เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2553;8(1): 47 - 57

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาเชื้อ *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC) ดื้อยาที่เพาะแยกได้จากสุกร

กิตติกร บุญศรี [1] **และ อนุชา ศิริมาลัยสุวรรณ** [2]

[1] *หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*
ถนนเลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100
[2] *หน่วยสัตวแพทย์สาธารณสุข ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์*
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถนนเลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ รายงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาการดื้อยารักษาวัณโรคเบื้องต้น จำนวน 5 ชนิด ของเชื้อ *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC) ที่แยกได้จากสุกร จำนวน 64 สายพันธุ์ จากโรงฆ่าสัตว์ในเขตจังหวัด ลำพูน ในระหว่างปี พ.ศ. 2549-2550 ด้วยการหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ด้วยวิธี Resazurin Microtitre Assay (REMA) โดยยารักษาวัณโรคที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วย Isoniazid (INH), Streptomycin (SM), Rifampicin (RIF), Ethambutol (EMB) และ Clarithromycin (CAM) โดยในการตรวจเชื้อดื้อยา ยา INH และ RIF จะต้องมีค่า MIC เกิน 1 mg/L ยา EMB และ SM จะต้องมีค่า MIC เกิน 5 mg/L และ ยา CAM จะต้องมีค่า MIC เกิน 16 mg/L จึงจะถือว่าดื้อต่อยาชนิดนั้น ผลการศึกษาพบว่า เชื้อในกลุ่ม MAC ที่ใช้ในการศึกษานี้ ดื้อต่อยา INH จำนวนร้อยละ 100, SM จำนวนร้อยละ 62.50, RIF จำนวนร้อยละ 28.13, EMB จำนวนร้อยละ 76.56 และ CAM ไม่พบเชื้อดื้อยา สรุป ผลจากการทดลอง พบว่าเชื้อ MAC ที่แยกได้จากสุกรให้ผลความไวต่อยาที่ใช้รักษาวัณโรคคล้ายกับเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย MAC โดยยา CAM ถือว่าให้ผลดีในการยับยั้งเชื้อเช่นเดียวกับในการักษาผู้ป่วย MAC และนอกจากนี้วิธี REMA ในการหาเชื้อดื้อยา ถือว่าเป็นวิธีที่สะดวก และให้ผลได้เร็วสำหรับเชื้อ MAC **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2553;8(1) : 47 – 57.

คำสำคัญ : MAC, เชื้อดื้อยา, สุกร

บทนำ

วัณโรคเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบได้บ่อยที่สุด โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอดส์ โดยพบว่าสถิติผู้ป่วยโรคเอดส์ในประเทศไทยสะสมระหว่างปี พ.ศ. 2527-2547 จำนวน 351,183 ราย เป็นผู้ป่วยวัณโรคถึง 77,107 ราย คิดเป็นร้อยละ 29.52 ของการติดเชื้อฉวยโอกาสทั้งหมด[1] ปัจจุบันข้อมูลจากสำนักระบาดกระทรวงสาธารณสุขพบผู้ป่วยโรคเอดส์ติดเชื้อวัณโรคในปี พ.ศ. 2552 เพิ่มขึ้นเป็น ร้อยละ 30.14 ในการศึกษาดังกล่าวพบว่า ภาคเหนือมีการติดเชื้อเอดส์ 5.52 คน ต่อประชากรหนึ่งแสนคน และพบผู้ป่วยมากที่สุดในจังหวัดเชียงใหม่[2]

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่ : กิตติกร บุญศรี, หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถนนเลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100 ; Email: kittik03@gmail.com
ได้รับบทความวันที่ 17 ธันวาคม 2552

นอกเหนือจากการป่วยด้วยโรควัณโรคจากเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* พบว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียกลุ่มอื่นโดยเฉพาะ *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC) โดยมีรายงานการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียที่ไม่ใช่วัณโรค (Nontuberculous mycobacteria, NTM) ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์[3] พบการติดเชื้อ MAC มากที่สุดถึงร้อยละ 48.5 สอดคล้องกับงานวิจัยที่กล่าวถึงความสำคัญของเชื้อในกลุ่ม MAC ที่มีอัตราการติดเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการติดเชื้อเอดส์ ซึ่งอาจจะอยู่ระหว่างร้อยละ 40-60[4,5]

MAC เป็นกลุ่มเชื้อมัยโคแบคทีเรียที่ไม่ใช่วัณโรคจุลชีพนี้เจริญเติบโตช้าในอาหารเลี้ยงเชื้อ[6,7] โดยปกติแล้วทางห้องปฏิบัติการมักไม่ได้แยกชนิดระหว่าง *M. avium* และ *M. intracellulare* จึงมักเรียกรวมเป็น MAC

