

# การดื้อยาต้านเชื้อรา: ประเด็นทางปฏิบัติที่สำคัญ และนวัตกรรมทางกลยุทธิ์ ในการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ (antifungal drug resistance: practical point and innovative strategy for detection in laboratory aspect)

กรวลี มีศิลป์วิทย์

อาสา ธรรมหงส์

## บทนำ

ในปัจจุบันการติดเชื้อราทางการแพทย์มีอัตราการติดเชื้อสูงขึ้นตามลำดับ โดยเฉพาะในผู้ป่วยมะเร็งทางโลหิตวิทยา ผู้ป่วยเอดส์ ผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายอวัยวะที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัดหรือรังสีรักษา รวมทั้งผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันผิดปกติจากภาวะแทรกซ้อนของโรคหรือผลข้างเคียงจากรักษาโรค<sup>(1)</sup> เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ไม่สามารถคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ หรือ ผู้ป่วยที่ได้รับยา สเตียรอยด์ (steroids) ขนาดสูงเป็นเวลานาน<sup>(2)</sup> หรือผู้ป่วยติดเชื้อโควิด-2019 ชนิดลุกลามในปอด<sup>(3)</sup> เป็นต้น และจากข้อมูลทางสถิติจากประเทศญี่ปุ่น<sup>(4, 5)</sup> อินเดีย<sup>(6, 7)</sup> ออสเตรเลีย<sup>(8, 9)</sup> หรือประเทศไทย<sup>(10-17)</sup> พบว่า อัตราการติดเชื้อราฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ทวีจำนวนมากขึ้นตามลำดับ อีกทั้งอัตราการเสียชีวิตก็ทวีจำนวนมากขึ้นในแต่ละปี ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งทางด้านเศรษฐกิจและสังคม โดยมีกลุ่มเชื้อราก่อโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., และ *Aspergillus* spp.<sup>(18)</sup>



ในขณะที่อุบัติการณ์การติดเชื้อราเพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่ชนิดของยาต้านเชื้อราก็ยังมีใช้อย่างจำกัด<sup>(19)</sup> อาทิ เช่น polyenes, azoles, echinocandins เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามยาต้านเชื้อราเหล่านี้ มีข้อจำกัดในการใช้เนื่องจากผลข้างเคียงจากยา หรือ มีปฏิกิริยากับยาอื่น ๆ<sup>(19)</sup> ประกอบกับอัตราการพบเชื้อดื้อยามีจำนวนเพิ่มขึ้นทุกปี<sup>(20)</sup> ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากมีการใช้ยาต้านเชื้อราเพื่อป้องกันการติดเชื้อรามากขึ้นในปัจจุบัน รวมถึงการใช้ยาต้านเชื้อราในกสิกรรม ทำให้มีโอกาสดื้อยาเพิ่มขึ้น<sup>(21)</sup> ดังนั้นองค์ความรู้เกี่ยวกับกลไกการดื้อยาของเชื้อรา และการตรวจหาความไวรับของเชื้อรา (antifungal susceptibility test) ที่มีการพัฒนาทางด้านเทคนิคเชิงโมเลกุล จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อราในปัจจุบัน

## กลไกการดื้อยาต้านเชื้อรา (mechanism of antifungal resistance)

ภาวะดื้อยาต้านเชื้อราเป็นภาวะที่เชื้อราสามารถเจริญได้ในความเข้มข้นของยาต้านเชื้อราที่เชื้อราส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้ ภาวะดื้อยาแบ่งได้เป็นสองรูปแบบ กล่าวคือ intrinsic resistance และ acquired resistance สำหรับ intrinsic resistance คือภาวะดื้อยาต้านเชื้อราในกลุ่มของเชื้อราที่มีคุณสมบัติในการกำจัดยาต้านเชื้อราบางชนิดด้วยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบที่เป็นเป้าหมายของยาต้านเชื้อรา หรือเชื้อราบางชนิดมีคุณสมบัติในการกำจัดยาต้านเชื้อราผ่านการขนส่งออกจากเซลล์ (efflux pump) อาทิเช่น *Aspergillus species*, *Candida krusei*, *Candida auris* มีภาวะ intrinsic resistance ต่อ fluconazole หรือ เชื้อราในกลุ่ม Mucormycota มีภาวะ intrinsic resistance ต่อ azoles เป็นต้น<sup>(22)</sup>

