

การศึกษาเชื้อดื้อยาและการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ไวรัสไข้หวัดใหญ่

ระหว่าง มกราคม – ธันวาคม พ.ศ. 2551

ศูนย์ไข้หวัดใหญ่แห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ความเป็นมา

ศูนย์ไข้หวัดใหญ่แห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ร่วมกับศูนย์ควบคุมและป้องกันโรค ประเทศสหรัฐอเมริกา (US-CDC) ดำเนินโครงการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่เป็นระยะเวลา 5 ปี ตั้งแต่เดือนกันยายน 2547 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยเก็บตัวอย่าง throat swab จากผู้ป่วยที่มีอาการคล้ายไข้หวัดใหญ่ (influenza-like illness) จากโรงพยาบาลและสถานบริการสาธารณสุขรวม 10 แห่ง ได้แก่ โรงพยาบาลแม่สอด, หนองคาย, พระปกเกล้า, หาดใหญ่, แม่จัน, เชียงแสน, เกาะช้าง, กรุงเทพ-สมุย, เกาะสมุย และศูนย์บริการสาธารณสุข 17 กรุงเทพมหานคร

ผลการเฝ้าระวังสายพันธุ์ไวรัสไข้หวัดใหญ่ทางห้องปฏิบัติการ พ.ศ. 2551

ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม 2551 ศูนย์ไข้หวัดใหญ่แห่งชาติได้รับตัวอย่าง throat swab จำนวน 3,736 ตัวอย่าง และนำมาแยกเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่และวิเคราะห์หาสายพันธุ์ พบผลบวก 906 ตัวอย่าง (ร้อยละ 24.25) ในจำนวนนี้เป็น influenza A/H1 จำนวน 271 ตัวอย่าง (ร้อยละ 29.91) influenza A/H3 จำนวน 246 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27.15) และ influenza B จำนวน 389 ตัวอย่าง (ร้อยละ 42.94) พบการระบาดของ influenza B ชัดเจนในช่วงต้นปีและปลายปี 2551 โดยเฉพาะ ในเดือนมกราคม พบผลบวกสูงถึงร้อยละ 26.62

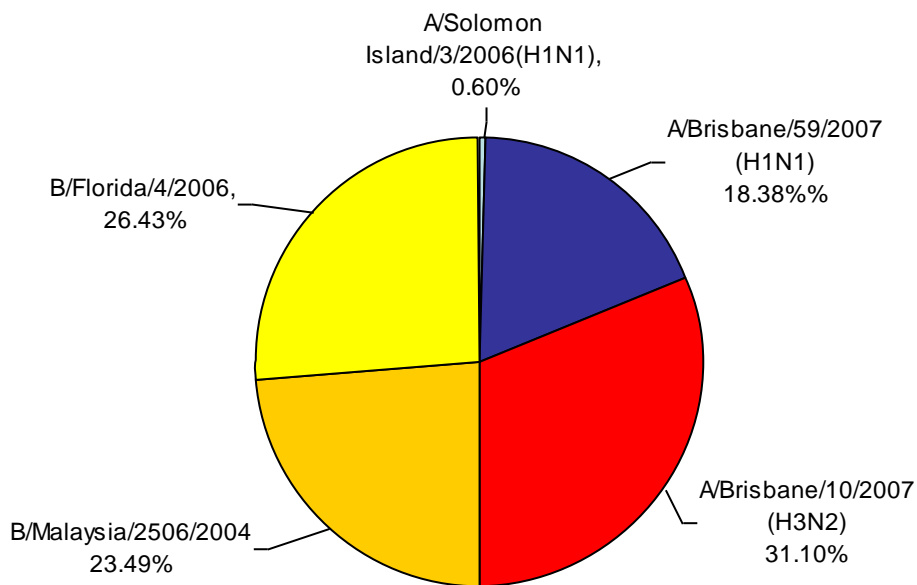
นอกจากนี้ การเฝ้าระวังยังทำให้พบการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดใหญ่ ดังนี้

- A/H1N1 สายพันธุ์ A/Solomon Islands/3/2006 พบเฉพาะในเดือนมกราคม คิดเป็นร้อยละ 3.13 หลังจากนั้นพบเฉพาะสายพันธุ์ A/Brisbane/59/2007 คิดเป็นร้อยละ 96.87 ของสายพันธุ์ A/H1N1

