quả
	<i>rpoB</i> WT7, MUT2A và MUT2B <b>không được phát hiện</b>	Các đột biến tại các codon 526–529 (445–448) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả
<i>rpoB</i> WT8	<i>rpoB</i> MUT3 được phát hiện	S531L (S450L) <sup>b</sup>	Phát hiện kháng Rif	Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung	Rifampicin không hiệu quả
	<i>rpoB</i> WT8 và MUT3 <b>không được phát hiện</b>	Các đột biến tại các codon 530–533 (449–452) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng Rifampicin (Rif)	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Rifampicin không hiệu quả

<sup>a</sup> Quyết định thực hiện các hành động chẩn đoán theo dõi tùy chọn cần được hướng dẫn bởi sự xem xét yếu tố nguy cơ kháng thuốc với từng bệnh nhân và mức độ phổ biến kháng thuốc trong từng khu vực địa lý cụ thể, và các yếu tố khác ảnh hưởng tới giá trị dự báo dương tính của xét nghiệm

<sup>b</sup> MTB codon numbering according to Andre *et al* (32) is reported in parenthesis. Thứ tự codon với MTB dựa theo Andre *et al* (32) được báo cáo trong giữa dấu ngoặc đơn

## Isoniazid

Vùng đích	Mẫu dò MTBDR <sub>plus</sub>	Đột biến hoặc vùng đích kiểm tra	Phiên giải kết quả	Xét nghiệm bổ sung <sup>a</sup>	Ý nghĩa lâm sàng
<i>katG</i> WT	<i>katG</i> MUT1 hoặc MUT2 được phát hiện	S315T1 /S315T2	Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao	Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung	Isoniazid không có khả năng đem lại hiệu quả mặc dù sử dụng liều cao (17).
	<i>katG</i> WT, MUT1 và MUT2 <b>không được phát hiện<sup>b</sup></b>	Các đột biến tại codon 315	Suy ra có đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự gen <i>rpoB</i> để xác định đột biến cụ thể	Isoniazid không có khả năng đem lại hiệu quả mặc dù sử dụng liều cao (17).
<i>inhA</i> WT1	<i>inhA</i> MUT1 được phát hiện	c-15t	Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp. Phát hiện kháng với Eto/Pto	<b>Tùy chọn</b> <sup>c</sup> : Thực hiện giải trình tự vùng quy định <i>inhA</i> và gen <i>katG</i> Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung cho tính kháng Eto/Pto.	Isoniazid liều cao có khả năng có hiệu quả (17). Ethionamide/prothionamide không hiệu quả.
	<i>inhA</i> MUT2 được phát hiện	a-16g <sup>d</sup>	Phát hiện đột biến có khả năng liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp Có khả năng phát hiện kháng với Eto/Pto	<b>Tùy chọn</b> <sup>c</sup> : Thực hiện giải trình tự vùng quy định <i>inhA</i> và gen <i>katG</i> Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung cho tính kháng Eto/Pto.	Isoniazid liều cao có khả năng có hiệu quả (23). Ethionamide/prothionamide có khả năng không hiệu quả.
	<i>InhA</i> WT1, MUT1 và MUT2 <b>không được phát hiện</b>	Các đột biến tại vùng -15 <sup>d</sup>	Suy ra có đột biến có khả năng liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp Có khả năng suy ra có kháng với Eto/Pto	<b>Khuyến cáo:</b> Lặp lại xét nghiệm LPA hàng 1 để xác nhận kết quả. <b>Tùy chọn:</b> – Thực hiện giải trình tự gen để xác định đột biến cụ thể – Thực hiện kháng sinh đồ kiểu hình cho các thuốc H, Eto/Pto.	Isoniazid liều cao có khả năng có hiệu quả (23). Ethionamide/prothionamide có khả năng không hiệu quả.

Vùng đích	Mẫu dò MTBDRplus	Đột biến hoặc vùng đích được phát hiện	Phiên giải kết quả	Xét nghiệm chẩn đoán bổ sung <sup>a</sup>	Ý nghĩa lâm sàng
<i>inhA</i> WT2	<i>InhA</i> MUT3A được phát hiện	t-8c <sup>d</sup>	Phát hiện đột biến có khả năng liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp. Có khả năng phát hiện kháng với Eto/Pto	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự vùng quy định <i>inhA</i> và gen <i>katG</i> Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung cho tính kháng Eto/Pto.	Isoniazid liều cao có khả năng có hiệu quả (23). Ethionamide/prothionamide có khả năng không hiệu quả.
	<i>InhA</i> MUT3B được phát hiện	t-8a <sup>d</sup>	Phát hiện đột biến có khả năng liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp. Có khả năng phát hiện kháng với Eto/Pto	<b>Tùy chọn:</b> Thực hiện giải trình tự vùng quy định <i>inhA</i> và gen <i>katG</i> Không yêu cầu xét nghiệm bổ sung cho tính kháng Eto/Pto.	Isoniazid liều cao có khả năng có hiệu quả (23). Ethionamide/prothionamide có khả năng không hiệu quả..
	<i>InhA</i> WT2, MUT3A và MUT3B <b>không được phát hiện</b>	Mutation in the -8 region <sup>d</sup>	Suy ra có đột biến có khả năng liên quan đến tăng ít nhất MIC mức độ thấp. Có khả năng suy ra có kháng với Eto/Pto	<b>Khuyến cáo:</b> Lập lại xét nghiệm LPA hàng 1 để xác nhận kết quả. <b>Tùy chọn:</b> – Thực hiện giải trình tự gen để xác định đột biến cụ thể – Thực hiện kháng sinh đồ kiểu hình cho các thuốc H, Eto/Pto.	Isoniazid liều cao có khả năng có hiệu quả (23). Ethionamide/prothionamide có khả năng không hiệu quả.

<sup>a</sup> Quyết định thực hiện các hành động chẩn đoán theo dõi tùy chọn cần được hướng dẫn bởi sự xem xét yếu tố nguy cơ kháng thuốc với từng bệnh nhân và mức độ phổ biến kháng thuốc trong từng khu vực địa lý cụ thể, và các yếu tố khác ảnh hưởng tới giá trị dự báo dương tính của xét nghiệm

<sup>b</sup> Mất một phần hoặc hoàn toàn vùng gen *katG* liên quan đến tăng MIC mức độ cao, kết quả dẫn đến sự vắng mặt hoàn toàn của băng locus *katG* (nghĩa là băng locus, WT, MUT của *katG* đều không xuất hiện)

<sup>c</sup> Sự hiện diện đồng thời của các đột biến thêm trong vùng quy định *inhA* hoặc vị trí ngoài 315 tại gene *katG* (là các đột biến không được phát hiện bởi GenoType MTBDRplus) (30,31) là hiếm khi xảy ra trên thế giới, tuy nhiên có thể thường gặp hơn tại khu vực địa lý cụ thể, có thể dẫn đến tăng đáng kể MIC, khiến cho việc tăng liều dùng không còn hiệu quả.