สำหรับ acquired resistance นั้นเป็นภาวะที่เชื้อราสามารถเจริญได้แม้ในภาวะที่มียาต้านเชื้อราความเข้มข้นสูง โดยที่เชื้อราในสายพันธุ์ดั้งเดิม (wild type strains) ไม่สามารถเจริญได้ สำหรับเชื้อราบางกลุ่มที่สามารถเจริญได้ แต่ช้ากว่าปกติ ในสภาวะที่มียาต้านเชื้อราในระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราสายพันธุ์ดั้งเดิมได้ (minimal inhibitory concentrations, MICs) เป็นกลุ่มภาวะที่เรียกว่า antifungal tolerance หรือ hetero-resistance<sup>(22)</sup>

สำหรับกลไกในการดื้อยาในยาต้านเชื้อราแต่ละชนิด สามารถแบ่งได้ตามชนิดของยาดังต่อไปนี้

### 1. ยาต้านเชื้อรากลุ่ม azoles

กลุ่ม azoles มีหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของ lanosterol C-14a demethylase (Cyp51p หรือ Erg11p) ในการสร้าง ergosterol บนเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา<sup>(23-25)</sup> กลไกในการดื้อยาในกลุ่มนี้<sup>(22)</sup> ได้แก่

ก. Efflux pump overexpression: เชื้อในกลุ่ม *Candida* จะมีการเพิ่ม efflux pump เพื่อขับยากลุ่ม azole ออกจากเซลล์

ข. Overexpression of drug target: เชื้อในกลุ่ม *Cryptococcus neoformans* จะมีเพิ่มจำนวนโครโมโซม และมีการกลายพันธุ์ของยีน (chromosome aneuploidy, hypermutation)

ค. Tandem repeat ที่บริเวณ promoter ของ drug target: เชื้อในกลุ่ม *Aspergillus fumigatus* มี tandem repeat (TR) ที่ promoter ของยีน *cyp51A* เช่น TR<sub>34</sub>/L98H ที่พบมากที่สุดและแพร่กระจายไปทั่วโลก<sup>(21)</sup> มีผลทำให้เกิดการดื้อยาต่อ itraconazole, voriconazole และบางครั้งอาจก่อให้เกิดการดื้อยาต่อ posaconazole<sup>(26, 27)</sup> นอกจากนั้นการกลายพันธุ์อื่น ๆ เช่น TR<sub>46</sub>/Y121F/T289A ก็จะทำให้เชื้อดื้อต่อ

voriconazole สูงขึ้น<sup>(28-30)</sup>

## 2. ยาด้านเชื้อรากลุ่ม polyenes

กลไกการทำงานของกลุ่ม polyenes เช่น amphotericin B ในการทำลายเชื้อรา นั้นคือการที่ตัวยาสสามารถจับได้กับ ergosterol บนเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา และก่อให้เกิดช่องว่างที่ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ขาดสภาพสมดุล<sup>(31, 32)</sup> กลไกในการดื้อยาในกลุ่มนี้<sup>(22)</sup> ได้แก่

ก. การกลายพันธุ์ของยีนแบบ loss of function ของยีน *erg3* ก่อให้เกิดภาวะ resistance พบใน *C. albicans*

ข. การตอบสนองต่อภาวะความตึงเครียดต่อเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane stress) ส่งผลให้เกิดการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน ERG5, ERG6, ERG25 รวมทั้งส่งผลต่อการทำงานของ HSP90 ซึ่งสัมพันธ์กับภาวะ drug tolerance

## 3. ยาด้านเชื้อรากลุ่ม Echinocandins เช่น micafungin, anidulafungin เป็นต้น<sup>(22)</sup>

ก. การกลายพันธุ์ของยีน *fks1* ซึ่งเป็นยีนที่สำหรับสร้าง 1,3-B-D-glucan synthase มักพบเป็นกลไกการดื้อยาใน *Candida* และ *Fusarium* spp.

