

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Pesticides) หมายถึง สารที่ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลง ไร หรือศัตรูชนิดอื่นๆ ในสัตว์ รวมถึงสารที่ใช้เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช สารที่ทำให้ใบไม้ร่วง สารที่ทำให้ผลร่วง หรือป้องกันมิให้ผลร่วงก่อนเจริญเติบโตเต็มที่ และสารที่ใช้ก่อนหรือหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต เพื่อป้องกันการทำลายผลิตผลในระหว่างการเก็บรักษาและขนส่ง (กรมควบคุมมลพิษ, 2554) ประโยชน์ที่สำคัญ คือ การเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และควบคุมพาหะนำโรค สารส่วนใหญ่มีอันตรายสูงต่อมนุษย์และทำให้เกิดปัญหาตามมามากมาย ดังนี้

1. สารไม่ได้ฆ่าเฉพาะแมลงศัตรูพืชนั้น แต่นก ผีเสื้อ แมลงอื่นที่มีประโยชน์ และสัตว์อื่นในบริเวณนั้นถูกฆ่าด้วย ทำให้สมดุลธรรมชาติเสียไป

2. สารบางชนิดสลายตัวยากและบางชนิดแทบจะไม่มีสลายตัว ทำให้ตกค้างและปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน ทั้งในดิน และแหล่งน้ำ ตลอดจนห่วงโซ่อาหารทำให้มีผลกระทบต่อสัตว์และมนุษย์

สารเคมีที่ใช้ทางการเกษตรเหล่านี้ ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ตั้งแต่ก่อนปลูก ระหว่างการเจริญเติบโตของพืช ก่อนเก็บเกี่ยวและสำหรับการเก็บรักษา จึงทำให้ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย โดยเฉพาะสารที่สลายตัวยาก นอกจากนั้นยังอาจเกิดปัญหาจากการใช้งานและการทิ้งขยะจากการใช้งานอย่างไม่ถูกต้อง ทำให้เกิดผลกระทบต่อผู้ปฏิบัติงาน สิ่งแวดล้อม และผู้บริโภคในที่สุด การใช้สารเคมีเหล่านี้ยังอาจทำให้เกิดการต้านทานของแมลงที่ต้องการกำจัดและต้องใช้ปริมาณมากขึ้น หรือใช้สารที่มีพิษร้ายแรงกว่าเดิม ทำให้เกิดปัญหาต่อเนื่องไม่สิ้นสุด

โลหะในดิน และความสัมพัทธ์กับจุลินทรีย์

1. การแบ่งประเภทของโลหะ

โลหะแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ 1) โลหะ, 2) เมทัลลอยด์ (Metalloids) และ 3) โลหะหนัก (Heavy metals) นอกจากนี้เมื่อแบ่งตามหน้าที่และความสำคัญ ยังสามารถแบ่งออกได้ 3 ประเภท ดังนี้ (วีรานูช, 2554)

- 1.1 กลุ่มที่ 1 โลหะที่มีความจำเป็นต่อการทำงานของสิ่งมีชีวิต (Essential metals) ได้แก่ Na, K, Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo และ W โดย Na, K, Mg และ Ca จัดเป็นธาตุที่สิ่งมีชีวิตทุกชนิดต้องการ โดยทั่วไปโลหะเหล่านี้มีความจำเป็นในการเจริญเติบโต และการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โดยนำไปใช้ในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์, การส่งผ่านโมเลกุล, โครงสร้างโปรตีน, การทำให้ประจุเป็นกลาง และการควบคุมแรงดันออสโมติก แต่ถ้ามีความเข้มข้นของโลหะประเภทนี้มากเกินไปจะเกิดความเป็นพิษ ส่งผลให้จุลินทรีย์สร้างกลไกการทนต่อโลหะขึ้นมา

1.2 กลุ่มที่ 2 โลหะที่มีความเป็นพิษ (Toxic metals) ได้แก่ Ag, Cd, Sn, Tl, Pb, Au, Hg, Al และเมทัลลอยด์ Ge, As, Sb และ Se โลหะมักอยู่ในรูปประจุบวก ในขณะที่เมทัลลอยด์อยู่ในรูปประจุลบ ซึ่งโลหะเหล่านี้แสดงพิษโดยการเข้าไปแทนที่โลหะที่จำเป็นในการจับกับโมเลกุลชีวภาพ รวมถึงยับยั้งหน้าที่ของเอนไซม์ และขัดขวางโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก