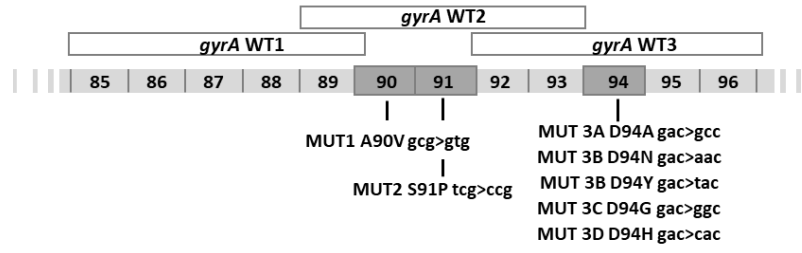
<sup>d</sup> Các số liệu bổ sung tương quan giữa các đột biến này và kháng sinh đồ kiểu hình cho Isoniazid là cần thiết để tăng độ tin cậy trong liên kết các đột biến này với tính kháng thuốc

# Phiên giải kết quả LPA Hàng Hai

## Fluoroquinolones

**Hình 3: Vùng xác định tính kháng Quinolone của gen *gyrA* được bao phủ GenoType MTBDRs/**

Vùng xác định tính kháng Quinolone (QRDR) của gen *gyrA*, các codons bao phủ bởi mẫu dò gắn với trình tự dạng đại (WT) và các đột biến đặc trưng (cả các thay đổi về nucleotide và amino acid) được nhận diện bởi mẫu dò gắn với trình tự đột biến (MUT) ở GenoType MTBDRs/ Ver 2.0 (15).



Vùng đích	Mẫu dò MTBDRs/	Đột biến hoặc vùng đột biến được phát hiện	Phiên giải kết quả	Xét nghiệm chẩn đoán bổ sung <sup>a</sup>	Ý nghĩa lâm sàng
<i>gyrA</i> WT 1	<i>gyrA</i> WT1 không được phát hiện	Codon 85–89	Suy ra có kháng với Lfx. Suy ra có đột biến liên quan với tăng ít nhất MIC của Mfx ở mức độ thấp	<p><b>Khuyến cáo:</b> thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại điểm gây lâm sàng (CB) tới loại trừ kháng</p> <p><b>Đề xuất:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Thực hiện giải trình tự vùng QRDR gen <i>gyrA</i> để xác định cụ thể đột biến</li> <li>Thực hiện KSD kiểu hình cho Lfx và Mfx tại nồng độ tiêu chuẩn (C)</li> </ul>	<p>Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể được dùng ở liều cao hơn. Có thể đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.</p> <p><b>Lưu ý:</b> Các khuyến cáo này không áp dụng nếu có kết quả giải trình tự trước khi bắt đầu điều trị xác định đột biến không liên quan đến kháng FQ hoặc nếu KSD kiểu hình cho kết quả nhạy cảm tại CC.</p>

Trình tự đích	Mẫu dò MTBDRs/	Đột biến hoặc vùng đột biến được phát hiện	Phiên giải kết quả	Hành động chẩn đoán tiếp theo <sup>a</sup>	Áp dụng lâm sàng
<i>gyrA</i> WT2	<i>gyrA</i> MUT1 được phát hiện	A90V	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC của Mfx tại nồng độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB tới loại trừ kháng	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.
	<i>gyrA</i> MUT2 được phát hiện	S91P	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC của Mfx tại nồng độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB tới loại trừ kháng	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.
	<i>gyrA</i> WT2, MUT1 and MUT2 không được phát hiện	Codon(s) 89–93	Suy ra có kháng với Lfx. Suy ra có đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC của Mfx tại nồng độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB tới loại trừ kháng <b>Đề xuất:</b> - Thực hiện giải trình tự vùng QRDR gien <i>gyrA</i> để xác định đột biến cụ thể - Thực hiện KSD kiểu hình cho Lfx và Mfx tại CC	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB. <b>Lưu ý:</b> Các khuyến cáo này không áp dụng nếu giải trình tự, xác định đột biến không liên quan đến kháng FQ hoặc nếu KSD kiểu hình cho kết quả nhạy cảm tại CC.
<i>gyrA</i> WT3	<i>gyrA</i> MUT3A được phát hiện	D94A	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC của Mfx tại nồng độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB tới loại trừ kháng	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.
	<i>gyrA</i> MUT3B được phát hiện	D94N or D94Y	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC của Mfx tại nồng độ cao	Không cần kỹ thuật chẩn đoán gì thêm	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin không hiệu quả.

Trình tự đích	Mẫu dò MTBDRs/	Đột biến hoặc vùng đột biến được phát hiện	Phiên giải kết quả	Hành động chẩn đoán tiếp theo <sup>a</sup>	Áp dụng lâm sàng
<i>gyrA</i> WT3	<i>gyrA</i> MUT3C được phát hiện	D94G	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC của Mfx tại nồng độ cao	Không cần kỹ thuật chẩn đoán gì thêm	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin không hiệu quả.
	<i>gyrA</i> MUT3D được phát hiện	D94H	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC của Mfx tại nồng độ cao	Không cần kỹ thuật chẩn đoán gì thêm	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin không hiệu quả.
	<i>gyrA</i> WT3, MUT3A, MUT3B, MUT3C, MUT3D không được phát hiện	Codon(s) 92–96	Suy ra có kháng với Lfx. Suy ra có đột biến liên quan đến tăng MIC của Mfx ít nhất tại nồng độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB tới loại trừ kháng <b>Đề xuất:</b> - Thực hiện giải trình tự vùng QRDR gen <i>gyrA</i> để xác định cụ thể đột biến  Thực hiện KSD kiểu hình cho Lfx và Mfx tại CC	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB. <b>Lưu ý:</b> Các khuyến cáo này không áp dụng nếu có kết quả giải trình tự trước khi bắt đầu điều trị xác định đột biến không liên quan đến kháng FQ hoặc nếu KSD kiểu hình cho kết quả nhạy cảm tại CC.

<sup>a</sup> Quyết định thực hiện kỹ thuật bổ sung theo đề xuất nên cân nhắc theo nhóm nguy cơ kháng và tình hình dịch tễ kháng từng khu vực địa lý, là các nhân tố ảnh hưởng đến giá trị dự báo dương tính của xét nghiệm.