- A/H3N2 พบเฉพาะสายพันธุ์ A/Brisbane/10/2007 เป็นสัดส่วนสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 31.10 ของสายพันธุ์ไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่แยกได้ทั้งหมด (รูปที่ 1)

- Influenza B พบ 2 สายพันธุ์ คือ B/Malaysia/2506/2004 และ B/Florida/4/2006 เท่ากับร้อยละ 47.06 และ 52.94 ของสายพันธุ์ Influenza B ตามลำดับ แต่แนวโน้มพบว่า B/Florida/4/2006 กำลังเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงปัจจุบันเป็นอันดับ 2 (รูปที่ 1) ซึ่งจากข้อมูลเฝ้าระวังนี้จะเห็นได้ว่า ประเทศไทยสามารถเลือกใช้วัคซีนที่ประกาศใช้ในซีกโลกเหนือและซีกโลกใต้ในปี 2551-2552 ซึ่งทั้งสองวัคซีนมีสายพันธุ์ไวรัสวัคซีนตรงกันทุกประการ (ตารางที่ 1) บริษัทผลิตวัคซีนเมื่อทราบสายพันธุ์ไวรัสที่ต้องใช้ทำวัคซีน จะต้องดำเนินการขอเชื้อจากองค์การอนามัยโลกและเริ่มขบวนการผลิตจนเสร็จสิ้นการทดสอบความปลอดภัย ซึ่งทั้งหมดใช้เวลาประมาณ 6 เดือน โดยทุกๆปีองค์การอนามัยโลกจะ

ประกาศใช้วัคซีนทางซีกโลกเหนือในเดือนกุมภาพันธ์แต่วัคซีนจะนำเข้ามาในประเทศไทยประมาณเดือนกันยายนของปีนั้น ส่วนวัคซีนทางซีกโลกใต้จะประกาศในเดือนกันยายนและนำเข้ามาในประเทศไทยประมาณเดือนมีนาคมของปีถัดไป ดังนั้นวัคซีนทางซีกโลกใต้ที่มีจำหน่ายอยู่ในขณะนี้ยังเป็นวัคซีนที่ประกาศใช้เมื่อเดือนกันยายน 2550 ซึ่งมีสายพันธุ์ H1N1 เป็น A/Solomon Islands/3/2006 ซึ่งไม่ตรงกับสายพันธุ์ในประเทศไทย ส่วนวัคซีนทางซีกโลกใต้ที่เพิ่งประกาศใช้เมื่อเดือนกันยายน 2551 จะต้องใช้เวลาลผลิตอีก 6 เดือน และจะนำเข้ามาในประเทศไทยประมาณเดือนมีนาคม 2552



รูปที่ 1 แสดงสายพันธุ์ไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่แยกได้ในโครงการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึง ตุลาคม พ.ศ.2551

ตารางที่ 1 แสดงสายพันธุ์วัคซีนไข้หวัดใหญ่ที่ประกาศใช้ทางซีกโลกเหนือและซีกโลกใต้
ในปี พ.ศ. 2551-2552 โดยองค์การอนามัยโลก

วัคซีนไข้หวัดใหญ่ที่ใช้ทางซีกโลกเหนือ	วัคซีนไข้หวัดใหญ่ที่ใช้ทางซีกโลกใต้
<p>It is recommended that vaccines for use in the 2008-2009 influenza season (northern hemisphere winter) contain the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> — an A/Brisbane/59/2007 (H1N1)-like virus — an A/Brisbane/10/2007 (H3N2)-like virus* — a B/Florida/4/2006-like virus.# <p>* A/Brisbane/10/2007 is a current southern hemisphere vaccine virus.</p> <p># B/Florida/4/2006 and B/Brisbane/3/2007 (a B/Florida/4/2006-like virus) are current southern hemisphere vaccine viruses.</p>	<p>It is recommended that vaccines for use in the 2009 influenza season (southern hemisphere winter) contain the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> — an A/Brisbane/59/2007 (H1N1)-like virus;* — an A/Brisbane/10/2007 (H3N2)-like virus;** — a B/Florida/4/2006-like virus.# <p>* A/South Dakota/6/2007 (an A/Brisbane/59/2007 (H1N1)-like virus) is a current vaccine virus used in live attenuated vaccines</p> <p>** A/Brisbane/10/2007 and A/Uruguay/716/2007 (an A/Brisbane/10/2007 (H3N2)-like virus) are current vaccine viruses</p> <p># B/Florida/4/2006 and B/Brisbane/3/2007 (a B/Florida/4/2006-like virus) are current vaccine viruses</p>

ผลการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ดื้อยา

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข โดยศูนย์ไข้หวัดใหญ่แห่งชาติ ได้เฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่คือต่อยา Oseltamivir มาอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะเชื้อ influenza A/H1N1 ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้แจ้งให้เครือข่ายห้องปฏิบัติการฯ ทำการเฝ้าระวังเชื้อ A/H1N1 เป็นพิเศษ เนื่องจากพบว่าปลายปี พ.ศ. 2550 ถึง 2551 มีรายงานพบเชื้อ A/H1N1 คือยา Oseltamivir ในอัตราสูงมาก โดยเฉพาะในแถบสหภาพยุโรป ซึ่งเดิมพบเพียงร้อยละ 0.5 แต่ในปัจจุบัน มีบางประเทศพบสูงถึงร้อยละ 50 -70 ส่วน influenza A/H3N2 และ influenza B ยังไม่พบการดื้อยาต่อ Oseltamivir แต่อย่างใด

จากการเฝ้าระวังของศูนย์ไข้หวัดใหญ่แห่งชาติ โดยการสุ่มตัวอย่างเชื้อไข้หวัดใหญ่ A/H1N1 ที่แยกได้ในประเทศไทยแต่ละเดือนมาวิเคราะห์ทาง genotypic หา mutation ในส่วน NA gene และ Phenotypic หา IC₅₀ ต่อยา Oseltamivir ซึ่งทั้ง 2 วิธีให้ผลที่สอดคล้องกัน ยกเว้น 1 สายพันธุ์ ที่มี gene บ่งชี้เชื้อดื้อยา (H274Y) แต่เมื่อทดสอบกับยา Oseltamivir ยังคงมีความไวต่อยานี้อยู่ ซึ่งทางศูนย์ไข้หวัดใหญ่ฯ ได้ส่งเชื่อดังกล่าวนี้รวมทั้งสายพันธุ์เชื้อดื้อยาอีก 16 สายพันธุ์ รวม 17 สายพันธุ์ (ดังแสดงในตารางที่ 2) เพื่อตรวจยืนยันที่ WHO collaborating centre for reference and research on influenza (WHOCC) ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งให้ผลตรวจยืนยันตรงกัน โดยทั้งหมดนี้มีความใกล้เคียงกับสายพันธุ์ A/Brisbane/59/2007-like virus (รูปที่ 2) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ใช้ผลิตวัคซีนทางซีกโลกเหนือและซีกโลกใต้สำหรับปี 2551-2552 ดังนั้นการรับวัคซีนไข้หวัดใหญ่นอกจากช่วยป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่แล้ว ยังลดการแพร่กระจายเชื้อไข้หวัดใหญ่ A/H1N1 ที่มีอัตราคือต่อยา oseltamivir สูงมาก และเป็นปัญหาต่อ