1.3 กลุ่มที่ 3 โลหะที่ไม่จำเป็นต่อจุลินทรีย์ ไม่เป็นพิษ และไม่ทราบผลกระทบทางชีวภาพ (Non-essential, non-toxic metal with no know to biological effects) ได้แก่ Rb, Cs, Sr และ Ti บางครั้ง

2. สภาพพร้อมใช้ของโลหะในสิ่งแวดล้อม (Metal bioavailability)

โลหะในสภาพที่เป็นพิษกับจุลินทรีย์ คือ โลหะที่อยู่ในสภาพพร้อมใช้งานทางชีวภาพ (ละลายน้ำได้ ไม่ถูกดูดซับ และถูกเคลื่อนย้ายได้) ซึ่งปัจจัยที่มีผล ได้แก่ คุณสมบัติทางเคมีของโลหะ, การดูดซับกับแร่ธาตุ และสารอินทรีย์ในดิน, พีเอช, ค่ารีดอกซ์ และจุลินทรีย์ (วีรานูช, 2554) โดยรายละเอียดต่างๆมีดังต่อไปนี้

2.1 เคมีของโลหะ

โลหะทุกชนิดที่มีประจุบวก (Cationic) เมื่ออยู่ในรูปอิสระในดินจะทำปฏิกิริยากับอนุภาคดินหรือเกลือที่มีประจุลบ เช่น ฟอสเฟต, ซัลเฟต และอินทรีย์สารที่มีประจุลบ เช่น ไฮดรอกไซด์ และไทออล และยังสามารถยึดเกาะกับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ เป็นผลให้เกิดสภาพความเป็นพิษขึ้น ซึ่งความแข็งแรงของโลหะในการจับกับอนุภาคต่างๆ พิจารณาได้จากค่าสัมพรรคภาพของการดูดซับ (Adsorption affinity) โดยขนาดของประจุแสดงถึงความแข็งแรงของการดูดซับ

2.2 ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุ

สิ่งที่มีผลต่อการแลกเปลี่ยนประจุในดิน คือ ชนิดของดิน, ปริมาณสารอินทรีย์ในดิน และสารประกอบต่างๆในดิน ซึ่งสารต่างๆในดินจะมีหมู่ Functional ที่แตกต่างกันไป โดยหมู่ที่สามารถจับกับโลหะหนักได้ คือ คาร์บอกซิล, คาร์บอนิล, ฟีนิล, ไฮดรอกซิล, อะมิโน, อิมิดาโซล, ซัลไฮดริล และซัลโฟนิค ซึ่งเมื่อโลหะจับกับสารเหล่านี้จะถูกนำไปใช้ไม่ได้ จึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ

2.3 ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล

สภาพพร้อมใช้งานของโลหะ คือ รูปประจุบวกที่ละลายน้ำ พบได้ที่สภาวะที่มีออกซิเจน หรือสภาพออกซิไดส์ (+800 ถึง 0 mV) ส่วนสภาพที่ไม่สามารถใช้งานได้ คือ สภาวะไร้อากาศ หรือสภาพรีดิวซ์ (0 ถึง -400 mV) อาจถูกแบคทีเรียเปลี่ยนรูปให้ไม่เป็นพิษ และไม่ละลายน้ำ หรือเกิดการตกตะกอนกับสารบางประเภท เป็นต้น

2.4 ค่าพีเอช

เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นค่าการละลายน้ำของโลหะหนักจะลดลง โดยที่พีเอชต่ำจะพบในรูปอิสระ ส่วนที่พีเอชสูงจะอยู่ในรูปโลหะคาร์บอเนต และฟอสเฟต ซึ่งเป็นรูปที่ไม่ละลายน้ำ

3. แหล่งของโลหะในดิน

นอกจากการพบตามธรรมชาติในดินแล้ว ยังสามารถการปนเปื้อนได้จากแหล่งอื่นๆ โดยมีรายละเอียดดังนี้ (สุบัญญัติ, 2552)

- 3.1 การปนเปื้อนในอากาศ พบได้ทั้งในรูปของแข็ง และสารละลาย
- 3.2 การปนเปื้อนในน้ำทิ้ง โดยเฉพาะน้ำเสียจากแหล่งอุตสาหกรรม
- 3.3 สารปรับปรุงดิน เป็นสารที่ทำให้ดินมีคุณภาพดีขึ้น เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูก แต่อาจมีโลหะปนเปื้อนอยู่ด้วย เช่น การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช, ปุ๋ยอินทรีย์ หรือปุ๋ยหมัก, ปุ๋ยเคมี, ปูนขาว และของเสียจากอุตสาหกรรมการเกษตร