Trình tự đích	Mẫu dò MTBDRs/	Đột biến hoặc vùng đột biến được phát hiện	Phiên giải kết quả	Xét nghiệm chẩn đoán bổ sung <sup>a</sup>	Áp dụng lâm sàng
<i>gyrB</i> WT	<i>gyrB</i> MUT1 được phát hiện	N538D (codon 499) <sup>b</sup>	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan với tăng ít nhất MIC của Mfx ở mức độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tới loại trừ kháng tại CB	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.
	<i>gyrB</i> MUT2 được phát hiện	E540V (codon 501) <sup>b</sup>	Phát hiện kháng với Lfx. Phát hiện đột biến liên quan với tăng ít nhất MIC của Mfx ở mức độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tới loại trừ kháng tại CB	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.
	<i>gyrB</i> WT, MUT1 and MUT2 không được phát hiện	Codon(s) 536–541 (codon 497–502) <sup>b</sup>	Suy ra có kháng với Lfx. Suy ra có đột biến liên quan với tăng ít nhất MIC của Mfx ở mức độ thấp	<b>Khuyến cáo:</b> thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tới loại trừ kháng tại CB <b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự vùng QRDR gen <i>gyrA</i> để xác định cụ thể đột biến Thực hiện KSD kiểu hình cho Lfx và Mfx tại CC	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể dùng với liều cao hơn. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB. <b>Lưu ý:</b> Các khuyến cáo này không áp dụng nếu có kết quả giải trình tự trước khi bắt đầu điều trị xác định đột biến không liên quan đến kháng FQ, hoặc nếu KSD kiểu hình cho kết quả nhạy cảm tại CC.

<sup>a</sup> Quyết định thực hiện kỹ thuật bổ sung theo đề xuất nên cân nhắc theo nhóm nguy cơ kháng và tình hình dịch tễ kháng từng khu vực địa lý, là các nhân tố ảnh hưởng đến giá trị dự báo dương tính của xét nghiệm.

<sup>b</sup> Hệ thống đánh số codon theo Camus *et al* (33).

Thuốc tiêm hàng hai<sup>a</sup>

Trình tự đích	Probe MTBDRs/	Đột biến hoặc vùng đột biến được phát hiện	Phiên giải kết quả cho Kanamycin (Km)	Phiên giải kết quả cho Amikacin (Am)	Phiên giải kết quả cho Capreomycin (Cm)	Xét nghiệm chẩn đoán bổ sung <sup>b</sup>	Ứng dụng lâm sàng
<i>rrs</i> WT1	<i>rrs</i> MUT1 được phát hiện	a1401g	Phát hiện kháng với Km.	Phát hiện kháng với Am	Phát hiện kháng với Cm	Không cần thêm kỹ thuật chẩn đoán bổ sung	Amikacin, kanamycin và capreomycin không hiệu quả
	<i>rrs</i> WT1 and MUT1 được phát hiện	Có đột biến tại vùng trình tự 1400	Suy ra có kháng với Km	Suy ra có kháng với Am <sup>c</sup>	Suy ra có kháng với Cm	<b>Khuyến cáo:</b> Repeat the Lặp lại xét nghiệm LPA hàng hai và nếu kết quả được xác nhận, thực hiện KSD kiểu hình cho Am, Km, Cm <b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự để xác định đột biến.	Kanamycin và capreomycin có khả năng không hiệu quả. Nên chọn kết quả KSD kiểu hình cho Am trong phác đồ điều trị
<i>rrs</i> WT2	<i>rrs</i> MUT2 được phát hiện	g1484t	Phát hiện kháng với Km.	Phát hiện kháng với Am	Phát hiện kháng với Cm	Không cần thêm kỹ thuật chẩn đoán bổ sung	Amikacin, kanamycin và capreomycin không hiệu quả
	<i>rrs</i> WT2 và MUT2 <b>không được phát hiện</b>	Đột biến tại vùng trình tự 1484	Suy ra có kháng với Km	Suy ra có kháng với Am	Suy ra có kháng với Cm	<b>Khuyến cáo:</b> Lặp lại xét nghiệm LPA hàng hai và nếu kết quả được xác nhận, thực hiện KSD kiểu hình cho Am, Km, Cm <b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự để xác định cụ thể đột biến.	Kanamycin và capreomycin có khả năng không hiệu quả.

Trình tự đích	Probe MTBDR <sub>s</sub> /	Đột biến hoặc vùng đột biến được phát hiện	Phiên giải kết quả cho Kanamycin (Km)	Phiên giải kết quả cho Amikacin (Am)	Phiên giải kết quả cho Capreomycin (Cm)	Hành động chẩn đoán bổ sung <sup>b</sup>	Ứng dụng lâm sàng
<i>eis</i> WT1	<i>eis</i> WT1 không được phát hiện	Đột biến tại vùng -37	Suy ra có kháng với Km	Không phát hiện kháng với Am	Không phát hiện kháng với Cm	<b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự để xác định cụ thể đột biến.	Amikacin có khả năng hiệu quả Capreomycin có khả năng hiệu quả. Kanamycin có khả năng không hiệu quả.
<i>eis</i> WT2	<i>eis</i> MUT1 được phát hiện	c-14t	Phát hiện kháng với Km.	Không phát hiện kháng với Am	Không phát hiện kháng với Cm	<b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự để xác định cụ thể đột biến.	Amikacin có khả năng hiệu quả Capreomycin có khả năng hiệu quả. Kanamycin có khả năng không hiệu quả.
	<i>eis</i> WT2 and MUT1 không được phát hiện	Đột biến trong vùng từ -10 tới -15	Suy ra có kháng với Km	Không phát hiện kháng với Am	Không phát hiện kháng với Cm	<b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự để xác định cụ thể đột biến.	Amikacin có khả năng hiệu quả Capreomycin có khả năng hiệu quả. Kanamycin có khả năng không hiệu quả.
<i>eis</i> WT3	<i>eis</i> WT3 không được phát hiện	Đột biến trong vùng từ -2 Lưu ý. Không có bằng chứng về đột biến liên quan đến tính kháng trong vùng gien đích	Không phát hiện kháng với Km.	Không phát hiện kháng với Am	Không phát hiện kháng với Cm	<b>Đề xuất:</b> Thực hiện giải trình tự để xác định cụ thể đột biến.	Amikacin có khả năng hiệu quả Capreomycin có khả năng hiệu quả Kanamycin có khả năng hiệu quả

<sup>a</sup>WHO không còn khuyến cáo sử dụng kanamycin và capreomycin do tăng nguy cơ thất bại điều trị và tái phát liên quan đến các phác đồ điều trị MDR-TB dài hạn (23). Phiên giải kết quả LPA hàng hai cho kanamycin và capreomycin trong tài liệu này nhằm cung cấp hướng dẫn tạm thời trong giai đoạn chuyển đổi.