พันธุกรรมบนสาย DNA ที่ตำแหน่ง 16S-23S rDNA เป็นตำแหน่งที่มีมีการเรียงตัวของรหัสพันธุกรรมที่มีความคงตัว (stable) สูง โดยการจำแนกชนิดย่อยของเชื้อจะทำโดยการตรวจหาส่วนย่อยของ 16S-23S rDNA ที่มีความจำเพาะต่อชนิดย่อยของเชื้อ MAC แต่ละชนิด[8] และในปัจจุบันการจำแนกชนิดย่อยของเชื้อที่ตำแหน่งดังกล่าวได้รับการยอมรับกันว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการศึกษา โดยเมื่อใช้หลักการดังกล่าวร่วมกับการตรวจยืนยันด้วยวิธี Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) เพื่อตรวจสอบลายพิมพ์รหัสพันธุกรรม (DNA fingerprint) ที่ตำแหน่ง IS1245 ทำให้มีการจำแนกเชื้อกลุ่ม MAC เป็น *Mycobacterium avium* subsp. *avium*, *M. intracellulare* และ *M. avium* subsp. *hominissuis*[9]

โดยปกติเชื้อ MAC ก่อโรคได้น้อยมากในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ แต่จะก่อโรคในผู้ป่วยเอดส์ที่มีลิมโฟซัยต์ชนิด CD4+ น้อยกว่า 100 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยในประเทศพัฒนาแล้วพบอุบัติการณ์การติดเชื้อ MAC ในผู้ป่วยเอดส์ระยะสุดท้ายร้อยละ 20-40[10,11] นอกจากนี้ในการศึกษาชีวโมเลกุลของเชื้อกลุ่ม MAC ที่เพาะแยกจากผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าว และจากสุกรพบว่าเชื้อจากทั้งสองแหล่งมีความสัมพันธ์กันถึงระดับของสารพันธุกรรม ซึ่งชี้ให้เห็นว่าอาจจะมีการติดเชื้อระหว่างสุกรและมนุษย์ หรือมนุษย์และสุกร จะติดเชื้อจากแหล่งอมโรคเดียวกัน[12-14]

ซึ่งหลังจากที่มีการใช้มาตรการกำจัดเชื้อ *M. bovis* ซึ่งเป็นเชื้อที่อยู่ในกลุ่ม *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) ที่เป็นเชื้อสาเหตุของการเกิดโรควัณโรคทั้งในคนและในสัตว์ พบว่าการติดเชื้อกลุ่ม MAC ในสัตว์ทุกชนิดมีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในสุกรพบว่าเชื้อในกลุ่ม MAC เป็นเชื้อที่สามารถเพาะแยกได้จากรอยโรค Tuberculoid มากที่สุด และถึงแม้ว่ารอยโรคดังกล่าวจะไม่ทำให้สุกรแสดงอาการทางคลินิกที่เด่นชัด แต่ความเสียหายของซากสุกรที่เกิดจากการตัดแต่ง หรือคัดทิ้งตามกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภคนั้นมีมูลค่าทางเศรษฐกิจนั้นมีมูลค่าที่สูงมาก[15]

จากการศึกษาพบว่าการติดเชื้อกลุ่ม MAC ในสุกรมีความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมภายในฟาร์มสุกร เช่น อาหาร วัสดุรองพื้น ดิน ฝุ่นผง น้ำ และสัตว์ชนิดอื่นที่อยู่ในหรือรอบๆ ฟาร์ม[16] ซึ่งเชื้อจะสามารถคงชีวิตและคุณสมบัติในการทำให้ติดเชื้อได้เป็นเวลานาน

เนื่องจากเซลล์ของเชื้อทุกชนิดในตระกูลมัยโคแบคทีเรีย มีโครงสร้างผนังเซลล์ที่แข็งแรงและมีไขมันเป็นองค์ประกอบในปริมาณมาก