ข. Stress response pathway: HSP90/calcineurin/RAS/mTOR response ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะดื้อยา

## 4. ยาด้านเชื้อรากลุ่ม Pyrimidine analogues เช่น flucytosine เป็นต้น<sup>(22)</sup>

ก. Point mutation ที่ยีน *fcy1* (*Candida* spp.)

## Update on CLSI & EUCAST and antifungal susceptibility tests

สำหรับ CLSI ล่าสุดในการแปลผลเชื้อในกลุ่ม *Candida* spp. คือ CLSI M27M44S, 2022<sup>(33)</sup> สามารถสรุป clinical breakpoint สำหรับเชื้อ *Candida* spp. ที่พบบ่อยได้ดังตารางที่ 1 โดยมีการเพิ่มยา rezafungin และข้อมูลของ *Candida auris* clinical breakpoint โดยกำหนดค่า susceptible สำหรับยา rezafungin คือ  $\leq 0.5$  มก./มล.

สำหรับเชื้อราเส้นสายนั้น CLSI M38M51S, 2022<sup>(34)</sup> ได้มีการกำหนด clinical breakpoint ของเชื้อ *Aspergillus fumigatus sensu stricto* โดยกำหนดค่า susceptible, intermediate และ resistant สำหรับยา voriconazole ไว้ดังนี้  $\leq 0.5$ , 1 และ  $\geq 2$  ตามลำดับ

สำหรับเชื้อบางกลุ่มและยาบางชนิดที่ไม่ครอบคลุมใน CLSI นั้น ได้มีการแนะนำให้จัดทำ epidemiological cut-off values (ECVs) โดยรวบรวมข้อมูล MIC จากเชื้อที่ไม่ดื้อยา<sup>(35)</sup>

ตารางที่ 1. การแปลผลความไวรับของเชื้อ *Candida* spp. ตาม CLSI M27M44S, 2022<sup>(33)</sup>

ยาด้านเชื้อรา	Clinical breakpoint (มก./มล.)								
	<i>C. albicans</i>			<i>C. glabrata</i>			<i>C. tropicalis</i>		
	S	SDD/I*	R	S	SDD/I*	R	S	SDD/I*	R
Fluconazole	≤2	4	≥8	-	≤32	≥64	≤2	4	≥8
Voriconazole	≤0.12	0.25-0.5	≥1	-	-	-	≤0.12	0.25-0.5	≥1
Anidulafungin	≤0.25	0.5	≥1	≤0.12	0.25	≥0.5	≤0.25	0.5	≥1
Caspofungin	≤0.25	0.5	≥1	≤0.12	0.25	≥0.5	≤0.25	0.5	≥1
Micafungin	≤0.25	0.5	≥1	≤0.06	0.12	≥0.25	≤0.25	0.5	≥1
Rezafungin	≤0.25	-	-	≤0.5	-	-	≤0.25	-	-

MIC: minimal inhibitory concentration, S: susceptible, SSD: susceptible dose-dependent, I: intermediate, R: resistant

\*SSD ใช้สำหรับ fluconazole เท่านั้น

สำหรับ EUCAST นั้น มีการเปลี่ยนแปลงตารางการแปลผลอย่างสม่ำเสมอ (EUCAST: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_fungi/](http://www.eucast.org/ast_of_fungi/)) ล่าสุดตารางแสดงความไวรับของเชื้อทั้งยีสต์และราเส้นสายเป็นฉบับที่ 10 ในปี ค.ศ. 2020 สามารถสรุปการแปลผลความไวรับของเชื้อราที่สำคัญได้ดังตารางที่ 2 และตารางที่ 3

ตารางที่ 2. การแปลผลความไวรับของเชื้อ *Candida* spp. ตาม EUCAST version 10.0, 2020 (EUCAST: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_fungi/](http://www.eucast.org/ast_of_fungi/)) (ND: Not determined)

ยาด้านเชื้อรา	Clinical breakpoint (มก./มล.)								
	<i>C. albicans</i>			<i>C. glabrata</i>			<i>C. tropicalis</i>		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Fluconazole	≤2	4	>4	≤0.001	≤16	>16	≤2	4	>4
Isavuconazole	ND	-	ND	ND	-	ND	ND	-	ND
Itraconazole	≤0.06	-	>0.06	ND	-	ND	≤0.125	-	>0.125
Voriconazole	≤0.06	0.125-0.25	>0.25	ND	-	ND	≤0.125	0.25	>0.25
Posaconazole	≤0.06	-	>0.06	ND	-	ND	≤0.06	-	>0.06
Anidulafungin	≤0.03	-	>0.03	≤0.06	-	>0.06	≤0.06	-	>0.06
Micafungin	≤0.016	-	>0.016	≤0.03	-	>0.03	ND	-	ND
Amphotericin B	≤1	-	>1	≤1	-	>1	≤1	-	>1