<sup>b</sup> Quyết định thực hiện kỹ thuật bổ sung theo đề xuất nên cân nhắc theo nhóm nguy cơ kháng và tình hình dịch tễ kháng từng khu vực địa lý, là các nhân tố ảnh hưởng đến giá trị dự báo dương tính của xét nghiệm.

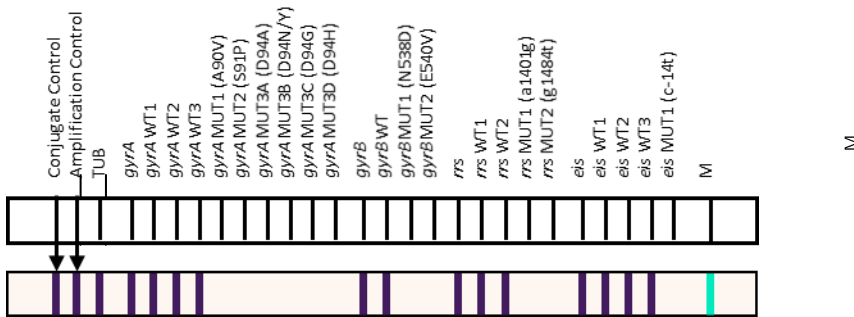
<sup>c</sup>Khi không có probe MUT nào trên vùng 1400 của gien *rrs*, không thể xác định chính xác vị trí đột biến. Do đột biến liên quan đến band này có khả năng không gây kháng với Am (cụ thể là c1402t), vẫn hướng đến đột biến kháng thuốc cho đến khi KSD kiểu hình được thực hiện và kết quả được dùng để đánh giá lại phác đồ điều trị.

# Nghiên cứu ca bệnh: Các ví dụ về đánh giá lao kháng

## TRƯỜNG HỢP 1

*Không phát hiện hoặc suy ra có đột biến kháng tại bất cứ vùng gen nào trong kỹ thuật LPA hàng hai*

Phát hiện tất cả băng WT và không phát hiện bất kỳ băng MUT nào trong LPA hàng hai



**Báo cáo kiểu gen:**

Không phát hiện kháng

**Xét nghiệm chẩn đoán bổ sung:**

**Đề xuất:**

- Thực hiện KSD kiểu hình cho Lfx tại CC (ví dụ CC: 1.0 mg/L với MGIT và 7H10) và/hoặc cho Mfx tại CC và CB (ví dụ CC: 0.25mg/L ở MGIT và 0.5mg/L ở 7H10; CB: 1.0mg/L ở MGIT và 2.0 mg/L ở 7H10).
- Thực hiện KSD kiểu hình cho thuốc tiêm hàng hai quan tâm.

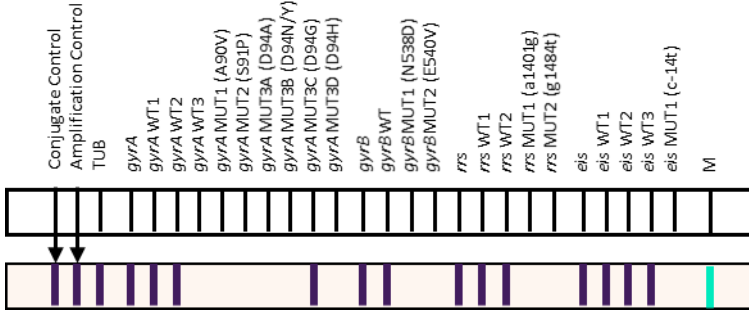
Quyết định về việc thực hiện những kỹ thuật xét nghiệm được đề xuất nên được xem xét dựa trên các yếu tố ảnh hưởng đến giá trị dự báo dương tính của xét nghiệm: nhóm nguy cơ kháng (ví dụ ưu tiên dùng cho thuốc hàng hai, nghi thất bại điều trị) và bởi tình hình lưu hành của kháng thuốc đặc thù từng khu vực địa lí

**Áp dụng lâm sàng:**

Bắt đầu điều trị MDR-TB. Xem xét phác đồ điều trị dựa trên kết quả KSD kiểu hình

## TRƯỜNG HỢP 2

Phát hiện đột biến kháng liên quan đến tăng MIC của Mfx nồng độ cao



Khi phát hiện một trong các băng MUT:

- *gyrA* MUT3C (cụ thể *gyrA* D94G) (như hình trên)
- *gyrA* MUT3D (cụ thể *gyrA* D94H)
- *gyrA* MUT3B (cụ thể *gyrA* D94N/Y)

Báo cáo kiểu gen:

Levofloxacin: phát hiện kháng

Moxifloxacin: Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC của Mfx nồng độ cao

Kỹ thuật chẩn đoán bổ sung:

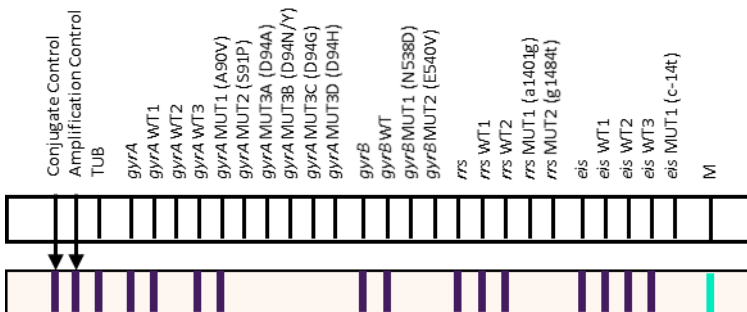
**Đề xuất: thực hiện KSD kiểu hình cho thuốc tiêm hàng hai quan tâm**

Áp dụng lâm sàng:

Mfx thậm chí tại nồng độ cao là không hiệu quả

## TRƯỜNG HỢP 3

Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC của Mfx ít nhất tại nồng độ thấp



Khi phát hiện một trong những probe MUT sau:

- *gyrA* MUT1 (cụ thể *gyrA* A90V) (see picture above asexample)
- *gyrA* MUT2 (cụ thể *gyrA*S91P)
- *gyrA* MUT3A (cụ thể *gyrA*D94A)
- *gyrB* MUT1 (cụ thể *gyrB*N538D)
- *gyrB* MUT2 (cụ thể *gyrB*E540D)

**Báo cáo kiểu gen:**

Levofloxacin: Phát hiện kháng.

