# การดื้อยาไพราซินาไมด์ของเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนานในสถาบันโรคทรวงอก ประเทศไทย
# Pyrazinamide resistance among multidrug resistant tuberculosis isolates in the Central Chest Institute of Thailand

วราภรณ์ เถื่อนสุวรรณ[1]
w.thuansuwan@gmail.com
นันทรี ชัยชนะวงศาโรจน์[2]
Nuntaree.c@chula.ac.th
เจริญ ชูโชติถาวร[3]
charojnj@hotmail.com
[1]นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ระดับโมเลกุลทางจุลชีววิทยาทางการแพทย์และวิทยาภูมิคุ้มกัน ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3]กลุ่มงานอายุรศาสตร์ปอด สถาบันโรคทรวงอก

**บทคัดย่อ**

ยา Pyrazinamide (PZA) เป็นยาวัณโรคแนวที่ 1 ที่สำคัญที่แนะนำให้ใช้เป็นยาหลักร่วมกับยาชนิดอื่นในการรักษาวัณโรคที่ไวต่อยาและวัณโรคดื้อยา เนื่องจากมีคุณสมบัติ sterilizing activity ช่วยลดระยะเวลาการรักษาและลดอัตราการกลับเป็นโรคซ้ำ อย่างไรก็ตามข้อมูลอัตราการดื้อยา Pyrazinamide ทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยยังมีไม่มากนัก การศึกษานี้มุ่งศึกษาอัตราการดื้อยา Pyrazinamide ในเชื้อวัณโรคดื้อยาทั้งหมด 150 สายพันธุ์ ที่เพาะแยกได้จากเสมหะผู้ป่วยในสถาบันโรคทรวงอก ระหว่างปี พ.ศ. 2558 ถึง พ.ศ. 2561 ด้วยวิธีมาตรฐาน BACTEC MGIT 960 PZA kit ผลการศึกษาพบวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (Multi-drug resistant TB: MDR-TB) 78.67% วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง (Pre-extensive drug resistant TB: Pre-XDR-TB) 17.33% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก (Extensive drug resistant TB: XDR-TB) 4% ในจำนวนทั้งหมดพบเชื้อดื้อต่อยา Pyrazinamide จำนวน 31.33% และเชื้อไวต่อยา Pyrazinamide จำนวน 68.67% โดยพบอัตราการดื้อยา Pyrazinamide มากขึ้นในเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก ดังนั้นในภูมิภาคที่มีการระบาดของเชื้อดื้อยาสูง ควรมีการทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ของเชื้อวัณโรคในผู้ป่วยทุกราย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกสูตรยาที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย

**คำสำคัญ:** วัณโรค, ไพราซินาไมด์, การทดสอบความไวต่อยา

**Abstract**

Pyrazinamide (PZA) is important first-line anti-tuberculosis drug which recommended as critical regimen for most TB drug combinations to treat both drug-susceptible and drug-resistant TB. Because its sterilizing activity that helps to shorten the duration of treatment and reduces the relapse rates. However, there are a few data on prevalence of Pyrazinamide resistance worldwide including Thailand. In this study, we determined the Pyrazinamide resistance among 150 drug-resistant tuberculosis isolates from the Central Chest Institute of Thailand during 2015-2018 by the BACTEC MGIT 960 PZA kit. The results revealed 78.67% of multi-drug resistance, 17.33% of pre-extensive drug resistance and 4% of extensive drug resistance. Among 150 isolates, 31.33% was PZA-resistance and 68.67% was PZA-susceptible with increased resistance rate in extensive drug resistance. Therefore, in regions with high rate of drug-resistant tuberculosis, the Pyrazinamide susceptibility testing should be performed in all cases which will be beneficial in selecting an appropriate treatment for tuberculosis patients.