ตารางที่ 3. การแปลผลความไวรับของเชื้อ *Aspergillus* spp. ตาม EUCAST version 10.0, 2020 (EUCAST: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_fungi/](http://www.eucast.org/ast_of_fungi/)) (ND: Not determined)

ยาด้านเชื้อรา	Clinical breakpoint (มก./มล.)					
	<i>A. flavus</i>	<i>A. fumigatus</i>		<i>A. terreus</i>		
	S	R	S	R	S	R
Isavuconazole	1	2	≤1	>2	≤1	>1
Itraconazole	≤1	>1	≤1	>1	≤1	>1
Voriconazole	ND	ND	≤1	>1	ND	ND
Posaconazole	ND	ND	≤0.125	>0.25	≤0.125	>0.25
Amphotericin B	-	-	≤1	>1	-	-

สิ่งที่สำคัญที่ควรคำนึงถึงไม่ว่าจะยึดการแปลผลตาม CLSI หรือ EUCAST นอกจากวิธีการทดสอบทั้งสองจะแตกต่างกันแล้ว ค่าการแปลผลก็มีความแตกต่างกัน ดังนั้นหากใช้วิธีการทดสอบตามหลักการใด ควรต้องแปลผลค่าความไวรับตามหลักการนั้น ๆ และทุกครั้งควรมีการเปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐาน (quality controls) ได้แก่ *C. parapsilosis* ATCC22019, *C. krusei* ATCC6258, *A. fumigatus* ATCC204305, *A. flavus* ATCC204304, *A. fumigatus* F6919, *A. flavus* CM1813 เป็นต้น<sup>(33, 34, 36)</sup>

## Molecular detection of antifungal resistance

สำหรับการตรวจหาการกลายพันธุ์ที่สามารถนำไปสู่การดื้อยาของเชื้อรา นั้น อาจสามารถตรวจหาได้จากวิธีการทาง molecular ที่ใช้ในการทำนายภาวะดื้อยาที่จะเกิดขึ้น โดยสามารถแบ่งการตรวจหาขึ้นได้ 2 รูปแบบ<sup>(37)</sup> ดังนี้

### 1. Intrinsic microbiological resistance detection

ภาวะการดื้อยานี้เป็นคุณสมบัติของเชื้อราในแต่ละกลุ่มที่มีมาแต่แรกโดยที่ยังไม่เคยสัมผัสยาด้านเชื้อราที่ดื้อมาก่อน โดยที่ภาวะนี้เป็นภาวะที่พบบ่อยในกลุ่มเชื้อราจำเพาะ ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องทดสอบความไวรับยาด้านเชื้อราที่ติดกับกลุ่มเชื้อราจำเพาะที่มีภาวะ intrinsic resistance ยกตัวอย่างเช่น *Candida krusei* (*Pichia kudriavzevii*) และ *Aspergillus fumigatus* มี intrinsic resistance ต่อยาในกลุ่ม fluconazole, Basidiomycetes และ Mucorales มี intrinsic resistance ต่อยาในกลุ่ม echinocandins

การจัดจำแนกชนิดของเชื้อราถึงระดับ species สามารถใช้ในการทำนายภาวะ intrinsic resistance ที่พบได้ในเชื้อราแต่ละชนิด โดยวิธีการจัดจำแนกเชื้อราสามารถใช่วิธีการเชิงโมเลกุลได้ อาทิ เช่น matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) เป็นต้น<sup>(38)</sup> แต่อย่างไรก็ตามวิธี MALDI-TOF ขึ้นอยู่กับขั้นตอนการสกัดและฐานข้อมูล ดังนั้นเชื้อราเส้นสายที่สกัดโปรตีนได้ยากอาจทำให้

การแปลผลคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นวิธีการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราที่เป็นมาตรฐานยังคงเป็นวิธีการทางพันธุกรรม คือ DNA sequencing<sup>(39)</sup>

สำหรับการจัดจำแนกเชื้อราโดยใช้ลำดับเบสนั้น บริเวณยีนที่นิยมในการใช้จัดจำแนก คือ ribosomal DNA internal transcribed spacers regions (ITS)<sup>(40)</sup> ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกเชื้อในกลุ่ม *Candida* และ Mucorales ถึงระดับ species ได้อย่างแม่นยำ สำหรับเชื้อในกลุ่ม *Aspergillus* นั้นต้องใช้ ITS sequencing ร่วมกับ calmodulin sequencing (CaM)<sup>(41)</sup> สำหรับเชื้อในกลุ่ม *Fusarium* ต้องใช้ ITS sequencing ร่วมกับ RNA polymerase II (RPB2) และ translation elongation factor 1 alpha (TEF1)<sup>(42)</sup>

ในปัจจุบันมีการนำความรู้เชิงโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการโดยสามารถจัดจำแนกเชื้อได้จากผลเพาะเชื้อจากเลือด ซึ่งทำให้ได้ผลอย่างรวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดคือสามารถจัดจำแนกเชื้อได้ถึงระดับ species ในบางสายพันธุ์ อาทิเช่น BioFire-FilmArray, *Candida* PNA FISH assay, T2*Candida*, SeptiFast เป็นต้น<sup>(43)</sup> โดย BioFire Filmarray สามารถจัดจำแนกเชื้อ *Candida albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. glabrata sensu stricto*, *C. tropicalis*, *C. krusei* (intrinsic fluconazole resistance), *Cryptococcus neoformans/gattii* complex (intrinsic echinocandin resistance), *Candida auris* (multidrug resistance)<sup>(43)</sup> สำหรับเชื้อในกลุ่ม *Aspergillus* ได้มีการพัฒนาชุด real-time PCR เพื่อใช้ในการตรวจหาชนิดของ *Aspergillus* และการดื้อยา azole ในห้องปฏิบัติการ เช่น AsperGenius ซึ่งสามารถจัดจำแนกเชื้อในกลุ่ม *A. fumigatus*, *A. terreus* และ *Aspergillus* species ได้<sup>(44)</sup>

## 2. Secondary resistance detection

จากความรู้ด้านกลไกการดื้อยาของเชื้อรา การกลายพันธุ์ของยีน *erg11* และ *cyp51a* มีความสัมพันธ์ในการทำนายการดื้อยาในกลุ่ม azole ของเชื้อ *Candida* และ *Aspergillus* ตามลำดับ รวมทั้งการกลายพันธุ์ของยีน *fks* ส่งผลต่อการดื้อยาในกลุ่ม echinocandins ในการศึกษาการกลายพันธุ์ในยีนดังกล่าวสามารถใช้วิธี PCR-based sequencing จนถึงวิธี whole genome sequencing (WGS)<sup>(37)</sup> เช่น AsperGenius multiplex real-time PCR นอกจากสามารถใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Aspergillus* spp. โดยมีเป้าหมายอยู่ที่ 28S ribosomal RNA แล้ว ยังสามารถตรวจหาการกลายพันธุ์ที่พบบ่อยของ *cyp51a* ซึ่งอาจนำไปสู่การดื้อยาในกลุ่ม azoles ได้ เช่น TR34, L98H, Y121F, T289A โดยที่การทดสอบนี้เป็นการทดสอบโดยตรงต่อน้ำล้างปอด ใช้วิธีการวิเคราะห์ melting curve<sup>(45)</sup> จากการศึกษาความไวในการตรวจหาเชื้อ *Aspergillus* spp. จากผู้ป่วยโรคโลหิตจาง และผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤติ เปรียบเทียบกับ galactomannan assay พบว่ามีความไวและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อมากกว่าร้อยละ 80 และนอกจากนั้นยังช่วยในการทำนายโรค และการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Aspergillus* spp. จากภาวะดื้อยาของเชื้อได้อีกด้วย<sup>(46, 47)</sup> อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่อง commercial kits ทำให้การศึกษาหรือการตรวจหาภาวะดื้อยาในกลุ่มนี้ยังขึ้นอยู่กับ in-house molecular methods ในเชิงวิจัย โดยเฉพาะวิธีการ next-generation sequencing ต่อยีนที่มีการกลายพันธุ์ *erg11* และ *cyp51a* ซึ่งยังคงมีความหลากหลายในวิธีการขึ้นอยู่กับแต่ละสถาบัน ในอนาคตหากมีการรวบรวมและตีพิมพ์เป็นวิธีการมาตรฐาน