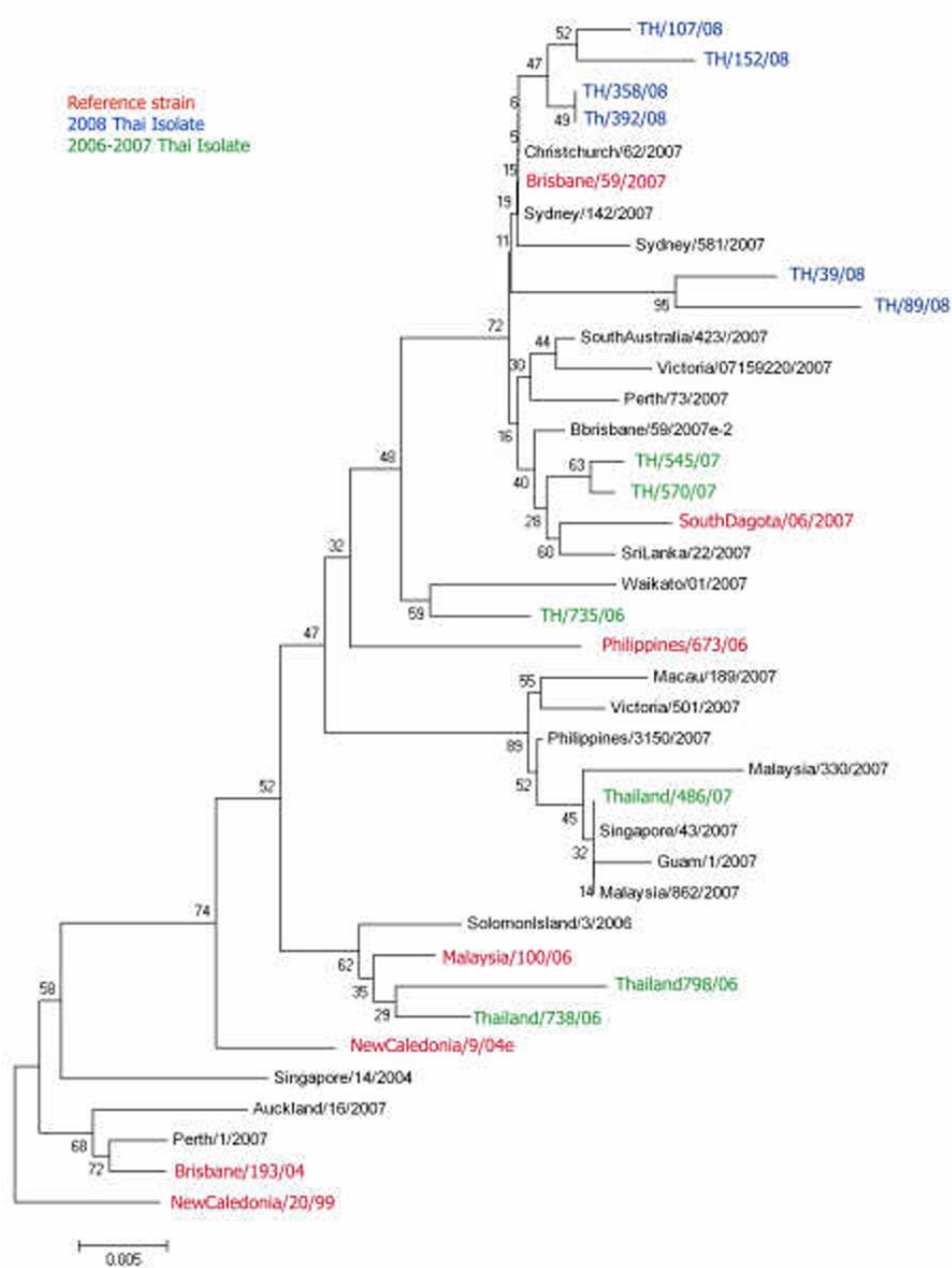
การให้ยารักษาผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่คือยา A/H1N1 เหล่านี้ยังคงไวต่อยาต้านไวรัสตัวอื่นในกลุ่มเดียวกัน คือ zanamivir

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลทางระบาดวิทยาของเชื้อไข้หวัดใหญ่ที่คือต่อยา Oseltamivir ปี พ.ศ. 2551

โดยศูนย์ไข้หวัดใหญ่แห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ลำดับ	จังหวัด	เดือนที่เก็บตัวอย่าง	เพศ	อายุ (ปี)	ชนิดของเชื้อ	ผลการทดสอบการดื้อยา	
						genotypic	Phenotypic(IC ₅₀)
1	สงขลา	มิถุนายน	หญิง	18	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
2	สุราษฎร์ธานี	มิถุนายน	หญิง	3	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
3	สงขลา	กรกฎาคม	ชาย	14	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
4	สงขลา	สิงหาคม	หญิง	55	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
5	กรุงเทพฯ	สิงหาคม	ชาย	2	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
6	หนองคาย	สิงหาคม	ชาย	30	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
7	ตาก	สิงหาคม	หญิง	15	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
8	สุราษฎร์ธานี	ตุลาคม	ชาย	9	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
9	สุราษฎร์ธานี	ตุลาคม	ชาย	45	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
10	สุราษฎร์ธานี	ตุลาคม	ชาย	23	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
11	สงขลา	ตุลาคม	ชาย	29	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
12	สุราษฎร์ธานี	ตุลาคม	ชาย	38	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
13	กรุงเทพฯ	พฤศจิกายน	หญิง	12	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
14	กรุงเทพฯ	พฤศจิกายน	หญิง	13	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
15	กรุงเทพฯ	พฤศจิกายน	หญิง	14	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
16	กรุงเทพฯ	พฤศจิกายน	ชาย	13	A/H1N1	H274Y resistant	resistant
17	ตาก	กุมภาพันธ์	ชาย	5	A/H1N1	H274Y resistant	sensitive*