**คำสำคัญ:** Tuberculosis, Pyrazinamide, drug susceptibility testing

**บทนำ**

วัณโรคดื้อยา (drug resistant tuberculosis, DR-TB) โดยเฉพาะวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB) เป็นโรคอุบัติซ้ำ (Re–emerging disease) ที่เป็นภัยคุกคามต่อสาธารณสุขทั่วโลก องค์การอนามัยโรคได้รายงานว่าแต่ละปีจะมีผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหลายขนานทั่วโลกประมาณ 480,000 ราย และในประเทศไทยมีการประมาณว่าจะมีผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหลายขนานจำนวน 4,000 รายในปี พ.ศ. 2561 (1) การรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ทำได้ยากและต้องใช้ค่าใช้จ่ายในการรักษาสูงกว่าวัณโรคไวต่อยาหลายเท่า ผู้ป่วยมีโอกาสรักษาหายเพียงร้อยละ 50 เนื่องจากผลข้างเคียงของยามีมาก ในมาตรฐานการรักษาวัณโรคดื้อยาหลายขนานตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก แนะนำให้ใช้ยาที่เชื้อวัณโรคไวต่อยาอย่างน้อย 4 ตัวในการรักษา โดยยาไพราซินาไมด์ (Pyrazinamide) เป็นหนึ่งในยารักษาวัณโรคแนวที่ 1 ที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาวัณโรคทั้งที่ไวและดื้อต่อยา เนื่องจากสามารถออกฤทธิ์ทำลายได้ทั้งเชื้อวัณโรคที่มีเมแทบอลิซึมตลอดเวลาและเชื้อวัณโรคที่ไม่ค่อยเจริญแบ่งตัว (semi dormant bacilli) ในเซลล์ macrophage ซึ่งไม่ตอบสนองกับยารักษาวัณโรคตัวอื่น ๆ ในการกำจัดทำลายเชื้อวัณโรคให้หมดจากร่างกาย ซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการรักษาผู้ป่วยลงจาก 9 ถึง 12 เดือนเหลือเพียง 6 เดือนและช่วยลดโอกาสกลับมาเป็นโรคซ้ำ (2) โดยกลไกการออกฤทธิ์ของยายังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าเมื่อยาแพร่เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียแล้วเอนไซม์ Pyrazinamidase (PZase) ที่สร้างขึ้นจากเชื้อวัณโรคจะเปลี่ยนยาเป็น Pyrazinoic acid (POA) ที่สามารถไปยับยั้งกระบวนการต่าง ๆ ที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของเชื้อ โดยพบว่าเชื้อวัณโรคที่ดื้อต่อยา Pyrazinamide ส่วนใหญ่ร้อยละ 70 ถึง 97 จะพบการกลายพันธุ์บริเวณยีน *pncA* ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ Pyrazinamidase โดยมีการคาดการณ์อุบัติการณ์ของการดื้อยา Pyrazinamide อยู่ที่ประมาณ 16.2% ใน

ผู้ป่วยวัณโรคทั้งหมด และพบได้ 41.3% ในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงต่อการดื้อยาและพบได้ 60.5% ในผู้ป่วย MDR-TB ซึ่งมีอุบัติการณ์แตกต่างกันในแต่ละภูมิภาค (5) การทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ในปัจจุบันสามารถทำได้หลายวิธี โดยวิธีมาตรฐาน คือ การทดสอบด้วย BACTEC MGIT PZA kit สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาการดื้อต่อยา Pyrazinamide เพียง 1 การศึกษาจากโรงพยาบาลศิริราช โดยพบว่าเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนานมีอัตราการดื้อยา Pyrazinamide สูงถึง 49.6% (3) อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษายืนยันอัตราการดื้อยา Pyrazinamide ในสถาบันอื่น ๆ โดยเฉพาะสถาบันโรคทรวงอกซึ่งเป็นสถาบันหลักในการรักษาวัณโรคดื้อยาหลายขนานและเป็นสถาบันเดียวที่มีคลินิกวัณโรคดื้อยาและรับส่งต่อผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาจากโรงพยาบาลอื่น ๆ ทำให้ขาดข้อมูลอัตราการดื้อต่อยา Pyrazinamide จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงอัตราความชุกของการดื้อยา Pyrazinamide ของเชื้อวัณโรคดื้อยาในผู้ป่วยของสถาบันโรคทรวงอก เพื่อสามารถใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการดื้อยา Pyrazinamide และใช้เป็นแนวทางในการเลือกสูตรยาที่เหมาะสมในการรักษาวัณโรคดื้อยาหลายขนานและสามารถลดโอกาสการเกิดเชื้อดื้อยาจากการได้รับยาที่ไม่เหมาะสมหรือไม่เพียงพอ

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

เพื่อศึกษาหาความชุกของการดื้อยา Pyrazinamide ในผู้ป่วยวัณโรคดื้อยาหายขนานของสถาบันโรคทรวงอก

**ขอบเขตการวิจัย**

ทำการศึกษาในเชื้อวัณโรคดื้อยาจำนวนทั้งสิ้น 150 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างเชื้อทั้งหมดเพาะแยกได้จากเสมหะผู้ป่วยในสถาบันโรคทรวงอก กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย ที่ผ่านการวินิจฉัยว่าเป็นเชื้อในกลุ่ม *M. tuberculosis* complex และได้รับการวินิจฉัยเป็นเชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) ด้วยวิธี Absolute concentration ในยา Isoniazid ยา Rifampicin ยา Ethambutol ยา Streptomycin ยา Kanamycin ยา Ofloxacin ยา Levofloxacin และยา Moxifloxacin ทำการเก็บเชื้อดังกล่าวตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558 ถึง พ.ศ. 2561 เชื้อทุกสายพันธุ์นำมาทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ด้วยวิธีมาตรฐาน BACTEC MGIT960 PZA kit