ในห้องปฏิบัติการ อาจสามารถนำไปสู่การบ่งชี้ภาวะดื้อยาของเชื้อราเหล่านี้ได้อย่างแม่นยำ โดยมีการเปรียบเทียบกับวิธีการ antifungal susceptibility test ต่อไป

## บทสรุป

อัตราการติดเชื้อราเพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นการติดเชื้อแทรกซ้อนจากการติดเชื้ออื่น โดยเฉพาะในช่วงภาวะโควิด 2019 นอกจากนั้นอัตราการดื้อยาด้านเชื้อรายังพบสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง การรักษาโรคติดเชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงตามอัตราการพบเชื้อและอัตราการดื้อยาของเชื้อ ดังนั้นการตรวจหาภาวะดื้อยาของเชื้อจึงมีความสำคัญมากขึ้นตามลำดับ เพื่อสรรหายาด้านเชื้อราที่เหมาะสมในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อราแบบลุกลาม สำหรับข้อมูลความไวรับของเชื้อราต่อยาด้านเชื้อราในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ทำให้ยากต่อการเลือกใช้ยาในการรักษาโรคติดเชื้อรา การรณรงค์ให้ตระหนักถึงความจำเป็นในการศึกษาความไวรับยาด้านเชื้อราและการจัดทำสถิติความไวรับของแต่ละเชื้อในแต่ละโรงพยาบาลจึงมีความสำคัญในการเฝ้าระวังและป้องกันการเกิดเชื้อดื้อยาในอนาคต รวมทั้งการสนับสนุนการใช้ยาด้านเชื้อราอย่างสมเหตุสมผลมีความสำคัญในการป้องกันการดื้อยาและช่วยลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่ติดเชื้อราในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราดื้อยา รวมทั้งการตรวจหาภาวะดื้อยาของเชื้อรา จึงมีประโยชน์ในการเฝ้าระวัง ในการรักษา ในการเลือกยาที่เหมาะสมแก่ผู้ป่วยที่ติดเชื้อรา และในที่สุดประโยชน์จากการรักษาอย่างเหมาะสมจะสะท้อนจากอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยติดเชื้อราที่ลดลง และการเพิ่มคุณภาพชีวิตที่ดีของผู้ป่วยที่ติดเชื้อราต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง

1. Thailand. Office of the National Economic and Social Development Board 2010 [Available from: [http://social.nesdb.go.th/SocialStat/StatSubDefault\\_Final.aspx?catid=3](http://social.nesdb.go.th/SocialStat/StatSubDefault_Final.aspx?catid=3)].
2. Wilkendorf LS, Bowles E, Buil JB, van der Lee HAL, Posteraro B, Sanguinetti M, et al. Update on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Identification of Filamentous Fungi. *J Clin Microbiol.* 2020;58(12).
3. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A, Chen SCA, Colombo AL, Hoenigl M, et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *Lancet Infect Dis.* 2021;21(6):e149-e62.
4. Kume H, Yamazaki T, Togano T, Abe M, Tanuma H, Kawana S, et al. Epidemiology of visceral mycoses in autopsy cases in Japan: comparison of the data from 1989, 1993, 1997, 2001, 2005 and 2007 in Annual of Pathological Autopsy Cases in Japan. *Med Mycol J.* 2011;52(2):117-27.
5. Yamazaki T, Kume H, Murase S, Yamashita E, Arisawa M. Epidemiology of visceral mycoses: analysis of data in annual of the pathological autopsy cases in Japan. *J Clin*