Moxifloxacin: Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC của Mfx với nồng độ thấp

**Kỹ thuật chẩn đoán bổ sung:**

**Khuyến cáo:** Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB theo trường hợp 1

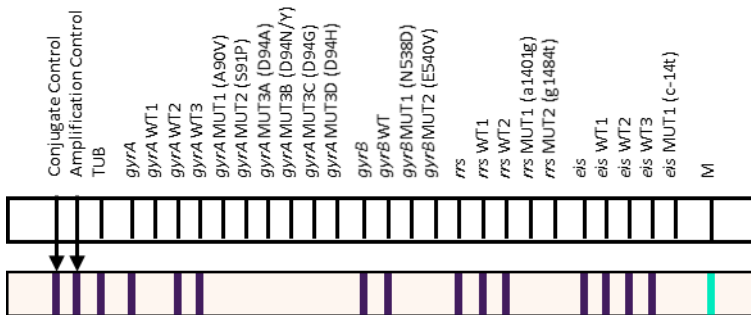
**Đề xuất:** Thực hiện KSD kiểu hình cho thuốc tiêm hàng hai quan tâm

**Áp dụng lâm sàng:**

Có thể dùng Mfx tại nồng độ cao. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.

**TRƯỜNG HỢP 4**

*Chưa xác định đột biến cụ thể, chỉ hướng đến vùng có đột biến FQ(cụ thể *gyrA* and *gyrB*)*



Khi phát hiện một trong những band WT sau:

- *gyrA* WT1 (cụ thể không xuất hiện probe WT1 gene *gyrA*) (xem ví dụ ở hình trên),
- *gyrA* WT2 (cụ thể không xuất hiện probe WT2 gene *gyrA*),
- *gyrA* WT3 (cụ thể không xuất hiện probe WT3 gene *gyrA*),
- *gyrB* WT (cụ thể không xuất hiện probe WT gene *gyrB*),

và không probe MUT của gene *gyrA* và *gyrB* nào xuất hiện.

**Báo cáo kiểu gen:**

Levofloxacin: Suy ra có tính kháng.

Moxifloxacin: Suy ra có đột biến liên quan đến tăng nồng độ MIC của

Mfx ít nhất với nồng độ thấp

**Kỹ thuật chẩn đoán bổ sung:**

**Khuyến cáo:** Thực hiện KSD kiểu hình cho Mfx tại CB theo trường hợp 1

**Đề xuất và đồng thời khuyến cáo trong một số trường hợp:**<sup>1</sup> Giải trình tự gen *gyrA* và *gyrB* để xác định đột biến kháng và loại trừ đột biến đồng nghĩa hoặc đột biến không đồng nghĩa không gây ra kháng thuốc (kết quả sai dương hệ thống) (phiên giải dựa trên trường hợp 2-4 và theo các khuyến cáo tương ứng cho KSD kiểu hình)

Nếu không thể thực hiện giải trình tự, thực hiện KSD kiểu hình tại CC cho Lffx và/ hoặc Mfx theo trường hợp 1.

**Đề xuất và đồng thời khuyến cáo trong một số trường hợp:**<sup>1</sup> Thực hiện KSD kiểu hình cho thuốc tiêm hàng 2 quan tâm.

**Áp dụng lâm sàng:**

Levofloxacin không hiệu quả.

Mfx có thể dùng tại liều cao. Nên đánh giá lại phác đồ dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.

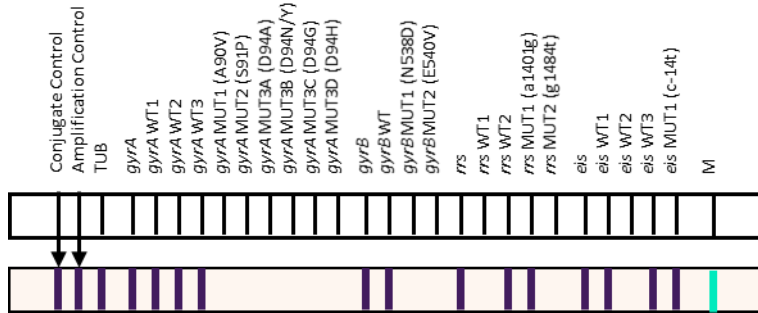
**Lưu ý.** Các khuyến cáo này không áp dụng nếu có kết quả giải trình tự trước khi khởi đầu điều trị cho thấy các đột biến không liên quan đến kháng FQ, hoặc nếu kháng sinh đồ kiểu hình cho thấy nhạy tại CC.

---

<sup>1</sup> Thiếu band của 1 probe WT đồng thời không xuất hiện probe đột biến liên quan đến tính kháng (cụ thể là đột biến G88A trên gen *gyrA*). Tuy vậy, các lỗi hệ thống có thể xảy ra do các đột biến đồng nghĩa và không đồng nghĩa. Các đột biến này tương đối hiếm trên toàn cầu (<1% isolate), nhưng các isolate này thường có tính địa phương. Không may là không thể dự đoán điều này ở những setting mà những trường hợp này thường xuyên xảy ra. Vì vậy, mỗi phòng xét nghiệm phải quyết định có cần giải trình tự vùng QRDR dựa trên dịch tễ địa phương. Ví dụ, đột biến A90G trên gen *gyrA* ngăn cản gắn probe WT2 của gen *gyrA* thường xảy ra ở Cộng hòa Congo và Cộng hòa dân chủ Congo và một đột biến đồng nghĩa tại codon 96 gen *gyrA* ngăn cản gắn WT3 gen *gyrA* thường xảy ra tại Medellin (Colombia) (9). Tại cả hai setting này, khuyến cáo thực hiện giải trình tự.

## TRƯỜNG HỢP 5

Phát hiện đột biến kháng thuốc tiêm hàng hai.



Nếu xuất hiện một trong các band MUT sau:

- *rrs* MUT1 (cụ thể *rrs* a1401g) (xem ví dụ ở hình trên)
- *rrs* MUT2 (cụ thể *rrsg*1484t)
- *eis* MUT1 (cụ thể *eisc*-14t)

### Báo cáo kiểu gen:

Trong trường hợp chỉ đột biến trên gen *rrs* hoặc đột biến cả trên *rrs* và *eis*:

- Amikacin: Phát hiện kháng
- Kanamycin: Phát hiện kháng
- Capreomycin: Phát hiện khtáng

Trong trường hợp chỉ đột biến c-14t trên *eis* :

- Amikacin: Không phát hiện kháng
- Kanamycin: Phát hiện kháng
- Capreomycin: Không phát hiện kháng

### Kỹ thuật chẩn đoán bổ sung:

**Khuyến cáo:** Thực hiện KSD kiểu hình cho các thuốc nhóm FQ theo trường hợp 1

### Áp dụng lâm sàng:

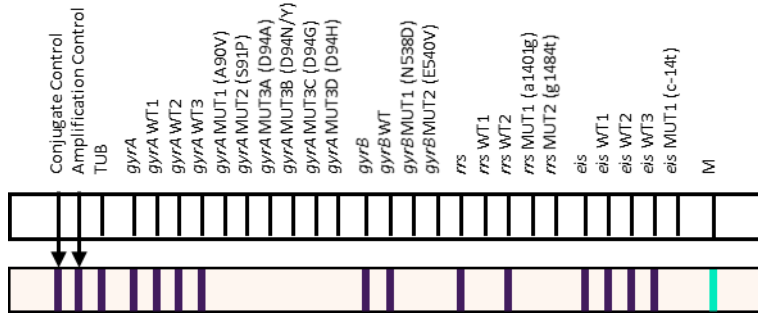
Trong trường hợp chỉ đột biến gen *rrs* hoặc đột biến cả trên *rrs* và *eis*, có khả năng kháng với thuốc tiêm hàng hai.

