

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและเป็นประเทศหนึ่งในหลายๆประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งประสบกับปัญหาเกี่ยวกับอันตรายจากการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากยังไม่มีความรู้ที่เพียงพอในการใช้ ก่อให้เกิดการใช้ในปริมาณที่เกินจำเป็น หรือใช้อย่างไม่เหมาะสม รวมทั้งไม่มีการป้องกันตนเอง ซึ่งนอกจากจะก่อให้เกิดอันตรายโดยตรงต่อตนเองแล้ว ยังก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคทางอ้อม เช่น การบริโภคผลผลิตที่ยังมีสารเคมีตกค้างอยู่ เกิดการสะสมของสารพิษในร่างกายก่อให้เกิดอันตรายได้ เป็นต้น นอกจากนี้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชส่วนใหญ่มักก่อให้เกิดความเป็นพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน บางชนิดใช้เวลาเป็นปีเนื่องจากสลายตัวได้ยาก เมื่อพิจารณาในแง่ของปัญหาต่อสุขภาพ จะเป็นที่น่าวิตกที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าก่อให้เกิดโรคต่างๆทั้งชนิดเฉียบพลัน เนื่องจากได้รับสารเคมีเกินปริมาณที่ร่างกายจะรับได้ หรือก่อให้เกิดโรคชนิดเรื้อรัง ซึ่งเกิดจากการได้รับสารเคมีสะสมเป็นระยะเวลานาน นอกจากการก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวมาข้างต้นแล้ว สารเคมีกำจัดศัตรูพืชยังมีผลต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินที่ทำการเพาะปลูก ซึ่งจะก่อให้เกิดการคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียขึ้น โดยจะมีการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะสมเพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะที่มีการปรากฏของสารเคมีเหล่านั้น ก่อให้เกิดการเปลี่ยนกลุ่มประชากรของเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ก่อให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ที่มีความทนทานต่อสภาวะกดดันมากยิ่งขึ้น สิ่งนี้ถือเป็นปัญหาหนึ่งที่มีความสำคัญ เนื่องจากแบคทีเรียในดิน มีบทบาทสำคัญก่อให้เกิดการหมุนเวียนวัฏจักรของสาร เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน ออกซิเจน และแคลเซียม (วีรานุช, 2554) ก่อให้เกิดความหลากหลายในระบบนิเวศ ซึ่งเป็นการพัฒนาอย่างยั่งยืน (Habi and Daba, 2009; Bahig et al., 2008)

โดยทั่วไปแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อสภาวะต่างๆ เช่น อุณหภูมิสูง สภาวะกรด-ด่าง และสารเคมีที่เป็นพิษต่อเซลล์ มักจะมีหลากหลายกระบวนการเมตาโบลิซึม เพื่อช่วยให้เซลล์อยู่รอด (Bahig et al., 2008) และในแบคทีเรียเหล่านั้นมักจะพบพลาสมิด (Plasmid) ซึ่งมีส่วนใหญ่ที่ควบคุมกระบวนการเหล่านั้นมักจะพบที่พลาสมิด และไม่ค่อยมีความสัมพันธ์กับยีนที่จำเป็นต่อการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นถัดไป ซึ่งจะพบอยู่ที่โครโมโซม (chromosome) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูกที่มีการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชรวมถึงปุ๋ยเคมีติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้ความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียในดินเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งส่งผลกระทบต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยในดินจะมีการสะสมของสารเคมีดังกล่าว รวมถึงโลหะหนักซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากการใช้สารเคมี หรืออาจมีอยู่ตามธรรมชาติในดิน สิ่งเหล่านี้นอกจากจะส่งผลกระทบต่อกลุ่มประชากรเชื้อแบคทีเรียในดินแล้ว ยังส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียพัฒนาสายพันธุ์ตนเองให้มีความทนทานต่อทั้งสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และโลหะหนัก โดยมียีนที่พลาสมิดทำหน้าที่ควบคุมลักษณะดังกล่าว ซึ่งการทนทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และโลหะหนักนั้นสามารถถ่ายทอดผ่านยีนจากเชื้อแบคทีเรียที่ทนทานไปสู่เชื้อแบคทีเรียที่ไม่ทนทานได้ หรือถ่ายทอดยีนจากเชื้อแบคทีเรียทั่วไปในสิ่งแวดล้อมไปสู่เชื้อแบคทีเรียก่อโรค รวมถึงอาจ