- Microbiol. 1999;37(6):1732-8.
6. Chakrabarti A, Chatterjee SS, Shivaprakash MR. Overview of opportunistic fungal infections in India. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2008;49(3):165-72.
  7. Chakrabarti A, Chatterjee SS, Das A, Panda N, Shivaprakash MR, Kaur A, et al. Invasive zygomycosis in India: experience in a tertiary care hospital. *Postgrad Med J*. 2009;85(1009):573-81.
  8. Slavin MA. The epidemiology of candidaemia and mould infections in Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2002;49 Suppl 1:3-6.
  9. Heath CH, Slavin MA, Sorrell TC, Handke R, Harun A, Phillips M, et al. Population-based surveillance for scedosporiosis in Australia: epidemiology, disease manifestations and emergence of *Scedosporium aurantiacum* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(7):689-93.
  10. Chaiwarith R, Fakhongyoo A, Praparattanapan J, Boonmee D, Sirisanthana T, Supparatpinyo K. Itraconazole vs Fluconazole as a Primary Prophylaxis for Fungal Infections in HIV-Infected Patients in Thailand. *Curr HIV Res*. 2011.
  11. Ungpakorn R. Mycoses in Thailand: current concerns. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2005;46(2):81-6.
  12. Chariyalertsak S, Supparatpinyo K, Sirisanthana T, Nelson KE. A controlled trial of itraconazole as primary prophylaxis for systemic fungal infections in patients with advanced human immunodeficiency virus infection in Thailand. *Clin Infect Dis*. 2002;34(2):277-84.
  13. Chariyalertsak S, Sirisanthana T, Saengwonloey O, Nelson KE. Clinical presentation and risk behaviors of patients with acquired immunodeficiency syndrome in Thailand, 1994-1998: regional variation and temporal trends. *Clin Infect Dis*. 2001;32(6):955-62.
  14. Mahaisavariya P, Chaiprasert A, Sivayathorn A, Khemngern S. Deep fungal and higher bacterial skin infections in Thailand: clinical manifestations and treatment regimens. *Int J Dermatol*. 1999;38(4):279-84.
  15. Sukroongreung S, Nilakul C, Ruangsomboon O, Chuakul W, Eampokalap B. Serotypes of *Cryptococcus neoformans* isolated from patients prior to and during the AIDS era in Thailand. *Mycopathologia*. 1996;135(2):75-8.
  16. Imwidthaya P. Systemic fungal infections in Thailand. *J Med Vet Mycol*. 1994;32(5):395-9.
  17. Kiertiburanakul S, Thibbadee C, Santanirand P. Invasive aspergillosis in a tertiary-care hospital in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2007;90(5):895-902.
  18. Brown GD, Denning DW, Gow NA, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*. 2012;4(165):165rv13.
  19. Perfect JR. The antifungal pipeline: a reality check. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(9):603-16.
  20. Shapiro RS, Robbins N, Cowen LE. Regulatory circuitry governing fungal development,

- drug resistance, and disease. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2011;75(2):213-67.
21. Snelders E, van der Lee HA, Kuijpers J, Rijs AJ, Varga J, Samson RA, et al. Emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* and spread of a single resistance mechanism. *PLoS Med.* 2008;5(11):e219.
  22. Fisher MC, Alastruey-Izquierdo A, Berman J, Bicanic T, Bignell EM, Bowyer P, et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. *Nat Rev Microbiol.* 2022;20(9):557-71.
  23. Vanden Bossche H. Biochemical targets for antifungal azole derivatives: hypothesis on the mode of action. *Curr Top Med Mycol.* 1985;1:313-51.
  24. Yoshida Y, Aoyama Y. Interaction of azole antifungal agents with cytochrome P-45014DM purified from *Saccharomyces cerevisiae* microsomes. *Biochem Pharmacol.* 1987;36(2):229-35.
  25. Yoshida Y. Cytochrome P450 of fungi: primary target for azole antifungal agents. *Curr Top Med Mycol.* 1988;2:388-418.
  26. Chowdhary A, Sharma C, Hagen F, Meis JF. Exploring azole antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus* with special reference to resistance mechanisms. *Future Microbiol.* 2014;9(5):697-711.
  27. Prigitano A, Venier V, Cogliati M, De Lorenzis G, Esposto MC, Tortorano AM. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the environment of northern Italy, May 2011 to June 2012. *Euro Surveill.* 2014;19(12):20747.
  28. Vermeulen E, Lagrou K, Verweij PE. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a growing public health concern. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26(6):493-500.
  29. van der Linden JW, Camps SM, Kampinga GA, Arends JP, Debets-Ossenkopp YJ, Haas PJ, et al. Aspergillosis due to voriconazole highly resistant *Aspergillus fumigatus* and recovery of genetically related resistant isolates from domiciles. *Clin Infect Dis.* 2013;57(4):513-20.
  30. van Ingen J, van der Lee HA, Rijs TA, Zoll J, Leenstra T, Melchers WJ, et al. Azole, polyene and echinocandin MIC distributions for wild-type, TR34/L98H and TR46/Y121F/T289A *Aspergillus fumigatus* isolates in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70(1):178-81.
  31. Hamilton-Miller JM. Fungal sterols and the mode of action of the polyene antibiotics. *Adv Appl Microbiol.* 1974;17(0):109-34.
  32. Torrado JJ, Espada R, Ballesteros MP, Torrado-Santiago S. Amphotericin B formulations and drug targeting. *J Pharm Sci.* 2008;97(7):2405-25.
  33. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 3rd ed. CLSI supplement M27M44S: Clinical and Labora-