**วิธีดำเนินการวิจัย**

**1. ตัวอย่างเชื้อวัณโรค**

งานวิจัยนี้ใช้เชื้อวัณโรคที่เพาะแยกได้จากเสมหะผู้ป่วยในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันโรคทรวงอก จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย จำนวน 150 ตัวอย่าง ตั้งแต่ปี 2558 ถึง 2561 กำหนดระดับความเชื่อมั่นของการวิจัยและคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ โดยอาศัยข้อมูลงานวิจัยก่อนหน้าร่วมกับการคำนวณจากสูตรของ N.M. Buderer (7) เชื้อควบคุมบวก คือ *Mycobacterium bovis* BCG ATCC 37534 เชื้อควบคุมลบ คือ *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 ทำการ

เพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคและเชื้อควบคุมบนอาหาร Löwenstein-Jensen บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 ถึง 4 สัปดาห์

**2. การแยกชนิดของเชื้อ *M. tuberculosis* โดยการทดสอบทางชีวเคมี**

การเพาะแยกชนิดของเชื้อ *M. tuberculosis* จากเสมหะผู้ป่วยออกจากเชื้อในกลุ่ม *M. tuberculosis* complex (MTBC) ตัวอื่น ๆ โดยทำการทดสอบทางชีวเคมี ดังนี้ Niacin test และ Nitrate reduction test เก็บรักษาเชื้อที่ -80 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Middlebrook 7H9 ผสมกลีเซอรอล 50 เปอร์เซ็นต์

**3. การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อวัณโรค**

นำเชื้อ *M. tuberculosis* ที่แยกได้จากเสมหะผู้ป่วยมาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี Absolute concentration กับยาดังนี้ ยา Isoniazid ความเข้มข้น 0.2 และ 1 µg/mL ยา Rifampicin ความเข้มข้น 40 µg/mL ยา Ethambutol ความเข้มข้น 2 µg/mL ยา Streptomycin ความเข้มข้น 4 µg/mL ยา Kanamycin ความเข้มข้น 30 µg/mL ยา Ofloxacin ความเข้มข้น 2 µg/mL ยา Levofloxacin ความเข้มข้น 2 µg/mL และยา Moxifloxacin ความเข้มข้น 0.75 µg/mL หากเชื้อสามารถเจริญเติบโตบนอาหารที่มียามากกว่า 20 โคโลนีขึ้นไป แสดงว่าเชื้อดื้อต่อยาต้านวัณโรคชนิดนั้น ๆ

**4. การทดสอบการดื้อต่อยา Pyrazinamide ของเชื้อวัณโรคด้วยวิธีมาตรฐาน โดยใช้ BACTEC MGIT 960 PZA kit**

ทำการทดสอบและแปลผลการทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ตามคู่มือ BD Technical LABORATORY PROCEDURE BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Kit ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้ นำเชื้อวัณโรคที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีอายุ 3 ถึง 4 สัปดาห์ ใส่ในหลอดน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปรับความขุ่นให้ได้มากกว่าความขุ่นมาตรฐาน 0.5 McFarland จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่น 5 เท่า เพื่อเตรียมเป็น AST inoculum ก่อนทำการทดสอบเตรียมหลอด MGIT tube จำนวน 2 หลอด (Growth control และ PZA test) ในแต่ละหลอดประกอบด้วย fluorescent indicator และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Modified Middlebrook 7H9 broth ก่อนทำการทดสอบต้องเติม PZA Supplement ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ลงทั้งสองหลอด จากนั้นเติมยา PZA (8000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอด PZA จะทำให้ได้ความเข้มข้นของยาเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในหลอด PZA เติมเชื้อ AST inoculum ลงไป 0.5 มิลลิลิตร และ Growth Control เติมเชื้อที่ได้จากการเจือจาง AST inoculum ในอัตราส่วน 1:10 ลงไป 0.5 มิลลิลิตร นำไปใส่เครื่อง BACTEC MGIT 960 เครื่องจะทำการตรวจวัดการเปล่งแสงของสารฟลูออเรสเซนต์ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตในทุก ๆ 60 นาที โดยเครื่องจะทำการแปลผลและรายงานผลเมื่อหลอดควบคุมมีค่า Growth unit มากกว่า 400 หากในหลอดที่มียา PZA มีค่า Growth unit มากกว่าหรือเท่ากับ 100 เครื่องจะรายงานเป็น Resistance ในขณะที่ถ้าวัด Growth unit ได้น้อยกว่า 100 จะรายงานว่า Susceptible