จุลินทรีย์ในดิน

ดินเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตหลายชนิดรวมทั้งจุลินทรีย์ โดยดินที่อุดมสมบูรณ์จะมีจุลินทรีย์หลายกลุ่มอาศัยอยู่ร่วมกัน มีบทบาทต่อระบบนิเวศทางดิน โดยเป็นผู้ย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตที่เน่าเปื่อยผุพัง ทั้งซากพืชซากสัตว์ ผลิตภัณฑ์มวล เปลี่ยนแปลงแร่ธาตุในดินให้เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์และพืช ก่อเกิดการหมุนเวียนแร่ธาตุ และสารอาหาร โดยจำนวนของจุลินทรีย์ในดิน และการแพร่กระจายขึ้นกับแหล่งอาหาร, ความชื้น, พีเอช, อุณหภูมิ, เนื้อดิน และโครงสร้างของดิน เป็นต้น โดยบริเวณหน้าดินจะพบมากกว่าบริเวณที่ลึกลงไป ซึ่งกลุ่มของจุลินทรีย์ที่พบในดินประกอบไปด้วยแบคทีเรีย, เชื้อรา, แอคติโนมัยซีท, สาหร่าย, ไฮยาโนแบคทีเรีย และไวรัส ซึ่งไวรัสนั้นอาจอาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (ดวงพร, 2545; วีรานุช, 2554; สุบัญญัติ, 2552)

1. แบคทีเรียในดิน

แบคทีเรียจัดเป็นกลุ่มที่พบจำนวนมากที่สุดในดิน เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยแบคทีเรียบางชนิดนั้นสามารถก่อโรคต่อพืช คน และสัตว์ แบคทีเรียเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ดีในดินที่มีอินทรีย์วัตถุ ความชื้นพอสมควร และค่าพีเอชระหว่าง 5.5-9.0 หรือ รวมถึงในดินสำหรับการเกษตร และบริเวณที่มีพืชขึ้นอย่างหนาแน่น ซึ่งบริเวณรากพืชจะพบแบคทีเรียมากกว่าบริเวณอื่น แบคทีเรียในดินมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ ในฐานะที่เป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในดิน รวมถึงสารที่ย่อยสลายยาก ก่อให้เกิดการหมุนเวียนสารต่างๆในดินได้ดี แบคทีเรียที่พบมากมี 3 Order ได้แก่

1.1 Order Pseudomonadales :

Pseudomonas ใน Family Pseudomonadaceae

1.2 Order Eubacteriales 5 Family

- Family Rhizobiaceae : Rhizobium, Agrobacterium, Chromobacterium
- Family Achromobacteriaceae : Achromobacter, Flavobacterium
- Family Micrococcaceae : Micrococcus, Sarcina
- Family Corynebacteriaceae : Corynebacterium, Arthrobacter
- Family Bacillaceae : Bacillus, Clostridium

1.3 Order Actinomycetales

- Family Mycobacteriaceae : Mycobacterium, Mycococcus
- Family Actinomycetaceae : Actinomyces, Nocardia
- Family Streptomycetaceae : Streptomyces
- Family Actinoplanaceae : Streptosporangium

2. จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆในดิน

2.1 เชื้อรา

เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ในดินอีกกลุ่ม โดยอาจอยู่อย่างอิสระ หรือมีการอยู่ร่วมกับรากพืช ลักษณะที่พบอาจเป็นได้ทั้งเส้นใย (Mycelium), ไรโซมอร์ฟ (Rhizomorph), สปอร์ของเชื้อรา และเห็ดชนิดต่างๆ มีบทบาทในการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์รวมถึงฮิวมัสในดิน มีความต้องการออกซิเจน และส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีในดินที่เป็นกรด จึงพบมากที่บริเวณผิวหน้าดิน และลึกลงไปประมาณ 10 เซนติเมตร