Trong trường hợp chỉ đột biến c-14t trên gen *eis*: sử dụng amikacin có hiệu quả.



## TRƯỜNG HỢP 6

Không rõ đột biến chính xác, chỉ suy ra có đột biến trên trình tự đích gen *rrs*



Nếu một trong các band băng không xuất hiện sau:

- *rrs* WT1 (không phát hiện probe WT1 trên gen *rrs*) (xem ví dụ ở hình trên),
- *rrs* WT2 (không phát hiện probe WT2 trên gen *rrs*),

và không xuất hiện probe MUT nào trên trình tự đích *rrs*.

### Báo cáo kiểu gen:

Trong trường hợp đột biến trên vùng 1400 của gen *rrs*:

- Amikacin: Suy ra có tính kháng <sup>1</sup>
- Kanamycin: Suy ra có tính kháng
- Capreomycin: Suy ra có tính kháng

Trong trường hợp đột biến trên vùng 1484 gen *rrs*:

- Amikacin: Suy ra có tính kháng
- Kanamycin: Suy ra có tính kháng
- Capreomycin: Suy ra có tính kháng

### Kỹ thuật chẩn đoán bổ sung:

**Khuyến cáo:** Lặp lại xét nghiệm và nếu kết quả được xác nhận, thực hiện KSD kiểu hình cho am.

**Đề xuất:** Thực hiện giải trình tự để xác định vị trí đột biến chính xác. Thực hiện KSD kiểu hình cho các thuốc FQ theo trường hợp 1.

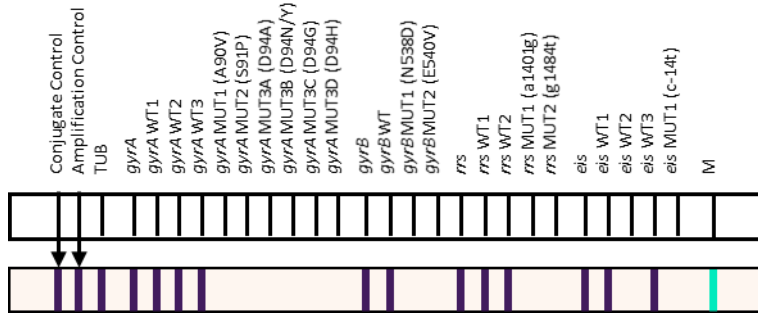
### Áp dụng lâm sàng:

Kanamycin và capreomycin có khả năng không hiệu quả.

<sup>1</sup> Khi không xuất hiện băng MUT nào trên vùng 1400 của gen *rrs*, vị trí đột biến chính xác không thể xác định. Do đột biến xảy ra liên quan đến bang này có thể không gây kháng Am (cụ thể là c1402t), vẫn suy ra có tính kháng thuốc cho đến khi thực hiện KSD kiểu hình và kết quả được dùng đánh giá lại phác đồ điều trị.

## TRƯỜNG HỢP 7

Không rõ đột biến chính xác, chỉ suy ra có đột biến trên trình tự đích gen *eis*



Nếu một trong những băng WT sau không xuất hiện:

- *eis* WT1 (không xuất hiện băng WT1 trên gen *eis*) (e.g. *eis*g-37t),
- *eis* WT2 (không xuất hiện băng WT2 trên gen *eis*) (e.g. *eis* c-12t or g-10a) xem ví dụ ở hình trên),

và không có băng MUT nào xuất hiện trên gen *eis*.

### Báo cáo kiểu gen:

Trong trường hợp suy ra có đột biến trên gen *eis* (và không có thêm đột biến nào trên trình tự đích gen *rrs*:

- Amikacin: Không phát hiện kháng
- Kanamycin: Suy ra có tính kháng
- Capreomycin: Không phát hiện kháng

### Kỹ thuật chẩn đoán bổ sung:

**Đề xuất:** Thực hiện KSD kiểu hình cho các thuốc FQ theo trường hợp 1 và cho Am và Cm.

### Áp dụng lâm sàng:

Amikacin có khả năng hiệu quả.

---

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Miotto, P et al. "A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*." *European Respiratory Journal* 50.6 (2017): 1701354.
2. World Health Organization. Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization;2018 (WHO/CDS/TB/2018.5). Licence: CC BY-NC- SA 3.0 IGO.  
[http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO\\_technical\\_report\\_concentrations\\_TB\\_drug\\_susceptibility/en/](http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_technical_report_concentrations_TB_drug_susceptibility/en/).
3. World Health Organization (2018). The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex: technical guide. Geneva: World Health Organization; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.19). Licence: CC BY-NCSA3.0 IGO.  
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274443/WHO-CDS-TB-2018.19-eng.pdf>.
4. World Health Organization. (2008). Molecular line probe assay for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. World Health Organization.  
[http://www.who.int/tb/laboratory/line\\_probe\\_assays/en/](http://www.who.int/tb/laboratory/line_probe_assays/en/).
5. Nathavitharana RR, et al. 2016. Multicenter Noninferiority Evaluation of Hain GenoType MTBDRplus Version 2 and Nipro NTM+MDRTB Line Probe Assays for Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance. *J Clin Microbiol* 54:1624-1630.
6. World Health Organization. (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin: policy update. World Health Organization. <http://www.who.int/tb/publications/molecular-test-resistance/en/>.
7. World Health Organization. (2016). The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs: policy guidance. World Health Organization.  
<http://www.who.int/iris/handle/10665/246131>.
8. GLI model TB diagnostic algorithms (revised June 2018). Global Laboratory Initiative. 2017.  
[http://stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI\\_algorithms.pdf](http://stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI_algorithms.pdf).
9. Ajileye A, et al. 2017. Some Synonymous and Nonsynonymous *gyrA* Mutations in *Mycobacterium tuberculosis* Lead to Systematic False-Positive Fluoroquinolone Resistance Results with the Hain GenoType MTBDRsl Assays. *Antimicrob Agents Chemother* 61.
10. Folkvardsen DB, et al. 2013. Can molecular methods detect 1% isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*? *J Clin Microbiol* 51:1596-9.
11. Folkvardsen DB, et al. 2013. Rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* cultures as detected by phenotypic and genotypic drug susceptibility test methods. *J Clin Microbiol* 51:4220-2.