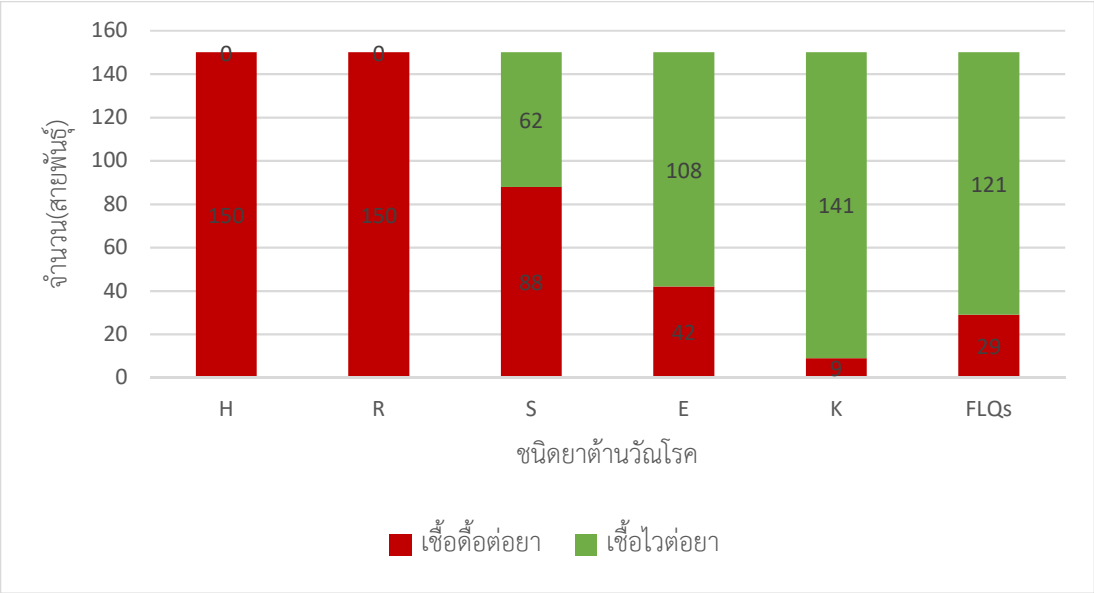
**5. การวิเคราะห์ข้อมูล**

ใช้สถิติเชิงพรรณนา ในการวิเคราะห์ร้อยละการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด และ ร้อยละของเชื้อวัณโรคดื้อยาแต่ละประเภท

**ผลการวิจัย**

**1. รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อวัณโรค**

การทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรค จำนวน 150 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Absolute concentration พบว่าเชื้อวัณโรคทั้งหมด 150 สายพันธุ์ดื้อต่อยา Isoniazid และ ยา Rifampicin คิดเป็น 100% ดื้อต่อยา Streptomycin จำนวน 88 สายพันธุ์ คิดเป็น 58.67% ของเชื้อทั้งหมด ดื้อต่อยา Ethambutol จำนวน 42 สายพันธุ์ คิดเป็น 28% ของเชื้อทั้งหมด ดื้อต่อยา Kanamycin จำนวน 9 สายพันธุ์ คิดเป็น 6% ของเชื้อทั้งหมด และดื้อต่อยาในกลุ่ม Fluoroquinolones (FLQs) ได้แก่ ยา Ofloxacin, ยา Moxifloxacin หรือยา Levofloxacin จำนวน 29 สายพันธุ์ คิดเป็น 19.33 % ของเชื้อทั้งหมด (ภาพที่ 1)




*หมายเหตุ: H หมายถึงยา Isoniazid, R หมายถึงยา Rifampicin, S หมายถึงยา Streptomycin, E หมายถึงยา Ethambutol, K หมายถึงยา Kanamycin, FQs หมายถึงยากลุ่ม Fluoroquinolone ได้แก่ ยา Ofloxacin ยา Levofloxacin และยา Moxifloxacin

ภาพที่ 1 แสดงจำนวนสายพันธุ์ที่ดื้อและไวต่อยาต้านวัณโรคแต่ละชนิด

เชื้อวัณโรคดื้อยาทั้งหมด 150 สายพันธุ์ที่เพาะแยกได้จากเสมหะผู้ป่วยในสถาบันโรคทรวงอกเป็นเชื้อดื้อยาหลายขนาน ที่ดื้อต่อยา Isoniazid และยา Rifampicin พร้อมกัน มีจำนวน 118 สายพันธุ์ คิดเป็น 78.67% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด เชื้อดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง คือเชื้อ MDR-TB ที่ดื้อยารักษาวัณโรคในกลุ่ม Fluoroquinolones หรือยากลุ่ม Second-line injectable drugs (SLIs) อย่างใดอย่างหนึ่ง มีจำนวน 26 สายพันธุ์ คิดเป็น 17.33% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด ในขณะที่เชื้ออีก 6 สายพันธุ์เป็นเชื้อวัณโรคดื้อยาชนิดรุนแรงมาก คือเชื้อ MDR-TB ที่ดื้อยารักษาวัณโรคในกลุ่ม FQs และ SLIs คิดเป็น 4% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 2)

ตารางที่ 1 รูปแบบการดื้อยาต้านวัณโรคของเชื้อ *M. tuberculosis* ทั้งหมด 150 สายพันธุ์ซึ่งทดสอบด้วยวิธี Absolute concentration