- tory Standards Institute, USA; 2022.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. 3rd ed. CLSI supplement M38M51S: Clinical and Laboratory Standards Institute, USA; 2022.
  35. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(4):e1-50.
  36. Alastruey-Izquierdo A, Melhem MS, Bonfietti LX, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility Test for Fungi: Clinical and Laboratorial Correlations in Medical Mycology. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015;57 Suppl 19:57-64.
  37. Garcia-Effron G. Molecular Markers of Antifungal Resistance: Potential Uses in Routine Practice and Future Perspectives. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(3).
  38. Iriart X, Lavergne RA, Fillaux J, Valentin A, Magnaval JF, Berry A, et al. Routine identification of medical fungi by the new Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight system with a new time-effective strategy. *J Clin Microbiol*. 2012;50(6):2107-10.
  39. Guarro J, Gene J, Stchigel AM. Developments in fungal taxonomy. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(3):454-500.
  40. Irinyi L, Lackner M, de Hoog GS, Meyer W. DNA barcoding of fungi causing infections in humans and animals. *Fungal Biol*. 2016;120(2):125-36.
  41. Samson RA, Visagie CM, Houbraeken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol*. 2014;78:141-73.
  42. van Diepeningen AD, Feng P, Ahmed S, Sudhadham M, Bunyaratavej S, de Hoog GS. Spectrum of *Fusarium* infections in tropical dermatology evidenced by multilocus sequencing typing diagnostics. *Mycoses*. 2015;58(1):48-57.
  43. Simor AE, Porter V, Mubareka S, Chouinard M, Katz K, Vermeiren C, et al. Rapid Identification of *Candida* Species from Positive Blood Cultures by Use of the FilmArray Blood Culture Identification Panel. *J Clin Microbiol*. 2018;56(12).
  44. Pelzer BW, Seufert R, Koldehoff M, Liebrechts T, Schmidt D, Buer J, et al. Performance of the AsperGenius(R) PCR assay for detecting azole resistant *Aspergillus fumigatus* in BAL fluids from allogeneic HSCT recipients: A prospective cohort study from Essen, West Germany. *Med Mycol*. 2020;58(2):268-71.
  45. Chong GL, van de Sande WW, Dingemans GJ, Gaajetaan GR, Vonk AG, Hayette MP, et al. Validation of a new *Aspergillus* real-time PCR assay for direct detection of *Aspergillus* and azole resistance of *Aspergillus fumigatus* on bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol*. 2015;53(3):868-74.

46. Perlin DS, Wiederhold NP. Culture-Independent Molecular Methods for Detection of Antifungal Resistance Mechanisms and Fungal Identification. *J Infect Dis.* 2017;216 (suppl\_3):S458-S65.
47. Chong GM, van der Beek MT, von dem Borne PA, Boelens J, Steel E, Kampinga GA, et al. PCR-based detection of *Aspergillus fumigatus* Cyp51A mutations on bronchoalveolar lavage: a multicentre validation of the AsperGenius assay(R) in 201 patients with haematological disease suspected for invasive aspergillosis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(12):3528-35.