12. Nathavitharana RR, et al. 2017. Accuracy of line probe assays for the diagnosis of pulmonary and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 49.
  13. Theron G, et al. 2016. GenoType® MTBDRsl assay for resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. *Cochrane Database Syst Rev* 9:CD010705.
  14. Hain Lifescience. GenoType MTBDRplus VER 2.0 Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* Complex and its Resistance to Rifampicin and Isoniazid from Clinical Specimens and Cultivated samples Instructions for use (June 2015).
  15. Hain Lifescience. GenoType MTBDRsl VER 2.0. Molecular Genetic Assay for Identification of the *M. tuberculosis* Complex and its Resistance to Fluoroquinolones and Aminoglycosides/Cyclic Peptides from Sputum Specimens or Cultivated Samples. Instruction for use (June 2015).
  16. Tagliani E, et al. 2015. Diagnostic Performance of the New Version (v2.0) of GenoType MTBDRsl Assay for Detection of Resistance to Fluoroquinolones and Second-Line Injectable Drugs: a Multicenter Study. *J Clin Microbiol* 53:2961–9.
  17. WHO treatment guidelines for isoniazid-resistant tuberculosis: Supplement to the WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0  
[http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO\\_guidelines\\_isoniazid\\_resistant\\_TB/en/](http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_guidelines_isoniazid_resistant_TB/en/).
  18. Technical report on the critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis (WHO/CDS/TB/2018.5) [Internet]. Geneva, World Health Organization; 2017. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260470/1/WHO-CDS-TB-2018.5-eng.pdf>
  19. Technical report on the pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis (WHO/CDS/TB/2018.6) [Internet]. Geneva, World Health Organization; 2018. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260440/1/WHO-CDS-TB-2018.6-eng.pdf>
  20. Rigouts L, et al. 2015. Specific gyrA gene mutations predict poor treatment outcome in MDR-TB. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71(2):314–23.
  21. Lange C, et al. 2018. Perspectives for personalized therapy for patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Journal of internal medicine* [Epub ahead of print].
  22. Vadwai V, et al. 2013. Can inhA mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis* 17:129–30.
  23. Vilchèze C, et al. 2014. Resistance to Isoniazid and Ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*: Genes, Mutations, and Causalities. *Microbiol Spectr* 2:MGM2-0014-2013.
  24. World Health Organization. Rapid communication: key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Licence: CC BY-NC-SA 3.0.  
[http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO\\_RapidCommunicationMDRTB.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_RapidCommunicationMDRTB.pdf).
  25. Ahmad N, et al. 2018. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. *Lancet* 392:821–834.
  26. Rigouts L, et al. 2013. Rifampin resistance missed in automated liquid culture system for *Mycobacterium tuberculosis* isolates with specific rpoB mutations. *J Clin Microbiol* 51:2641–5.
  27. Van Deun A, et al. 2013. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. *J Clin Microbiol* 51:2633–40.
-

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

---

28. Shah NS, et al. 2016. Clinical Impact on Tuberculosis Treatment Outcomes of Discordance Between Molecular and Growth-Based Assays for Rifampin Resistance, California 2003–2013. *Open Forum Infect Dis* 3:ofw150.
29. Miotto, P et al. Role of disputed mutations in the rpoB gene in the interpretation of automated liquid MGIT culture results for rifampicin susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of clinical microbiology* (2018): JCM-01599.
30. Seifert M, et al. 2015. Genetic mutations associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. *PLoS One* 10:e0119628.
31. Kandler JL, et al. 2018. Validation of Novel *Mycobacterium tuberculosis* Isoniazid Resistance Mutations Not Detectable by Common Molecular Tests. *Antimicrob Agents Chemother* 62.
32. Andre E, et al. 2017. Consensus numbering system for the rifampicin resistance-associated rpoB gene mutations in pathogenic mycobacteria. *Clin Microbiol Infect* 23:167–172.
33. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.



# Phụ lục 1

## Mẫu báo cáo xét nghiệm LPA hàng 1

Lưu ý mục "Kết luận" sẽ không bao gồm trong báo cáo của phòng xét nghiệm.

### Ví dụ 1

Thuốc	Gen	Đột biến	Phiên giải	Kết luận
Rif <sup>a</sup>	<i>rpoB</i>	H526Y	Phát hiện kháng Rif	Thuốc Rifampicin sẽ không có hiệu quả
H <sup>a</sup>	<i>katG</i>	Đột biến vùng codon 315	Suy ra có đột biến liên quan đến tăng MIC ở nồng độ cao	Isoniazid dường như không có hiệu quả ngay cả khi dùng liều cao.
	<i>inhA</i>	t-8a		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	t-8a	Có thể phát hiện kháng với Eto/Pto	Ethionamide and prothionamide có khả năng không hiệu quả

### Ví dụ 2

Thuốc	Gene	Đột biến	Phiên giải	Kết luận
Rif	<i>rpoB</i>	Không có đột biến phát hiện	Không phát hiện kháng RIF	Thuốc Rifampicin sẽ có hiệu quả
H <sup>a</sup>	<i>katG</i>	S315T	Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC ở nồng độ cao	Isoniazid không có hiệu quả ngay cả khi dùng liều cao.
	<i>inhA</i>	c-15t		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	c-15t	Phát hiện kháng với Eto/Pto	Ethionamide và prothionamide không hiệu quả

### Ví dụ 3

Thuốc	Gene	Đột biến	Phiên giải	Kết luận
Rif	<i>rpoB</i>	Đột biến codon 516-522(435-441)	Suy ra có kháng với Rif	Thuốc Rifampicin không có hiệu quả
H	<i>katG</i>	Không đột biến nào được phát hiện	Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất nồng độ MIC ở mức thấp nhất	Isoniazid ở liều cao có thể hiệu quả.
	<i>inhA</i>	t-8c		
Eto/Pto	<i>inhA</i>	t-8c	Phát hiện kháng với Eto/Pto.	Ethionamide and prothionamide có khả năng không hiệu quả

<sup>a</sup> Nếu có nhiều hơn một mẫu dò của mỗi loại thuốc cho kết quả thì báo cáo sẽ được phiên giải theo hệ thống phân cấp sau (trong đó dấu ">" có nghĩa là "áp đảo"):

Đối với H: Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC ở nồng độ cao > Suy ra có đột biến liên quan đến tăng MIC ở nồng độ cao > Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC ở mức độ thấp nhất > Suy ra có đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC ở mức độ thấp > Không phát hiện tính kháng

Đối với Rif: Phát hiện kháng > Suy ra có kháng > Không phát hiện kháng

## Phụ lục 2.

### Mẫu báo cáo xét nghiệm LPA hàng 2

.Lưu ý mục “Kết luận” sẽ không bao gồm trong báo cáo của phòng xét nghiệm.