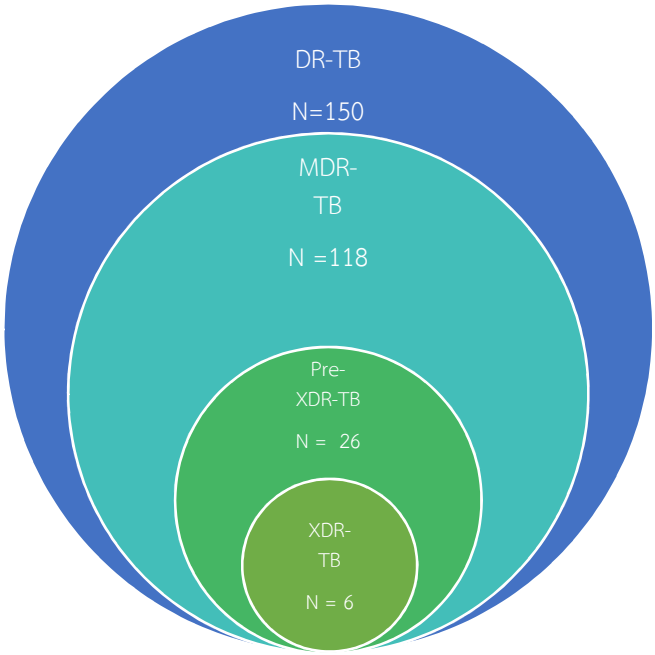
| ประเภทวัณโรคดื้อยา | รูปแบบการดื้อยาต้านวัณโรคเมื่อทดสอบด้วยวิธี Absolute concentration | รวม (สายพันธุ์) |
|---|---|---|
| **วัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB)* ทั้งหมด 118 สายพันธุ์** | HR | 43 |
| | SHR | 49 |
| | HRE | 8 |
| | SHRE | 18 |
| **วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง (Pre-XDR-TB)* ทั้งหมด 26 สายพันธุ์** | HR FQs | 3 |
| | SHR FQs | 9 |
| | HRE FQs | 4 |
| | SHRE FQs | 7 |
| | HREK | 1 |
| | SHRK | 2 |
| **วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก (XDR-TB)* ทั้งหมด 6 สายพันธุ์** | HRK FQs | 1 |
| | SHRK FQs | 1 |
| | HREK FQs | 2 |
| | SHREK FQs | 2 |
| **เชื้อวัณโรคดื้อยา (Drug resistant TB : DR-TB)** | | **150** |

หมายเหตุ : H หมายถึงยา Isoniazid, R หมายถึงยา Rifampicin, E หมายถึงยา Ethambutol, S หมายถึงยา Streptomycin, K หมายถึงยา Kanamycin, FQs หมายถึงยากลุ่ม Fluoroquinolone ได้แก่ ยา Ofloxacin ยา Levofloxacin และยา Moxifloxacin

* วัณโรคดื้อยาหลายขนาน Multi-drug resistant TB (MDR-TB) หมายถึง เชื้อวัณโรคที่ดื้อยา H และยา R พร้อมกันและอาจจะดื้อต่อยาขนานอื่น ๆ ด้วยก็ได้

* วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง Pre-extensive drug resistant TB (Pre-XDR-TB) หมายถึง เชื้อ MDR-TB ที่ดื้อยารักษาวัณโรคในกลุ่ม FQs หรือ second-line injectable drugs (SLIs) ได้แก่ kanamycin, amikacin และ capreomycin อย่างใดอย่างหนึ่ง

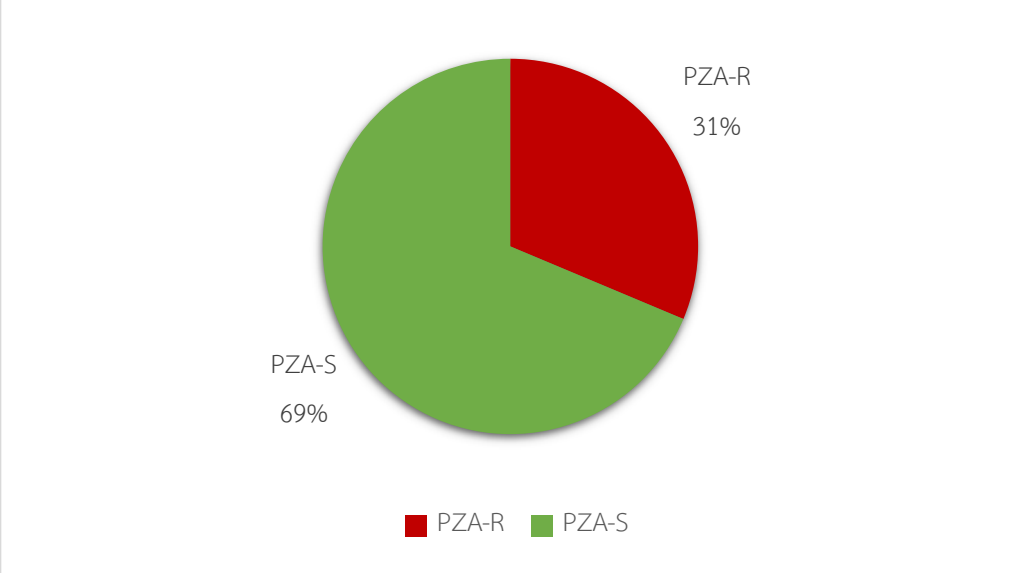
* วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก Extensive drug resistant TB (XDR-TB) หมายถึง เชื้อ MDR-TB ที่ดื้อยารักษาวัณโรคในกลุ่ม FQs และ SLIs