เกิดการถ่ายทอดยีนระหว่างแบคทีเรียที่ทนทานด้วยกัน ก่อให้เกิดแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติทนทานต่อสิ่งต่างๆหลายชนิดมากยิ่งขึ้น ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องใช้การสืบพันธุ์ แต่ส่วนใหญ่ในสิ่งแวดล้อมจะเกิดผ่านกระบวนการที่เรียกว่าการถ่ายทอดยีนในแนวนราบ (Horizontal gene transfer, HGT) ซึ่งทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถถ่ายทอดยีนข้ามสายพันธุ์กันได้ (Kelly et al., 2009) โดยถือเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีวิวัฒนาการอย่างรวดเร็ว และมีการแพร่กระจายยีนเหล่านี้ไปสู่ประชากรเชื้อแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมแหล่งต่างๆ

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในส่วนของยาปฏิชีวนะ ซึ่งในปัจจุบันจัดเป็นยาที่มีการใช้กันอย่างกว้างทั้งการรักษาโรคติดเชื้อในคน และสัตว์ รวมถึงใช้ในสัตว์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต (Hirsch et al., 1999) แต่เนื่องจากการใช้ยากันอย่างไม่สมเหตุสมผล และใช้กันอย่างเกินจำเป็น จึงก่อให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเชื้อแบคทีเรีย ซึ่ง ณ ปัจจุบันถือเป็นโรคอุบัติใหม่ และจัดเป็นปัญหาใหญ่ในระดับนานาชาติ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และเศรษฐกิจตามมา โดยนอกจากจะพบการดื้อยาปฏิชีวนะตามโรงพยาบาลและในชุมชนแล้ว ยังพบการระบาดตามแหล่งต่างๆในสิ่งแวดล้อมทั่วไป เช่น แหล่งน้ำ, ดิน, ระบบบำบัดน้ำเสีย, ฟาร์มเลี้ยงสัตว์, การประมง, หลุมฝังกลบขยะ เป็นต้น เนื่องจากการดำเนินกิจกรรมต่างๆล้วนแล้วแต่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะ สำหรับคุณสมบัติการดื้อต่อยาปฏิชีวนะนั้นส่วนใหญ่จะถูกควบคุมโดยยีนที่พลาสมิด โดยเกิดการดื้อยาได้จากการอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มียาปฏิชีวนะ หรืออาจเกิดจากการถ่ายทอดยีนดื้อยาด้วยกระบวนการ HGT เช่นเดียวกันกับกรณีคุณสมบัติการทนต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนัก แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียที่ไม่เคยสัมผัสยาปฏิชีวนะก็สามารถที่จะดื้อต่อยานั้นๆได้โดยได้รับการถ่ายทอดยีน นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่พบว่า สภาวะแวดล้อมที่ตึงเครียดบางประการส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ อาทิเช่นโลหะหนัก และยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการทนต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โลหะหนัก และยาปฏิชีวนะบางชนิดมีความสัมพันธ์กัน โดยอาจพบอยู่ที่พลาสมิดชนิดเดียวกัน จะเห็นได้จากการที่มีรายงานการวิจัยพบเชื้อแบคทีเรียดื้อต่อคุณลักษณะทั้ง 3 ประการร่วมกัน (Habi and Daba, 2009; Bahig et al., 2008)

จากการที่คณะผู้วิจัยสำรวจข้อมูลเบื้องต้นของบริเวณที่ต้องการศึกษาถึงการดำเนินกิจกรรมต่างๆของชาวกะเหรี่ยง ณ หมู่บ้านตะเพินคี ที่ตั้งอยู่ในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่ามีการดำเนินกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีในการเพาะปลูกพืชไร่ในเชิงพาณิชย์ติดต่อกันเป็นเวลานาน รวมถึงไม่มีการจัดการขยะที่เกิดขึ้นอย่างเป็นระบบ ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบ 2 ประการ คือ 1) ในแง่ของสุขภาพชาวกะเหรี่ยงในชุมชนจากการมีความเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อแบคทีเรียดื้อยา และ 2) ในแง่ของบริเวณนี้อาจเป็นอีกแหล่งหนึ่งที่มีการแพร่กระจายเชื้อแบคทีเรียดื้อยา เนื่องจากเป็นแหล่งที่ตั้งอยู่ในบริเวณที่ระบบนิเวศมีความอุดมสมบูรณ์ รวมถึงเป็นพื้นที่ต้นน้ำของลำน้ำหลักที่ไหลลงไปสู่จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งส่วนใหญ่มีการใช้ที่ดินทางการเกษตร ซึ่งถ้าเกิดการแพร่กระจายอาจเป็นอีกสาเหตุที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียดื้อยาสู่ผลผลิตทางการเกษตร และอาจแพร่กระจายสู่ผู้บริโภคตามวัฏจักรห่วงโซ่อาหารต่อไป

ด้วยความตระหนักถึงปัญหาความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียและการใช้สารเคมีทางการเกษตรติดต่อกันเป็นระยะเวลาอันยาวนานในอีกแง่มุมหนึ่ง ซึ่งไม่ค่อยมีการกล่าวถึงทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะดำเนินการศึกษาภายใต้ข้อสมมติฐาน 3 ประการ ดังนี้ 1) เชื้อ

แบคทีเรียในดินเพาะปลูกที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และโลหะหนัก จะมีคุณสมบัติในการต่อต้านยาปฏิชีวนะด้วยหรือไม่, 2) มีโอกาสที่จะพบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ต่อต้านยาปฏิชีวนะในดินเพาะปลูกหรือไม่ และ 3) มีโอกาสหรือไม่ที่เชื้อแบคทีเรียจากบริเวณดังกล่าวจะแพร่กระจายไปยังบริเวณใกล้เคียง โดยได้แบ่งการดำเนินการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน อันประกอบด้วย ส่วนที่ 1 การศึกษาข้อมูลของเชื้อแบคทีเรียในดินเพาะปลูกที่มีความทนทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โลหะหนัก และยาปฏิชีวนะ ส่วนที่ 2 ศึกษาถึงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในดินเพาะปลูกที่มีคุณสมบัติตามการศึกษาส่วนแรก และ ส่วนที่ 3 ศึกษาการกระจายตัวของเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมบริเวณใกล้เคียง ซึ่งเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการศึกษา ทางคณะผู้วิจัยมีความคาดหวังว่า องค์ความรู้ที่ได้จะมีบทบาทในการเชื่อมโยงถึงปัญหาการกระจายตัวของแบคทีเรียที่อยู่ในระบบทางสิ่งแวดล้อม ทราบถึงแนวทางที่เหมาะสมในการลดปัญหาดังกล่าว เพื่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ และน่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจทำการศึกษาทางด้านนี้ และที่สำคัญเมื่อพิจารณาทางด้านสาธารณสุข การประเมินข้อมูลออกมาในระดับความเสี่ยงต่อสุขภาพว่ามีโอกาสความเป็นไปได้มากน้อยเพียงใดที่จะได้รับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในบริเวณดังกล่าวเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งอาจส่งผลต่อการเกิดโรคติดเชื้ออุบัติใหม่ น่าจะเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่น่าสนใจ และมีประโยชน์ต่อหน่วยงานต่างๆที่เกี่ยวข้อง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียในดินเพาะปลูกที่ทนทานต่อโลหะหนัก และมีคุณสมบัติในการต่อต้านยาปฏิชีวนะ
2. ศึกษาความเป็นไปได้ที่แบคทีเรียก่อโรคที่พบในดินเพาะปลูกจะเกิดการต่อต้านยาปฏิชีวนะ และรูปแบบการต่อต้านยาปฏิชีวนะที่พบ
3. เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการติดเชื้อก่อโรคจากแบคทีเรียก่อโรค และการกระจายตัวสู่บริเวณใกล้เคียง

ขอบเขตการวิจัย

1. พื้นที่ที่ใช้ในการศึกษา คือ บริเวณที่ทำการเพาะปลูกพืชไร่นานที่มีการใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นเวลานาน และบริเวณสิ่งแวดล้อมใกล้เคียง ณ หมู่บ้านตะเพินคี ในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี
2. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นฐานของดินเพาะปลูกพืชไร่ และตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมบริเวณใกล้เคียง ประกอบด้วย การตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ 2 ด้าน คือ 1) พารามิเตอร์พื้นฐานทั่วไปทางด้านเคมี และ 2) พารามิเตอร์ทางด้านชีววิทยา เช่น จำนวนประชากรเชื้อแบคทีเรีย
3. การตรวจวิเคราะห์ความทนทานต่อโลหะหนัก โดยวิธี การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum inhibitory concen-

tration: MIC) โดยโลหะหนักที่ใช้ทดสอบ จะทำการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโลหะหนักที่มักพบว่ามีบทบาทต่อการดื้อยาปฏิชีวนะ

4. การตรวจวิเคราะห์การดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่มต่างๆใช้วิธีศึกษาการแพร่ของยาจากแผ่นกระดาษที่มียาปฏิชีวนะ (Disk diffusion method) โดยยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบจะครอบคลุมตามการออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือกำจัดแบคทีเรียที่ต้องการศึกษา ซึ่งกรณีนี้ต้องทราบกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่พบก่อนถึงจะทำการเลือกยามาทดสอบได้อย่างเหมาะสม และผลการทดสอบจะแสดงค่า 3 ระดับ คือ S (sensitive), I (Intermediate) และ R (resistant)

5. ตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่จะทำการศึกษาคือ อีโคไล โดยยาที่ใช้ทดสอบจะครอบคลุมยาทั้งสิ้นจำนวน 12 ชนิด ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 กลุ่มยาด้วยกันตามวิธีการของ CLSI (2012) ได้แก่ Aminoglycoside, Tetracycline, Phenocol, Fluoroquinolone, Folate pathway inhibitors, Cephem, Penicillin และ Beta-lactamase inhibitor combination

6. รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่มต่างๆที่ต้องการศึกษา ประกอบด้วย จำนวนเชื้อที่ดื้อต่อยา (Resistant), จำนวนเชื้อที่น่าจะพัฒนาไปเป็นเชื้อดื้อยาในอนาคต (Intermediate), จำนวนเชื้อที่ไม่ดื้อต่อยา (Sensitive), รูปแบบการดื้อยา (เชื้อ 1 โคโลนี มีความสามารถในการดื้อยาได้กี่ชนิด, Antibiotic resistant pattern), และจำนวนเชื้อที่ดื้อต่อยามากกว่า 1 ชนิด ขึ้นไป (Multi-drug resistance bacteria, MAR หรือ)

สมมติฐานการวิจัย

1. เชื้อแบคทีเรียในดินเพาะปลูกที่มีความต้านทานต่อโลหะหนัก จะมีคุณสมบัติในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วยหรือไม่
2. มีโอกาสที่จะพบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในดินเพาะปลูกหรือไม่
3. มีโอกาสหรือไม่ที่เชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากบริเวณที่ทำการเพาะปลูกจะแพร่กระจาย ไปยังบริเวณใกล้เคียง

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

1. แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ (Antibiotic resistance bacteria) คือ แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติต้านการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ ส่งผลให้ยาไม่สามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรีย หรือยับยั้งการการเติบโตได้ โดยคุณสมบัติดังกล่าวเกิดจากการพัฒนาปรับตัวของแบคทีเรียผ่านการกลายพันธุ์ (mutation) หรือจากการได้รับการถ่ายทอดยีนดื้อยาปฏิชีวนะมาจากแบคทีเรียอื่น (Horizontal gene transfer) (Chee-Stanford et al., 2009)

2. ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) คือ ยาที่มีคุณสมบัติต้านแบคทีเรีย โดยนิยมใช้กันแพร่หลายทั้งในคน และสัตว์ เพื่อการรักษา และป้องกันโรค นอกจากนี้ยังใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์ด้วย (Chee-Stanford et al., 2009)

3. โลหะหนัก (Heavy metals) คือ โลหะที่มีความหนาแน่นมากกว่า 5 g/cm^3 หรือเรียกว่า transition elements โดยบางตัวมีบทบาทสำคัญในการเป็นแหล่งธาตุอาหารรองที่จำเป็นสำหรับกระบวนการต่างๆภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต แต่อย่างไรก็ตามถ้ามีในปริมาณที่ไม่เหมาะสมต่อกลไกภายในเซลล์จะก่อให้เกิดความเป็นพิษได้ (Nies, 1999) นอกจากนี้ยังจัดเป็นธาตุที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ถึงแม้จะพบในปริมาณที่ต่ำก็ตาม (Babai and Ron, 1998)

4. Co-resistance คือ การพบรูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะควบคู่กับการทนทานต่อสารเคมีต่างๆในแบคทีเรียสายพันธุ์เดียวกัน โดยกระบวนการที่เกิดขึ้นเรียก Co-selection โดยเกิดจากการที่ยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมคุณสมบัติดังกล่าวได้ปรากฏอยู่ที่สารพันธุกรรมประเภทเคลื่อนที่ (Mobile genetic elements) ชนิดเดียวกัน ได้แก่ plasmid, transposon และ integrin ตัวอย่างดังเช่น การพบการดื้อยาปฏิชีวนะควบคู่กับการทนทานต่อโลหะหนักชนิดต่างๆในอีโคไล (Baker-Austin et al., 2006)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในดินเพาะปลูกที่มีการใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่อง อันได้แก่ ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างการทนทานต่อโลหะหนัก และการดื้อยาปฏิชีวนะ
2. ทราบถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สุขภาพ รวมถึงปัจจัยเสี่ยงต่อการรับเชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากบริเวณดังกล่าวเข้าสู่ร่างกาย
3. เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาในเรื่องการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียสำหรับตัวอย่างที่มาจากพื้นที่ที่มีการใช้สารเคมีทางการเกษตรอย่างต่อเนื่อง หรือจากตัวอย่างที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน
4. มีการเผยแพร่ข้อมูลในรูปแบบความในวารสารทางวิชาการ รวมทั้งองค์ความรู้ที่น่าจะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่มีบทบาทต่อการแก้ไขหรือลดปัญหาดังกล่าว รวมถึงชุมชนที่ได้รับผลกระทบ และบุคคลทั่วไปที่ให้ความสนใจ