การรักษาวัณโรคในปัจจุบันผู้ป่วยที่สงสัยติดเชื้อวัณโรคจะได้รับยารักษาวัณโรคในกลุ่ม First line antituberculous drug ที่ประกอบไปด้วย INH, RIF, EMB และ SM ซึ่งบางกรณีผู้ป่วย MAC ที่มีอาการเหมือนกันก็จะถูกรักษาด้วยยาในกลุ่มนี้เช่นกัน แต่มักไม่ได้ผลเพราะยารักษาวัณโรคที่ได้ผลในการรักษาต่อเชื้อ MAC คือ CAM เนื่องจากการเพาะแยกเชื้อและตรวจหาความไวของยารักษาวัณโรค (Drug Susceptibility Test, DST) ใช้ระยะเวลาในการตรวจสอบนาน ทำให้ยาที่ใช้รักษาวัณโรคอาจไม่ได้ผลหรือเกิดการดื้อต่อยารักษาวัณโรคได้ ดังนั้นหากสามารถหาวิธีการตรวจหาการดื้อยาได้เร็วจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพผู้ป่วย และลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการดื้อยาของเชื้อ MAC ที่เพาะแยกได้จากสุกร โดยการศึกษาความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี Resazurin Microtitre Assay (REMA)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างเชื้อจากสุกร ได้ถูกตรวจแยกเชื้อระหว่างปี 2006-2007 จำนวน 100 ตัวอย่าง และยืนยันเชื้อด้วยวิธี PCR โดยใช้ primer ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดง primers และ PCR condition ที่ใช้ในการจำแนกสปีชีส์ MAC

Primers	Target	Product size (base Pair)
Mycgen[17]		
5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG -3'	16S rDNA	1030
5'- TGC ACA CAG GCC ACA AGG GA -3'		
IS 901[18]		
5'- GCA ACG GTT GTT GCT TGA AA -3'	IS 901	1108
5'- TGA TAC GGC CGG AAT CGC GT-3'		
IS 1245[19]		
5'- GCC GCC GAA ACG ATC TAC -3'	IS 1245	425
5'- AGG TGG CGT CGA GGA AGA -3'		
FR 300[18]		
5'- CAG CCA GCC GAA TGT CAT CC -3'	FR 300	300
5'- CAA CTC GCG ACA CGT TCA CC -3'		

1st Denat. = First denaturation condition, Denat. = Denaturation condition,

Anneal. = Annealing condition, Exten. = Extention condition, Cycles = Number of cycles

2. นำเชื้อที่ยืนยันด้วยวิธี PCR เพื่อคัดเลือกเชื้อกลุ่ม MAC แล้วนำมาเพาะเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการ

3. ยาปฏิชีวนะที่ใช้ประกอบด้วย ยา Streptomycin (SM) ที่ความเข้มข้น 0.25-128 mg/L, ยา Isoniazid (INH) ที่ความเข้มข้น 0.25-128 mg/L , ยา Ethambutol (EMB) ที่ความเข้มข้น 0.25-128 mg/L, ยา Rifampicin (RIF) ที่ความเข้มข้น 0.047-24 mg/L, และ ยา Clarithromycin (CAM) ที่ความเข้มข้น 0.0625-32 mg/L

4. ทำการตรวจความไวของยาปฏิชีวนะ ต่อเชื้อ MAC ด้วยวิธี Resazurin Microtitre Assay[20]

4.1.เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ประกอบด้วย Middlebrook 7H9 broth (Difco®, USA) ผสม 10% ADC แล้วทำการเลี้ยงเชื้อ 10 วัน จนได้ 1.0 McFarland standard จากนั้นนำไปเจือจางเป็น 1:25 ด้วย 7H9 broth (Difco®, USA)

4.2. เตรียมสารละลาย Resazurin 0.2%

4.3. เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 µl ลงใน หลุมทั้งหมดของ sterile 96-well plate (flatted shape)

4.4. เติมยาปฏิชีวนะลงไปด้วยทำการเจือจางแบบ two-fold เริ่มจากหลุม B โดยเว้นหลุม A เป็น positive control