ภาพที่ 2 แสดงจำนวนเชื้อวัณโรคดื้อยาแต่ละประเภทที่เพาะแยกได้จากเสมหะผู้ป่วยในสถาบันโรคทรวงอก

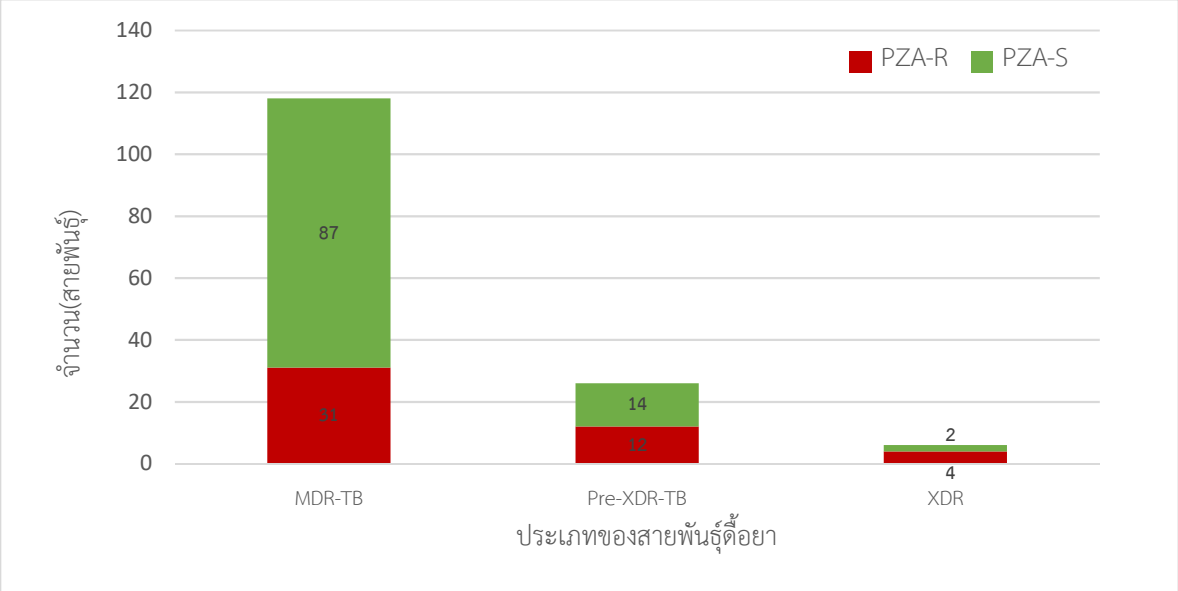
**2. ความไวต่อยา Pyrazinamide เมื่อทดสอบด้วย BACTEC MGIT 960 PZA Kit**

เชื้อ *M. tuberculosis* ทั้งหมด 150 สายพันธุ์ ถูกนำมาทดสอบและแปลผลการทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide (PZA) ด้วยวิธี BACTEC MGIT 960 PZA Kit โดยมีเชื้อ *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 ที่ไวต่อยา Pyrazinamide เป็นตัวควบคุมลบ และเชื้อ *M. bovis* BCG ATCC 37534 ที่ดื้อต่อยา Pyrazinamide เป็นตัวควบคุมบวก ความเข้มข้นวิกฤตของยา Pyrazinamide ที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 100 µg/mL พบว่าเชื้อ *M. tuberculosis* ทั้งหมด 150 สายพันธุ์ ให้ผลการทดสอบดื้อต่อยา Pyrazinamide (PZA-R) จำนวน 47 สายพันธุ์ คิดเป็น 31.33% ของเชื้อทั้งหมด และเชื้ออีก 103 สายพันธุ์ ให้ผลการทดสอบไวต่อยา Pyrazinamide (PZA-S) คิดเป็น 68.67% ของเชื้อทั้งหมด (ภาพที่ 3)




ภาพที่ 3 สัดส่วนการดื้อยา Pyrazinamide ของเชื้อ *M. tuberculosis* (150 สายพันธุ์) เมื่อทดสอบด้วย BACTEC MGIT 960 PZA Kit

เชื้อ MDR-TB ทั้งหมด 118 สายพันธุ์ พบว่าดื้อต่อยา Pyrazinamide จำนวน 31 สายพันธุ์ (26.27%ของเชื้อ MDR-TB ทั้งหมด) เชื้อ Pre-XDR-TB ทั้งหมด 26 สายพันธุ์ ดื้อต่อยา Pyrazinamide จำนวน 12 สายพันธุ์ (46.15% ของเชื้อ Pre-XDR-TB ทั้งหมด) และเชื้อ XDR-TB ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ ดื้อต่อยา Pyrazinamide จำนวน 4 สายพันธุ์ (66.67% ของเชื้อ XDR-TB ทั้งหมด) (ภาพที่ 4)