2.2 แอคติโนมัยซีท

เป็นแบคทีเรียที่มีการเจริญเป็นเส้นใย (Hyphae) สร้างโคนิเดีย (Conidia) และสปอร์แรงเจีย (Sporangia) ซึ่งคล้ายกับเชื้อราแต่ไม่มีไคตินและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์แบบเชื้อรา โดยในการจัดจำแนกยังคงจัดเป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน สามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่เป็นกลางถึงด่าง ประมาณ 5.5-10.0

3. จุลินทรีย์ก่อโรคทางดิน

จุลินทรีย์ในดินสามารถแบ่งออกได้เป็นกลุ่มที่ก่อให้เกิดประโยชน์ และกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรค โดยกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคในดินแบ่งออกเป็น กลุ่มที่ก่อโรคในพืช และกลุ่มที่ก่อโรคในคนและสัตว์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.1 กลุ่มก่อโรคในพืช

ส่วนใหญ่จะเป็นพวกเชื้อรา เนื่องจากเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณที่มีความชื้นต่ำ เช่น บริเวณพื้นผิวของพืช โดยโรคพืชที่พบ ได้แก่ โรคราสนิม, โรคเขม่าดำ, โรคใบไหม้ และโรคเหี่ยว ส่วนโรคที่เกิดจากแบคทีเรียพบน้อย ซึ่งเกิดได้จากการที่แบคทีเรียผลิตเอนไซม์มาย่อยสลายเนื้อเยื่อพืช เช่น โรคเน่า นอกจากนี้ไวรัสยังก่อโรคในพืชได้เช่นกัน

3.2 กลุ่มก่อโรคในคนและสัตว์

โดยทั่วไปจุลินทรีย์ก่อโรคในคนและสัตว์จากดินจะเป็นพวกปรสิต แต่ส่วนใหญ่การเกิดโรคมักเกิดจากจุลินทรีย์ในแหล่งอื่นปนเปื้อนลงสู่ดิน อันได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มก่อโรคในลำไส้ เช่น *Salmonella* sp. และ *Shigella* sp. ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้มีชีวิตอยู่ในดินได้ไม่นาน นอกจากนี้แบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในดินบางชนิดก็สามารถก่อโรคในคนและสัตว์ได้เช่นกัน อาทิเช่น *Pseudomonas aeruginosa* ก่อเกิดโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง, ตา, หู และระบบทางเดินหายใจ ส่วนแบคทีเรียก่อโรคที่อาศัยอยู่ในดินได้นานจะเป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการสร้างสปอร์ เช่น *Bacillus*

anthracis ก่อให้เกิดโรคแอนแทรกซ์ในสัตว์, *Clostridium tetani* ก่อให้เกิดโรคบาดทะยัก และ *C. botulinum*, *C. perfringens* ก่อโรคอาหารเป็นพิษชนิดรุนแรง เป็นต้น

ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) จัดเป็นยาที่มีการใช้บ่อยที่สุดชนิดหนึ่งทางการแพทย์ จากข้อมูลสถานการณ์ยาปฏิชีวนะระหว่างปี พ.ศ. 2548-2552 ในโรงพยาบาลระดับทุติยภูมิถึงตติยภูมิ จาก 5 ภูมิภาค รวม 16 แห่ง ในเครือข่ายเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ เมื่อพิจารณาการแบ่งกลุ่มยาตาม ATC code (Anatomical therapeutic chemical classification) และวัดปริมาณการใช้ยาในหน่วย defined daily doses/ 1000 patient-days (DDDs/1000 PDs) และมูลค่าในหน่วยบาทพบว่า กลุ่มยาสำหรับโรคติดเชื้อจัดอยู่ใน 3 อันดับแรก ของกลุ่มยาที่มีมูลค่าการสั่งใช้สูงสุด โดยโรงพยาบาลส่วนใหญ่มีแนวโน้มของปริมาณการสั่งใช้เพิ่มสูงขึ้นทุกปี เป็น 1.1-2.0 เท่า ในระยะเวลา 5 ปี ซึ่งในภาพรวมของประเทศ กลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีมูลค่าการสั่งใช้รวมสูงเป็นอันดับต้น ได้แก่ carbapenems, cephalosporin, penicillin และ penicillins and enzyme inhibitors (แผนงานสร้างกลไกเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา, 2554)