#### Ví dụ 1

Thuốc	Gen	Đột biến	Phiên giải	Kết luận	
Lfx <sup>a</sup>	<i>gyrA</i>	D94A	Phát hiện kháng với Lfx	Levofloxacin không có hiệu quả Moxifloxacin có thể sử dụng ở liều cao hơn. Phác đồ nên được đánh giá lại dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB.	
	<i>gyrB</i>	Không có đột biến			
Mfx <sup>a</sup>	<i>gyrA</i>	D94A	Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC ở nồng độ thấp với Mfx		
	<i>gyrB</i>	No mutation			
Km <sup>a</sup>	<i>rrs</i>	a1401g	Phát hiện kháng với Km		Kanamycin không có hiệu quả. Amikacin không có hiệu quả Capreomycin không có hiệu quả.
	<i>eis</i> promoter	Đột biến tại vùng -10 đến -15			
Am	<i>rrs</i>	a1401g	Phát hiện kháng với Am		
Cm	<i>rrs</i>	a1401g	Phát hiện kháng với Cm		

#### Ví dụ 2

Thuốc	Gene	Đột biến	Phiên giải	Kết luận
Lfx	<i>gyrA</i>	A90V	Phát hiện kháng với Lfx	Levofloxacin không có hiệu quả. Moxifloxacin có thể sử dụng ở liều cao hơn. Phác đồ nên được đánh giá lại dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB..
	<i>gyrB</i>	Không có đột biến		
Mfx	<i>gyrA</i>	A90V	Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất nồng độ MIC ở mức thấp với Mfx	
	<i>gyrB</i>	Không có đột biến		
Km	<i>rrs</i>	No mutation	Suy ra kháng với Km	Kanamycin không có hiệu quả. Amikacin có hiệu quả Capreomycin có hiệu quả
	<i>eis</i> promoter	Đột biến tại vùng 37		
Am	<i>rrs</i>	Không có đột biến	Không phát hiện kháng với Am	
Cm	<i>rrs</i>	Không có đột biến	Không phát hiện kháng với Cm	



### Ví dụ 3

Thuốc	Gene	Đột biến	Phiên giải	Kết luận
Lfx	<i>gyrA</i>	Đột biến tại codon 89–93	Suy ra kháng với Lfx	Levofloxacin không hiệu quả. Moxifloxacin có thể sử dụng ở liều cao hơn. Phác đồ nên được đánh giá lại dựa trên kết quả KSD kiểu hình tại CB..
	<i>gyrB</i>	No mutation		
Mfx	<i>gyrA</i>	Đột biến tại codon 89-93	Suy ra đột biến liên quan đến tăng ít nhất nồng độ MIC ở mức thấp với Mfx	<b>Lưu ý.</b> Những khuyến nghị này không áp dụng nếu giải trình tự trước khi bắt đầu điều trị, xác định các đột biến không liên quan đến kháng FQ hoặc nếu KSD kiểu hình cho thấy nhạy tại CC.
	<i>gyrB</i>	Không có đột biến		
Km	<i>rrs</i>	Không có đột biến	Không phát hiện kháng với Km	Kanamycin không có hiệu quả Amikacin có hiệu quả Capreomycin có hiệu quả
	<i>eis</i> promoter	Đột biến tại vùng 2		
Am	<i>rrs</i>	Không có đột biến	Không phát hiện kháng với Km	
Cm	<i>rrs</i>	Không có đột biến	Không phát hiện kháng Cm	

<sup>a</sup> Nếu có nhiều hơn một mẫu dò của mỗi loại thuốc cung cấp thông tin, kết quả sẽ được báo cáo theo hệ thống phân cấp sau (trong đó dấu ">" có nghĩa là "áp đảo"):

*Đối với Lfx, Am, Km, Cm:* Phát hiện tính kháng > Suy ra kháng > Không phát hiện kháng.

*Đối với Mfx:* Phát hiện đột biến liên quan đến tăng MIC mức độ cao > Phát hiện đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC ở nồng độ thấp > Suy ra đột biến liên quan đến tăng ít nhất MIC ở nồng độ thấp > Không phát hiện kháng.

### Phụ lục 3.

## Sự thay đổi của các nucleotide cụ thể được phát hiện bởi các mẫu dò MUT

Lưu ý rằng một số thay đổi axit amin (AA) được xác định bởi xét nghiệm LPA hàng 1 và hàng 2 là do thay đổi nucleotide không được xác định cụ thể bởi các mẫu dò MUT. Chẳng hạn, đột biến *gyrA* A90V gây ra có thể bởi sự thay đổi của 2 nucleotide đó là (i) gcg> gtg hoặc (ii) gcg> gtc. Tuy nhiên, chỉ có sự thay đổi nucleotide trước đây (gcg> gtg) sẽ được nhận ra bởi mẫu dò *gyrA* MUT1, trong khi sự thay đổi sau đó (gcg> gtc) sẽ chỉ được phát hiện khi không có *gyrA* WT2 (tức là *gyrA* WT2 không được phát hiện).

	<b>Mẫu dò MUT</b>	<b>Thay đổi AA</b>	<b>Thay đổi Nucleotide</b>
Mẫu dò <i>rpoB</i> MUT	MUT1	D516V (D435V)	gac>gtc
	MUT2A	H526Y (H445Y)	cac> tac
	MUT2B	H526D (H445D)	cac> gac
	MUT3	S531L (S450L)	tcg>ttg

	<b>Mẫu dò MUT</b>	<b>Thay đổi AA</b>	<b>Thay đổi Nucleotide</b>
Mẫu dò <i>katG</i> MUT	MUT1	S315T	agc>acc
	MUT2	S315T	agc>aca

	<b>Mẫu dò MUT</b>	<b>Thay đổi AA</b>	<b>Thay đổi Nucleotide</b>
Mẫu dò <i>gyrA</i> MUT	MUT1	A90V	gcg>gtg
	MUT2	S91P	tcg>ccg
	MUT3A	D94A	gac>gcc
	MUT3B	D94N	gac>aac
	MUT3B	D94Y	gac>tac
	MUT3C	D94G	gac>ggc
	MUT3D	D94H	gac>cac

	<b>Mẫu dò MUT</b>	<b>Thay đổi AA</b>	<b>Thay đổi Nucleotide</b>
Mẫu dò <i>gyrB</i> MUT	MUT1	N538D (N499D)	aac>gac
	MUT2	E540V (E501V)	gaa>gta



[www.stoptb.org/wg/gli](http://www.stoptb.org/wg/gli)