4.5. เติมเชื้อที่ได้จากการแยกเพาะแยก ลงใน 100 µl ลงในหลุมทั้งหมด

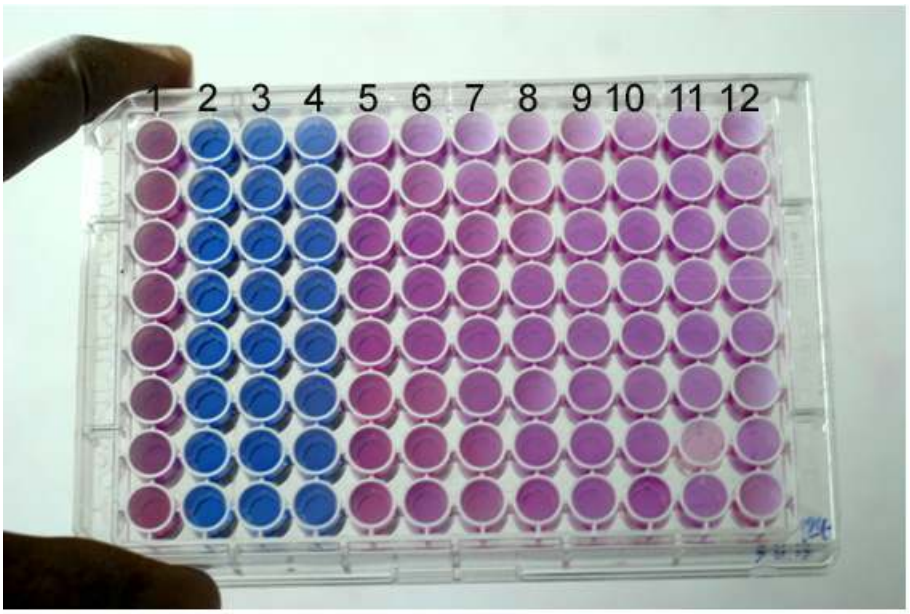
4.6. ปิด plate ด้วย ฟิล์ม นำไปเพาะเชื้อที่ 37 ºC, 5% CO_2 เป็นเวลา 7 วัน

4.7. เติม 25 µl ของ สารละลาย Resazurin ในทุกหลุม

4.8. อ่านผลที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ถ้าเชื้อถูกยับยั้งจะเป็นสีน้ำเงินของ Resazurin และถ้า จะมีสีชมพู แสดงว่ามีการเจริญของเชื้อ ดังรูปที่ 1

สำหรับ ค่า MIC ใช้เป็นเกณฑ์ ในการอ่านผลการทดลอง เป็นดังนี้ INH และ RIF = 1mg/L, EMB และ SM = 5mg/L, CAM = 16 mg/L[21]

รูปที่ 1 แสดงผลการทดสอบ สามารถอ่านผลง่ายได้ด้วยการแยกสี



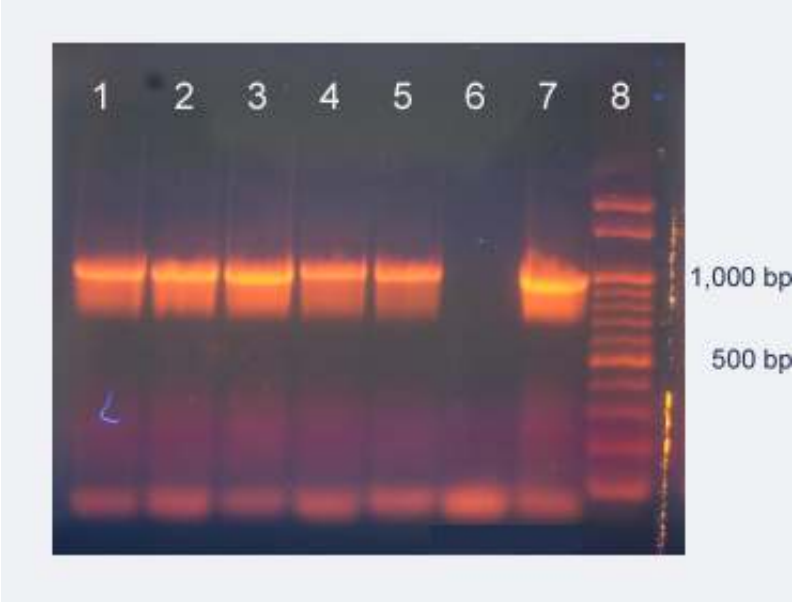
ผลการทดลอง

ผลการตรวจพบเชื้อกลุ่ม MAC ที่เพาะแยกได้จากสุกร ทั้งหมด 64 ตัวอย่าง จากตัวอย่างเชื้อ *Mycobacterium* spp. จากสุกรทั้งหมด 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 64.00 พบว่าประกอบด้วย เชื้อ *M. avium* subsp. *hominisuis* มากที่สุด โดยพบ ร้อยละ 68.75 (44/64) รองลงมาพบ เชื้อ *M. intracellulare* ร้อยละ 23.44 (15/64) และเชื้อ *M. avium* subsp. *avium* ร้อยละ 7.81(5/64) ผลการตรวจ DST ด้วยวิธี REMA พบเชื้อดื้อต่อยา INH จำนวน ร้อยละ 100, SM จำนวนร้อยละ 62.50, RIF จำนวนร้อยละ 28.13, EMB จำนวนร้อยละ 76.56 และ CAM ไม่พบเชื้อดื้อยา ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงร้อยละของเชื้อ MAC ดื้อยาที่เพาะแยกได้จากสุกร

