

ชื่อโครงการ การตรวจหากลไกการดื้อยาในกลุ่ม Aminoglycoside ที่ยังไม่เคยมีรายงานในเชื้อวัณโรค
 แหล่งเงิน งบรายได้คณะวิทยาศาสตร์ประจำปี 2554-2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 480,000 บาท
 ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2555
 ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุหน่วยงานต้นสังกัด
 ผศ.ดร.สร้อยญา พันธุ์พุกษ์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 รศ.ดร.อังคณา ฉายประเสริฐ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
 ดร.เทอดศักดิ์ พรหมณะนันท์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

บทคัดย่อ

วัณโรคเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของโลกที่สำคัญซึ่งเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* การอุบัติของเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (Multidrug-resistant *M. tuberculosis*; MDR-TB) และเชื้อวัณโรคดื้อยาทุกขนาน (Extensively drug-resistant *M. tuberculosis*; XDR-TB) ทำให้การรักษาและการควบคุมวัณโรคทำได้ยากขึ้น ดังนั้น การตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อวัณโรคที่ดื้อยาอย่างรวดเร็วจึงมีความสำคัญสำหรับการเอาชนะวัณโรคดื้อยาเหล่านี้ ยาปฏิชีวนะอะมิกาซินและกานามัยซินเป็นยาสำรองชนิดฉีดที่ใช้สำหรับการรักษาวัณโรคดื้อยาหลายขนาน การต้านทานต่อยาชนิดใดชนิดหนึ่งทำให้เชื้อถูกนิยามว่าเป็นเชื้อวัณโรคดื้อยาทุกขนาน กลไกการดื้อยาเหล่านี้ยังไม่เป็นที่ทราบกันดีในทุกกลไก ความเข้าใจในกลไกการดื้อยาให้มากขึ้นจะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคสายพันธุ์ที่ดื้อยาให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับการต้านยาปฏิชีวนะอะมิกาซินและกานามัยซินของเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน 3 สายพันธุ์และเชื้อวัณโรคดื้อยาทุกขนาน 26 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยในประเทศไทย เป็นที่น่าเสียดายว่าการแสดงออกของเวกเตอร์สำหรับ *E. coli* และมัคโคแบคทีเรีย pOLYG และ pSMT1 ที่มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สกัดมาจากเชื้อวัณโรคที่แยกมาจากผู้ป่วยไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้น จึงทำการศึกษาอื่นที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์โดยการเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ยีน *eis* ยีน *gidB* ยีน *tap* และยีน *whiB7* โดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่เพอร์เมอเรสและศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์ PCR ผลการทดลองพบว่าเชื้อวัณโรคดื้อยาร้อยละ 72 มีการกลายพันธุ์ของยีน 16S rRNA ที่ตำแหน่ง A1401G ในขณะที่เชื้อวัณโรคดื้อยาร้อยละ 17 มีการกลายพันธุ์ของบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *eis* ที่ตำแหน่ง C-14T หรือ G-37T เชื้อวัณโรคดื้อยาที่เหลืออีกร้อยละ 11 นั้นยังไม่ทราบกลไกการดื้อยาที่แน่นอน การกลายพันธุ์ของยีน *tap* และยีน *gidB* ถูกพบในทั้งในเชื้อวัณโรคที่ดื้อและไวต่อยาปฏิชีวนะกานามัยซิน แสดงให้เห็นว่ายีนทั้งสองไม่เกี่ยวข้องกับการดื้อยานี้

คำสำคัญ : มัคโคแบคทีเรีย, ยาสำรอง, การดื้อยา, อะมิโนไกลโคไซด์

Research Title: Identification of a novel mechanism conferring aminoglycoside resistance in *Mycobacterium tuberculosis*

Researcher: Asst. Prof. Dr. Saranya Phunpruch Faculty of Science King Mongkut Institute of Technology Ladkrabang, Assoc. Prof. Dr. Angkana Chaiprasert Faculty of Medicine Siriraj hospital, Dr. Therdsak Prammananan National Center for Genetic Engineering and Biotechnology

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an important global public health problem caused by infection with *Mycobacterium tuberculosis*. The emergence of multidrug-resistant *M. tuberculosis* (MDR-TB) and extensively drug-resistant *M. tuberculosis* (XDR-TB) makes the treatment and control of tuberculosis difficult. Rapid detection of drug-resistant strains is important for the successful treatment of drug-resistant tuberculosis. Amikacin (AK) and kanamycin (KM) are injectable second-line anti-TB drugs used for treatment of MDR-TB, and resistance to one of these drugs is a criterion for XDR-TB. Not all resistance mechanisms to these drugs are well understood. Improved understanding of resistance mechanisms could promote the development of highly sensitive methods for the detection of drug-resistant strains. This study aimed to investigate the mechanisms associated with AK and KM resistance in 26 XDR-TB and 3 MDR-TB clinical strains isolated in Thailand. Unfortunately, overexpression of *E. coli*/Mycobacteria shuttle vectors pOLYG and pSMT1 containing DNA fragments isolated from *M. tuberculosis* clinical isolates was unsuccessful. Therefore, genes involving aminoglycoside resistance including 16S rRNA, *eis*, *gidB*, *tap*, and *whiB7* were investigated by DNA amplification by PCR and sequencing. The results revealed that 72% of resistant strains had an A1401G mutation in the 16S rRNA gene, while 17% harbored either a C-14T or a G-37T mutation in the promoter region of the *eis* gene. No known resistance mechanisms were found in the remaining 11% of the resistant strains. Mutations of *tap* and *gidB* were found in both KM-resistant and KM-susceptible strains, indicating that they were not associated with the resistance phenotype.

Key words: Mycobacterium, second-line drug, resistance, aminoglycoside