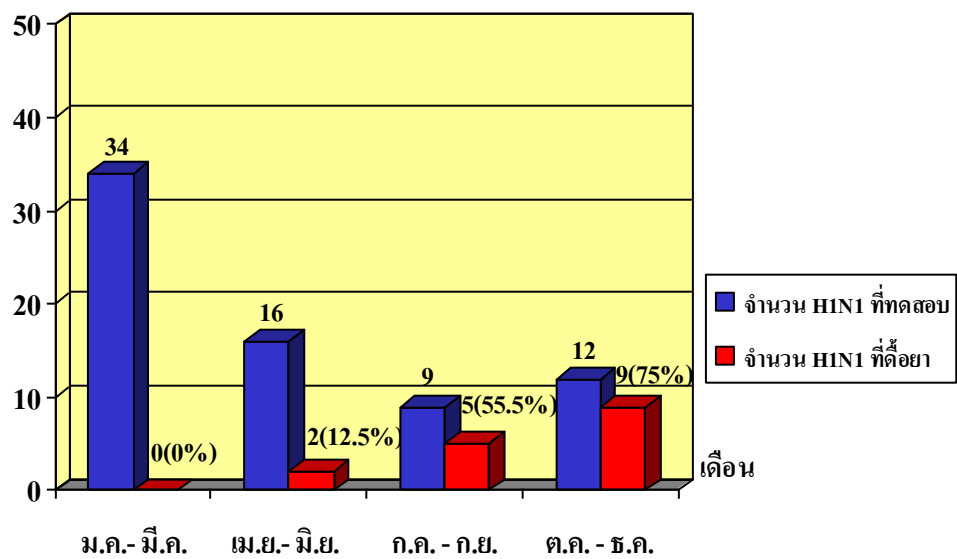
หมายเหตุ : * พบไวรัสไข้หวัดใหญ่ A/H1N1 จำนวน 1 สายพันธุ์ที่แยกได้ที่จังหวัดตาก มี gene บ่งชี้เชื้อดื้อยา (H274Y) แต่เมื่อทดสอบกับยา Oseltamivir ยังคงมีความไวต่อยานี้อยู่ โดยเชื่อดังกล่าวได้ส่งตรวจยืนยันที่ WHO collaborating centre for reference and research on influenza ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งได้ผลตรวจยืนยันตรงกัน



รูปที่ 2 แสดงการจำแนกสายพันธุ์ไวรัส โดยการหาลำดับเบสในส่วน HA ยีน และจัดกลุ่มด้วย Phylogenetic tree พบว่า A/H1N1 ที่แยกได้ในปี 2551 ใกล้เคียงกับ สายพันธุ์วัคซีน A/Brisbane/59/2007(H1N1)-like virus

จากผลการเฝ้าระวังเชื้อคือยา พบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของเชื้อ H1N1 ที่คือยาต้านไวรัส ในไตรมาสที่ 1-4 ของปี 2551 เท่ากับ ร้อยละ 0.00 , 12.50 , 55.55, 75.00 ตามลำดับ (รูปที่ 3) นอกจากนี้เชื้อไวรัสคือยาที่แยกได้ 16 สายพันธุ์ มีการกระจายอยู่ทุกภูมิภาคของประเทศไทย ดังแสดงในรูปที่ 4 ได้แก่ กรุงเทพมหานคร (5) สุราษฎร์ธานี (5) สงขลา (4) นนทบุรี (1) และ ตาก (1) ซึ่งศูนย์ไข้หวัดใหญ่ฯ กำลังประสานไปยังโรงพยาบาลที่ส่งตัวอย่าง เพื่อขอข้อมูลในการใช้ยา Oseltamivir กับผู้ป่วยที่แยกเชื้อคือยาได้ แต่จากข้อมูลที่ผ่านมาขององค์การอนามัยโลก พบผู้ป่วยเพียง 1 ราย จาก 225 รายที่แยกเชื้อสายพันธุ์คือยาได้ และมีประวัติได้รับยา Oseltamivir ในช่วงที่เก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย