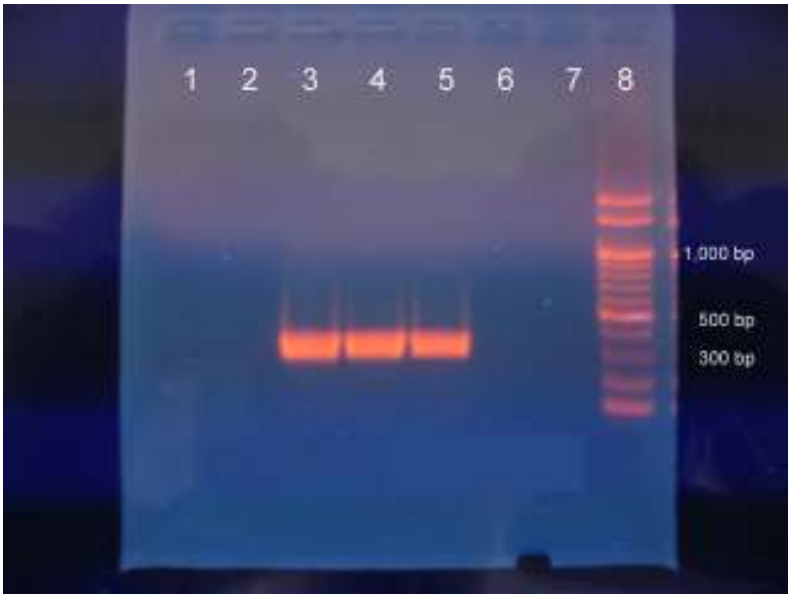
เชื้อ MAIC	ร้อยละของเชื้อ MAC	ร้อยละของการดื้อยาต่อเชื้อ MAC				
		INH	SM	EMB	RIF	CAM
M. avium subsp. *avium*	7.81 (5/64)	100.00	40.00	40.00	20.00	0.00
M. avium subsp. *hominissuis*	68.75(44/64)	100.00	34.09	72.73	22.73	0.00
M. intracellulare	23.44(15/64)	100.00	53.33	40.00	46.67	0.00

รูปที่ 2 แสดงการตรวจยืนยันเชื้อ *Mycobacterium spp.* ด้วยวิธี PCR (1030 bp)



1-5 = samples (positive)
6 = negative control (no template)
7 = *M. avium* subsp. *hominissuis* (ATCC 51848), positive control
8 = DNA marker

รูปที่ 3 แสดงการตรวจยืนยันเชื้อ *Mycobacterium avium* subsp. *Hominissuis* ด้วยวิธี PCR (300bp)



1-2 = Mycobacterium intracellulare (negative)

3-4 = Samples (positive)

5 = Mycobacterium avium subsp. hominissuis (ATCC 44049), positive control

6 = negative control (no template)

7 = Mycobacterium tuberculosis (negative)

8 = DNA marker

ส่วนผลการหาความเข้มข้นของยาต่อเชื้อ MAC สปีชีส์ต่างๆ ดังที่แสดงในตารางที่ 3 พบว่า เชื้อ *M. avium* subsp. *hominisuis* ให้ผล MIC_{50} และMIC_{90} ต่อยาปฏิชีวนะต่างๆ ดังนี้ INH เท่ากับ >128, >128 ยา SM เท่ากับ 8, 32 ยา EMB เท่ากับ >128, >128 ยา RIF เท่ากับ 0.5, 32 และยา CAM เท่ากับ 0.125, 2 เชื้อ *M. intracellulare* ให้ผล INH เท่ากับ >128, >128 ยา SM เท่ากับ 16, 32 ยา EMB เท่ากับ 8, >128 ยา RIF เท่ากับ 1, 32 และยา CAM เท่ากับ 0.125, 4 เชื้อ *M. avium* subsp. *avium* ให้ผล INH เท่ากับ >128, >128 ยา SM เท่ากับ 8, 32 ยา EMB เท่ากับ >128, >128 ยา RIF เท่ากับ 0.5, 32 และยา CAM เท่ากับ 0.125, 2 จะเห็นว่าเชื้อส่วนใหญ่จะให้ผลความเข้มข้นของยา INH และ EMB ที่มากกว่า 128 mg/L แสดงว่าเชื้อเหล่านี้ส่วนใหญ่จะดื้อต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว

ตารางที่ 3 แสดงค่า MIC ของเชื้อ MAC ที่เพาะแยกได้จากสุกร

Species	Drug	MIC (mg/L)											MIC_{50}	MIC_{90}
		0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	total		
Maa	INH								2	1	2	5	128<	128<
	SM					1	2	1	1			5	8	16
	EMB			1		2					2	5	128<	128<
	RIF	1	2	1				1				5	0.5	32
Mah	INH						1	1	5	1	36	44	128<	128<
	SM	2	6	9	2	1	5	10	5			44	8	32
	EMB				2	3	3	1			31	44	128<	128<
	RIF	12	15	4	1	1	1	1	9			44	0.5	32
Mi	INH							1	2	2	10	15	128<	128<
	SM			1	1	1	4	5	2	1		15	16	32
	EMB			1	2	3	3	1	1		4	15	8	128<
	RIF	4	2	1			1		7			15	1	32

Species	Drug	MIC (mg/L)											MIC_{50}	MIC_{90}
		<0.03125	0.0625	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	total		
Maa	CAM		1	2	1	1						5	0.125	2
Mah	CAM		12	13	6	1	4	2		2		44	0.125	2
Mi	CAM		6	2	2	3			2			15	0.125	4

Maa = *Mycobacterium avium* subsp. *avium*, Mah = *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*, Mi = *Mycobacterium intracellulare*

วิจารณ์ผลการทดลอง

วิธีการตรวจหาเชื้อดื้อยาด้วยวิธี REMA เป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย สะดวก และใช้ต้นทุนต่ำ โดยเฉพาะในพื้นที่ขาดแคลน[22-25] จากที่ในปัจจุบันเชื้อวัณโรคดื้อยาได้เพิ่มจำนวนมากขึ้น โดยรายงานของ องค์การอนามัยโลกรายงานว่า ในปี ค.ศ. 2006 เอเชียตะวัน ออกเฉียงใต้พบเชื้อวัณโรคดื้อยาร้อยละ 19.80 ทำให้นักวิจัยต้องหาวิธีที่จะตรวจสอบเชื้อดื้อยาให้ได้เร็วที่สุด วิธีการมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อดื้อยาคือ Proportion method ใช้เวลาในการตรวจสอบนานถึง 21 วัน ต่อมาจึงได้มีการพัฒนา BACTEC radiometric method ซึ่งตรวจได้เร็วขึ้น

ประมาณ 14 วัน โดยวิธีนี้ได้ถูกพัฒนาจนเป็น วิธี gold standard ในการตรวจหาเชื้อดื้อยา สำหรับกลุ่ม first line antituberculous drugs[26] ข้อเสียของวิธีการนี้คือมีราคาสูง และต้องการมาตรการกำจัดสารเคมีที่ดี เนื่องจากจะมีของเสียจากการงานทดลองที่ปนเปื้อนสารกัมมันตภาพรังสี ซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมสำหรับกลุ่มประเทศที่กำลังพัฒนา ทำให้มีการประยุกต์ใช้วิธีแบบ colourimetric method ขึ้นมา[25] วิธีการนี้จะใช้ oxidation-reduction indicator เพื่อให้เกิดการแยกสี สารเคมีที่นิยมใช้คือ resazurin, alamar blue, tetrazolium salt และ nitrate reductase assay โดยวิธีการที่เป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย สะดวก และมีค่าใช้จ่ายไม่สูง ซึ่งวิธีการตรวจดังกล่าวได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการหาเชื้อดื้อยาของ MAC โดยวิธีที่ทำได้ง่าย ใช้เวลาในการตรวจน้อย และมีความเหมาะสมที่สุดในพื้นที่ขาดแคลน คือ REMA นอกจากนี้สารเคมีที่ใช้ยังหาได้ง่ายเมื่อเทียบกับ almar blue และ tetrazolium salt ซึ่งจากการศึกษาผลการทดสอบ พบว่าให้ผลการทดสอบเทียบเท่ากับวิธีการ proportion method[27]

จากผลการทดลอง พบเชื้อดื้อยา ในกลุ่ม first line antituberculous drug พบการดื้อยาจำนวนมากกว่าร้อยละ 70 สอดคล้องกับหลายๆ งานวิจัย[7,23,28] ที่พบการดื้อยาในกลุ่มดังกล่าว ส่วนยา CAM ที่ไม่พบเชื้อดื้อต่อยาดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่แนะนำให้ใช้ยา CAM เป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วย MAC[7,29] ในประเทศไทย[27] ก็ได้กล่าวถึงยาที่ใช้รักษาโรค MAC ที่ได้ผลดี คือ CAM เช่นกัน ในทางปฏิบัติแล้วไม่นิยมให้ยาเพียงตัวเดียวในการรักษา ซึ่งทาง American Thoracic Society[30] ได้แนะนำให้ใช้ยา CAM ร่วมกับยา RIF และ EMB ซึ่งยาทั้งหมดจะช่วยเสริมฤทธิ์กัน โดย EMB จะช่วยในการผ่านของยาเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย ส่วน RIF มีรายงานว่ามีเสริมฤทธิ์เมื่อให้ร่วมกัน[28]