ภาพที่ 4 แสดงจำนวนวัณโรคที่ดื้อและไวต่อยา Pyrazinamide แยกตามประเภทของสายพันธุ์ดื้อยา

**อภิปรายผลการวิจัย**

องค์การอนามัยโลกจัดประเทศไทยให้อยู่ในกลุ่ม 14 ประเทศที่มีปัญหาวัณโรค (TB) ปัญหาวัณโรคร่วมกับการติดเชื้อเอชไอวี (TB/HIV) และปัญหาวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) สูง สาเหตุที่ทำให้วัณโรคยังคงมีการแพร่ระบาดนั้น เกิดจากขาดระบบการดูแลรักษาและควบคุมวัณโรคที่มีประสิทธิภาพ รวมทั้งมีการแพร่ระบาดของวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (Multidrug resistant tuberculosis: MDR-TB) มากขึ้น การศึกษานี้ได้วิเคราะห์รูปแบบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อวัณโรคดื้อยาที่เพาะแยกได้จากเสมหะผู้ป่วยในสถาบันโรคทรวงอก ที่เก็บระหว่าง ปี 2558 ถึง 2561 จำนวน 150 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Absolute concentration ในตัวยา Isoniazid ยา Rifampicin ยา Ethambutol ยา Streptomycin ยา Kanamycin ยา Ofloxacin ยา Levofloxacin และยา Moxifloxacin ทำให้สามารถจำแนกเชื้อวัณโรคดื้อยาได้เป็น 1. วัณโรคดื้อยาหลายขนาน (Multi-drug resistant TB: MDR-TB) มีจำนวน 118 สายพันธุ์ คิดเป็น 78.67% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด 2. วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรง (Pre-extensive drug resistant TB: Pre-XDR-TB) มีจำนวน 26 สายพันธุ์ คิดเป็น 17.33% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด 3. วัณโรคดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก (Extensive drug resistant TB: XDR-TB) มีจำนวน 6 สายพันธุ์ คิดเป็น 4% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด โดยมีการรายงานอุบัติการณ์ที่ผ่านมาของเชื้อ Pre-XDR-TB ประมาณ 16% ถึง 49% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด และเชื้อ XDR-TB พบได้ในอัตรา 2% ถึง 11% ของเชื้อดื้อยาทั้งหมด ซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคทั่วโลก องค์การอนามัยโลกมีการคาดการณ์ว่าจะมีผู้ติดเชื้อ XDR ประมาณ 3% ถึง 5% ในผู้ติดเชื้อดื้อยาทั้งหมด โดยประเทศที่พบอุบัติการณ์วัณโรคดื้อยาสูง เช่น ประเทศพม่า เกาหลีเหนือ ฟิลิปปินส์ เวียดนาม อินโดนีเซีย และประเทศไทย คิดเป็นอัตราพบต่อแสนประชากร เท่ากับ 21, 20, 17, 9.1, 8.8 และ 5.7 ตามลำดับ (1) ในขณะที่การรายงานสถานการณ์วัณโรคดื้อยาในประเทศไทยโดยกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2559 พบผู้ติดเชื้อ XDR-TB เพียง 1.26% ของผู้ติดเชื้อดื้อยาทั้งหมด ซึ่งการรายงานจำนวนผู้ติดเชื้อที่ต่ำกว่าความเป็นจริงนั้นอาจมีสาเหตุมาจากโรงพยาบาลส่วนใหญ่ยังขาดศักยภาพทางห้องปฏิบัติการในการวินิจฉัยเชื้อดื้อยา และหลายแห่งไม่ได้ส่งตรวจมายังห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ หรือ กองวัณโรคในสังกัดกรมควบคุมโรค อีกทั้งระบบบันทึกและรายงานผลการดื้อยายังไม่ครอบคลุมในทุกโรงพยาบาล