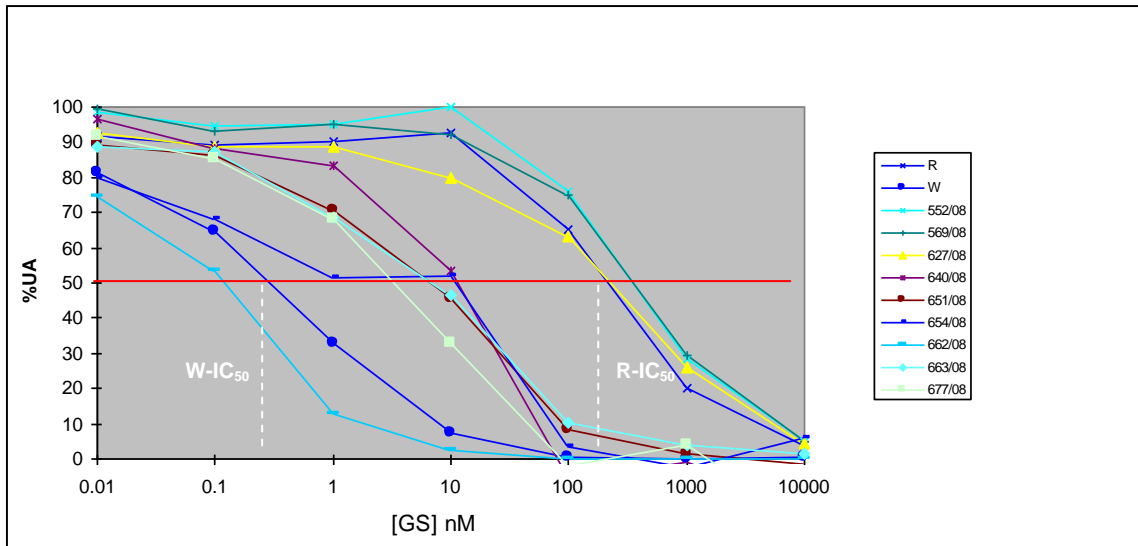
จำนวนสายพันธุ์ H1N1



รูปที่ 3 แสดงร้อยละของสายพันธุ์ A/H1N1 ที่คือยา Oseltamivir จำแนกตามไตรมาสปี พ.ศ. 2551



รูปที่ 4 แสดงการกระจายของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่มีการดื้อยา Oseltamivir ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2551 (n=16)



รูปที่ 5 แสดงผลการทดสอบเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ 9 สายพันธุ์ และเชื้ออ้างอิง 2 สายพันธุ์ (ไวต่อยา และ ตื้อต่อยา) กับยา Osetamivir ด้วยวิธี Fluorometric neuraminidase inhibition assay

ในรูปที่ 5 แกน Y แสดงร้อยละการทำงานของเอนไซม์ neuraminidase ของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ ส่วนแกน X เป็นค่าความเข้มข้นของยา oseltamivir เปรียบเทียบค่า IC_{50} หรือ ความเข้มข้นของยาที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ neuraminidase ได้ 50% ของเชื้อที่แยกได้กับเชื้ออ้างอิง (R-เส้นสีน้ำเงินขวามือสุด) ในกรณีนี้ ผลการทดสอบเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ 9 สายพันธุ์ที่ปรากฏในรูปนี้ พบว่ามี 3 สายพันธุ์ที่ต้องใช้ความเข้มข้นของยา oseltamivir ในปริมาณที่สูงเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ neuraminidase ให้ได้ 50% ซึ่งเข้าได้กับคุณสมบัติของเชื้อตื้อยา

สรุป

ผลการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่คือยาปี 2551 ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อ H1N1 ในประเทศไทยได้คือ ตื้อยา Osetamivir ในสัดส่วนที่สูงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และกระจายอยู่ทุกภูมิภาคของประเทศไทย ซึ่งนับเป็นสัญญาณที่น่าเป็นห่วงว่า การรักษาผู้ป่วยไข้หวัดใหญ่ที่ติดเชื้อ H1N1 ด้วยยา Osetamivir อาจจะไม่ได้ผลดีเช่นในอดีต ดังนั้น แพทย์ควรติดตามข้อมูลเฝ้าระวังเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ตื้อยาอย่างต่อเนื่อง และใช้ประโยชน์จากข้อมูลนี้ในการวางแผนให้การรักษาและสั่งยาต้านไวรัสที่เหมาะสมให้กับผู้ป่วย สงสัยไข้หวัดใหญ่ต่อไป