งานวิจัยนี้เป็นรายงานเบื้องต้นชิ้นแรกของการศึกษาเชื้อ MAC ดื้อยาที่แยกได้จากสุกร โดยศึกษายาในกลุ่ม first line antituberculous ที่ประกอบไปด้วย INH, RIF, SM และ EMB นอกจากนี้ยังได้ศึกษายา CAM ซึ่งผลการทดสอบก็คล้ายคลึงกับรายงานการศึกษาในเชื้อที่แยกมาจากผู้ป่วย แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นได้ตามหลายๆ งานวิจัย[12,13,14,31] ที่รายงานว่า MAC ในผู้ป่วยมีความคล้ายคลึงกันกับ MAC ที่แยกได้จากสุกรถึงร้อยละ 70 นั้น จึงทำให้เชื้อดื้อยามีลักษณะใกล้เคียงกับในคน ซึ่งในอนาคตอาจจะมีการประยุกต์ใช้สุกรเป็นต้นแบบในการศึกษากระบวนการเกิดโรค และการรักษาโรค MAC ได้ในอนาคต นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังชี้ให้เห็นว่า วิธีการตรวจหาเชื้อดื้อยาด้วยวิธี REMA ยังเป็นวิธีที่ง่าย มีค่าใช้จ่ายต่ำ และสามารถทำการตรวจได้ในพื้นที่ที่วัสดุอุปกรณ์ขาดแคลน อันจะทำให้เป็นผลดีในการจัดการกับภาวะเชื้อดื้อยาที่พบมากขึ้นเรื่อยๆ ทำให้เป็นผลดีสามารถควบคุมและ รักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย และคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาตร์

และเทคโนโลยี ความเห็นในรายงานผลการวิจัยของผู้รับทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย และคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

เอกสารอ้างอิง

1. Wongsilp N. Epidermiological characteristics and trend of tuberculosis in AIDS cases in Thailand. Disease Control Journal 2004; 30(4): 363-71.
2. กระทรวงสาธารณสุข กองระบาดวิทยา. สถานการณ์เอดส์ในประเทศไทย ณ วันที่ 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552.
3. Sarisiri S, Udomsatisook N, Suankratay C. Nontuberculosis mycobacterial infections in King Chulalongkorn memorial hospital. J Med Assoc Thai 2006; 89(12): 2035-46.
4. Kyriopoulos AM, Tassios PT, Matsiota-Bernard P, Marinis E, Tsaousidou S, Legakis NJ. Characterization to species level of Mycobacterium avium complex strains from human immunodeficiency virus-positive and nefative patients. J Clin Microbiol 1997; 35: 3001-3.
5. Pozniak AL, Uttley AHC, Kent RJ. Mycobacterium avium complex in AIDS: who, when, where, why and how?. J Appl Bacteriol 1996; 81: 40-6.
6. อนุชา ศิริมาลัยสุวรรณ. มัยโคแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรควัณโรค. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 2549; 4(2): 149-56.
7. Inderlied CB, Kemper CA, Bermudez LEM. The Mycobacterium avium complex. Clin Microbiol 1993; 6(3): 266-310.
8. Boeddinghaus B, Wolters J, Heikens W, Boettger EC. Phylogenic analysis and identification of different serovars of Mycobacterium intracellulare at the molecule level. FEMS. Microbiol Lett 1990; 70: 197-203.
9. Mijs W, de Haas P, Rossau R, Van Der Laan T, Rigouts L, Portaels F, van, et al. Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation Mycobacterium avium subsp. avium from bird-type isolates and “M. avium subsp. hominissuis” for the human/porcine type of M. avium. J Sys Evol Microbiol 2002; 52: 1505-18.
10. Benson CA, Ellner JJ. Mycobacterium avium complex infection and AIDS: advances in theory and practice. Clin Infect Dis 1993; 17: 7-20.
11. Gordin FM, Cohn DL, Sullam PM, Schoenfelder JR, Wynne BA Horsburgh CR Jr. Early manifestations of disseminated Mycobacterium avium complex disease: a prospective evaluation. J Infect Dis 1997; 176: 126-32.
12. Komijn RE, de Haas PEW, Schneider MME, Eger T, Nieuwenhuijs JHM, van den Hoek RJ, et al. Prevalence of Mycobacterium avium in slaughter pigs in the Netherlands and comparison of IS1245 restriction fragment length polymorphism patterns of porcine and human isolates. J Clin Microbiol 1999; 37(5): 1254-9.
13. Ramasoota P, Chansiripornchai N, Kallenius G, Hoffner SE, Svenson SB. Comparison of Mycobacterium avium complex (MAC) strains from pigs and humans in Sweden by random amplified polymorphic DNA (RAPD) using standardized reagents. Vet Microbiol 2001; 78: 251-9.
14. Tirkkonen T, Pakarinen J, Moisander AM, Makinen J, Soini, Ali-Vehmas T. High genetic relatedness among Mycobacterium avium strains isolated from pigs and humans revealed by comparative IS 1245 RFLP analysis. Vet Microbiol 2007; 125: 175-81.
15. Dey BP, Parham GL. Incidence and economics of tuberculosis in swine slaughtered from 1976 to 1988. J Am Vet Med Assoc 1993; 203: 516-9.
16. Falkinham OJ. Environmental sources of Mycobacterium avium linked to routes of exposure. In: Pedley S, Bartram J, Rees