เมื่อทำการทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ด้วยวิธี BACTEC MGIT 960 PZA Kit ซึ่งเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว pH 5.9 ที่มียา Pyrazinamide ความเข้มข้น 100 µg/mL ผสมอยู่ หากเชื้อดื้อต่อยาและเจริญเติบโตได้ ออกซิเจนจะถูกนำไปใช้ ส่งผลให้สารฟลูออเรสเซนต์ที่ก้นหลอดหลุดออกมาเป็นอิสระ และสามารถตรวจวัดการเปล่งแสงภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลต โดยทดสอบในเชื้อวัณโรคดื้อยา (DR-TB) ทั้งหมด 150 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อดื้อต่อยา Pyrazinamide จำนวน 47 สายพันธุ์ คิดเป็น 31.33% ของเชื้อทดสอบทั้งหมด แบ่งเป็นเชื้อ MDR-TB จำนวน 31 สายพันธุ์ (26.27 % ของเชื้อ MDR-TB ทั้งหมด) เชื้อ Pre-XDR-TB จำนวน 12 สายพันธุ์ (46.15% ของเชื้อ Pre-XDR-TB ทั้งหมด) และเชื้อ XDR-TB จำนวน 4 สายพันธุ์ (66.67 % ของเชื้อ XDR-TB ทั้งหมด) และเชื้ออีก 103 สายพันธุ์ให้ผลการทดสอบไวต่อยา Pyrazinamide ($PZA^S$) คิดเป็น 68.67% ของเชื้อทดสอบทั้งหมด ซึ่งเห็นได้ว่าการดื้อต่อยา Pyrazinamide มีความเกี่ยวข้องกับเชื้อวัณโรคดื้อยา โดยพบอัตราการดื้อต่อยานี้มากขึ้นในเชื้อดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทบทวนวรรณกรรมของ Chang และคณะ (6) ที่รายงานว่าความชุกของการดื้อยา Pyrazinamide มีความสัมพันธ์กับเชื้อวัณโรคดื้อยา (DR-TB) โดยพบอัตราการดื้อยา Pyrazinamide ในเชื้อวัณโรคดื้อยาเฉลี่ย

อยู่ที่ 51% พบได้ในอัตรา 31% ถึง 89% ขึ้นอยู่กับแต่ละภูมิภาค โดยพบอัตราการดื้อยา Pyrazinamide ในประเทศแถบทวีปแอฟริกา 58.7% ทวีปอเมริกาพบได้ 53.2% ทวีปยุโรปพบได้ 69.1% เอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบได้ 60.5% ในเชื้อวัณโรคดื้อยา (5) ในขณะที่เชื้อวัณโรคไวต่อยา (DS-TB) สามารถพบการดื้อยา Pyrazinamide ได้น้อยกว่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5% (พบได้ตั้งแต่ 0% ถึง 9% ของเชื้อที่ไวต่อยา) สำหรับในประเทศไทยพบการศึกษาหาความชุกของการดื้อยา Pyrazinamide เพียง 1 การศึกษาจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล โดยทำการทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ในเชื้อวัณโรคจำนวน 150 สายพันธุ์ แบ่งเป็นเชื้อที่ไวต่อยา (DS-TB) จำนวน 50 สายพันธุ์และเชื้อดื้อยา (MDR-TB) จำนวน 100 สายพันธุ์ พบอัตราการดื้อยา Pyrazinamide 6% ในเชื้อที่ไวต่อยาและ 49% ในเชื้อดื้อยา (3) ซึ่งเห็นได้ว่าความชุกของการดื้อยา Pyrazinamide พบมากขึ้นในเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน ดังนั้นในภูมิภาคที่มีการระบาดของเชื้อดื้อยาสูง ควรมีการทดสอบความไวต่อยา Pyrazinamide ของเชื้อวัณโรคในผู้ป่วยทุกราย เพื่อให้แพทย์ใช้เป็นข้อมูลในการเลือกสูตรยาที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย

**ข้อเสนอแนะ**

การศึกษานี้ใช้เฉพาะเชื้อวัณโรคที่เพาะได้จากเสมหะผู้ป่วยในสถาบันโรคทรวงอก จังหวัดนนทบุรีเท่านั้น ควรมีการเก็บตัวอย่างเพิ่มมากขึ้นจากจากโรงพยาบาลในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทย เพื่อจะได้คำนวณความชุกของเชื้อดื้อยารวมทั้งอัตราการดื้อยา Pyrazinamide ในประเทศไทยได้

**เอกสารอ้างอิง**

1. Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. Report No.: 978-92-4-156551-6.
2. แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ.2561. กรุงเทพมหานคร: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2561 2561. 120 p.
3. Jonmalung J, Prammananan T, Leechawengwongs M, Chaiprasert A. Surveillance of pyrazinamide susceptibility among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Siriraj Hospital, Thailand. BMC Microbiol. 2010;10:223.
4. Mirabal NC, Yzquierdo SL, Lemus D, Madruga M, Milián Y, Echemendía M, et al. Evaluation of colorimetric methods using nicotinamide for rapid detection of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Journal of Clinical Microbiology. 2010;48(8):2729-33.
5. Whitfield MG, Soeters HM, Warren RM, York T, Sampson SL, Streicher EM, et al. A Global Perspective on Pyrazinamide Resistance: Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS ONE. 2015;10(7):e0133869.
6. Chang KC, Yew WW, Zhang Y. Pyrazinamide susceptibility testing in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review with meta-analyses. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2011;55(10):4499-505.

7. Buderer NM. Statistical methodology: I. Incorporating the prevalence of disease into the sample size calculation for sensitivity and specificity. Academic Emergency Medicine. 1996;3(9):895-900.