G, Dufour A, Cotruvo JA, editors. Pathogenic Mycobacteria in water: a guide to public health consequences, monitoring and management. London: IWA; 2004. p. 27-33.
17. Wilton S, Cousins D. Detection and identification of mulitple mycobacterial pathogens by DNA amplification an s single tubes. PCR Meth Appl 1992; 1: 269-73.
18. Kunze ZM, Portaels F, Mc Fadden JJ. Biologically distinct subtypes of Mycobacterium avium differ in possession of insertion sequence IS 901. J Clin Microbiol 1992; 30: 2366-72.
19. Guerrero S, Bernasconi C, Burki D, Bodmer T, Telenti A. A novel insertion element from Mycobacteriun avium, IS1245, is a specific target for analysis of strain relatedness. J Clin Microbiol 1995; 33: 304-7.
20. Jadaun GPS, Agarwal C, Sharma H, Ahmed Z, Upadhyay P, Faujdar J, et al. Determination of ethambutol MICs for Microbacterium tuberculosis and Microbacterium avium isolates by resazurin microtitre assay. J Antimicrob Chem 2007; 60: 152-5.
21. van Ingen J, Wisselink HJ, van Solt-Smits CB, Boeree MJ, and van Soolingen. Isolation of mycobacteria other than Mycobacterium avium from porcine lymph nodes. Vet Microbiol 2010; 1-4.
22. Banfi E, Scialino G, Monti-Bragadin C. Development of a microdilution methode to evaluated Mycobacterium tuberculosis drug susceptibility. J Antimicrob Chem 2003; 52: 576-800.
23. Heifets L. MIC as a quantitive measurement of the susceptibility of Mycobacterium avium strains to seven antituberculous drugs. Antimicrob Agents Chemother 1988; 32(8): 1131-6.
24. Jadaun GPS, Agarwal C, Sharma H, Ahmed Z, Upadhyay P, Faujdar J, et al. Determination of ethambutol MICs for Microbacterium tuberculosis and Microbacterium avium isolates by resazurin microtitre assay. J Antimicrob Chem 2007; 60: 152-5.
25. Palomino JC, Martin A, Portaels F. Rapid drug resistance detection in Mycobacterium tuberculosis. Clin Microbio Infect 2007; 13: 754-62.
26. Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agent Chemother 2002; 46(8): 2720–2.
27. Montoro E, Lemus D, Echemendia M, Martin A, Portaels F, Palomino JC. Comparative evaluation of the nitrate reduction assay, the MTT test, and resazurin microtitre assay for drug susceptibility testing of clinical isolateds of Mycobacterium tuberculosis. J Antimicrob Chem 2005; 55: 500-5.
28. Venugopal D, Kumar S, Isa M, Bose M. Drug resistance profile of human Mycobacterium avium complex strains from India. Indian J Med Microbiol 2007; 25(2): 115-20.
29. LaBombardi VJ. Susceptibility of non-tuberculous bacteria. Cli Mic New 2007; 29(24): 185-90.
30. American thoracic society. Supplement: American thoracic society diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous Mycobacteria. American J Respi Crit Care Med 1997; 156(2): 1-19.
31. Kobashi Y, Yoshida K, Miyashita N, Niki Y, Oka M. Relationship between clinical efficacy to treatment of pulmonary Mycobacterium avium complex disease and drug sensitivity testing of Mycobacterium avium complex isolates. J Infect Chemother 2006: 12: 195-202.