ส่วนใหญ่การใช้ยาปฏิชีวนะนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดเชื้อก่อโรคทั้งในคน และสัตว์ โดยรูปแบบการใช้ขึ้นอยู่กับการออกฤทธิ์ที่จำเพาะของยาแต่ละชนิด โดยเฉพาะในสัตว์นั้นได้มีการใช้เพื่อเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตอีกทางหนึ่ง (Hirsch et al., 1999) จากการใช้ยาที่แพร่หลาย และการใช้ยาที่ไม่เหมาะสมก่อให้เกิดปัญหาแบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะขึ้น โดยปัจจุบันปัญหาดังกล่าวไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะแต่ในวงการแพทย์เท่านั้น หากกลับพบแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมต่างๆ (Zhang and Zhang, 2011) ยาปฏิชีวนะมีหลายประเภท เมื่อแบ่งตามประเภทสารตั้งต้นในการผลิต จะมีทั้งที่ผลิตจากจุลินทรีย์, การสังเคราะห์ และสารกึ่งสังเคราะห์ นอกจากนี้เมื่อแบ่งตามประเภทของกลไกการออกฤทธิ์ของยา สามารถแบ่งได้ 5 ประเภท ดังนี้ (ศิริพร, 2548; ภัทรชัย, 2549)

1. ออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ (Cell wall synthesis inhibitors)

เป็นยาที่มีกลไกยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์ peptidoglycan ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ไม่แข็งแรง แบคทีเรียแบ่งตัวไม่ได้ ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ ยากลุ่ม beta-lactams, glycopeptides, bacitracin และ cycloserine โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1) Beta-lactams: ยากลุ่มนี้มีโครงสร้างที่สำคัญ คือ ส่วนวงแหวน beta-lactam ยาออกฤทธิ์โดยการเข้าจับและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ carboxypeptidase และ transpeptidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องการสร้างสาย peptidoglycan รวมเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า penicillin-binding protein (PBP) โดยยาในกลุ่มนี้ประกอบด้วย penicillins, cephalosporins, cephamycins, monobactams และ carbapenems

- Penicillins: โครงสร้างหลักของยากลุ่มนี้ คือ กรด 6-aminopenicillanic ซึ่งประกอบด้วยวงแหวน beta-lactam เชื่อมต่อกับวงแหวน thiazolidine โดยแบ่งได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1) กลุ่มที่สกัดจากธรรมชาติ เช่น Penicillin G และ Penicillin V ส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแกรมบวก และ 2) กลุ่มยาแก๊งสังเคราะห์ ซึ่งแบ่งออกเป็นหลายกลุ่มย่อย มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์แตกต่างกันไป แต่ครอบคลุมในกลุ่มเชื้อแกรมบวกมากยิ่งขึ้น ยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ Penicillinase-resistant penicillins, Isoxazolyl penicillins และ Extended-spectrum penicillins

- Cephalosporins: โครงสร้างหลักของยาในกลุ่มนี้ คือ กรด 7-amino cephalosporanic ซึ่งประกอบด้วยวงแหวน beta-lactam เชื่อมต่อกับวงแหวน dihydrothiazine ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ต่อเชื้อได้หลากหลาย ยกเว้นกับ enterococci ซึ่งต้องต่อยาในกลุ่มนี้โดยธรรมชาติ และนอกจากนี้ยังแบ่งยาออกได้เป็น 4 generations

2) Cycloserines: มีโครงสร้างคล้าย D-alanine จึงมีผลในการยับยั้งกระบวนการสร้าง D-alanine-D-alanine ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญสำหรับการสร้าง peptidoglycan ของผนังเซลล์ และเป็นยาที่มีผลข้างเคียงสูง จึงไม่นิยมใช้ ส่วนใหญ่ใช้เป็นยาสำรอง

3) Glycopeptides: ยาออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ transglycosylase ซึ่งมีความสำคัญต่อการสร้าง peptidoglycan โดยการจับตัวกับส่วน D-alanine-D-alanine ที่ปลายสาย pentapeptide ซึ่งเป็นส่วนประกอบในโครงสร้างโมเลกุลต้นกำเนิดของ peptidoglycan ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ vancomycin และ teicoplanin

4) Bacitracin: เป็นยาที่สกัดได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยจัดเป็นสารประกอบ polypeptide มีความเป็นพิษต่อคนและสัตว์ เนื่องจากดูดซึมไม่ดีที่ระบบทางเดินอาหาร จึงมักใช้เป็นยาทาภายนอก ใช้รักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมบวกเป็นหลัก กลไกการออกฤทธิ์เกิดจากการยับยั้งการปล่อยหน่วย muropeptide ซึ่งเป็นสารต้นกำเนิดของการสร้าง peptidoglycan ออกจากไขมันที่ทำหน้าที่เป็นพาหะนำสารจากชั้นเยื่อหุ้มเซลล์มาที่ชั้นผนังเซลล์ ทำให้สารพาหะไม่สามารถแยกตัวออกไปนำหน่วย muropeptide ใหม่ ต่อไปได้อีก

2. ออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane function inhibitors)

เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยชั้น โพรตีน-ไลปิด-โพรตีน นอกจากนี้ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ยังมี polysaccharide ยึดกับโพรตีนด้วย ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้จะเข้าไปแทรกกระหว่างโพรตีนกับไลปิด ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด สารใน cytoplasm ไหลออกมาทำให้เซลล์ตาย เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียมีโครงสร้างคล้ายเยื่อหุ้มเซลล์ของยูคาริโอต ทำให้ยามีผลข้างเคียงสูงหากเข้าสู่ร่างกาย ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ได้แก่ polymyxins, gramicidins และ tyrocidin

1) Polymyxins: สร้างจากเชื้อ *Bacillus polymyxa* ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ มีผลข้างเคียงต่อสิ่งมีชีวิตสูง เช่น ระบบประสาท และไต จึงนิยมใช้รักษาเฉพาะโรคติดเชื้อที่รุนแรง หรือใช้เป็นยาทาภายนอก

2) Gramicidins และ Tyrocidin: สร้างจากเชื้อ *Bacillus* spp. ใช้ทำลายแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าโดยทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์รั่วไหลออกมา แต่ยาไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ การใช้ยาในกลุ่มนี้จึงอยู่ในวงจำกัด (นงลักษณ์ และปรีชา, 2550)

3. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid synthesis inhibitors)

ยาในกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิก หรือเข้าจับกับกรดนิวคลีอิกโดยตรงเพื่อขัดขวางการเพิ่มปริมาณในการแบ่งเซลล์ ยาในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีผลกระทบบกกับเซลล์ของยูคาริโอตจึงไม่สามารถนำมาใช้ในคนได้ โดยตัวที่ออกฤทธิ์แต่เฉพาะในเซลล์ของโปรคาริโอตและสามารถนำมาใช้ได้ ได้แก่ Quinolones, Rifamycins และ Metronidazoles

1) Quinolones หรือ Fluroquinolones: เป็นสารสังเคราะห์ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA gyrase และ topoisomerase II ทำให้ไม่เกิดการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกส่งผลให้แบคทีเรียตาย ยาแบ่งออกได้หลายกลุ่มตามการออกฤทธิ์ ตัวอย่างเช่น 1) Narrow spectrum ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น Nalidixic acid และ Cinoxacin, 2) Broad spectrum ยากลุ่มนี้เกิดจากการเพิ่มอะตอมฟลูออรีนเข้าไปที่โครงสร้างของ Nalidixic acid จึงเรียวยากลุ่มนี้ว่า Fluoroquinolones ออกฤทธิ์ต่อเชื้อทั้งแกรมบวกและลบ เช่น Norfloxacin, Ofloxacin, Enoxacin, Ciprofloxacin, Lomefloxacin และ Fleroxacin เป็นต้น

2) Rifamycins: ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยการจับกับ beta-subunit ของเอนไซม์ RNA polymerase และยับยั้งหน้าที่เอนไซม์ในการสร้าง RNA ยาออกฤทธิ์ต่อเชื้อแกรมบวก รวมทั้งเชื้อแกรมลบบางกลุ่ม โดยยาที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ Rifampin

3) Metronidazole: ยาในกลุ่มนี้จะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ nitroreductase ของเซลล์แบคทีเรีย ทำให้ยาเป็นพิษต่อเซลล์และเกิดการทำลาย DNA เป็นยาที่มีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียกลุ่ม anaerobe

4. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Protein synthesis inhibitor)

โดยยากลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ที่ไรโบโซม และตัวยามีผลกระทบบต่อกระบวนการดังกล่าวในคน ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ Aminoglycosides, Tetracyclines, Macrolides, Chloramphenicol, Lincosamide, Streptogramins และ Oxazolidinones

1) Aminoglycosides: ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยการจับตัวอย่างถาวรกับไรโบโซมหน่วยย่อย 30S ทำให้ไรโบโซมทำงานผิดปกติ เซลล์ไม่สังเคราะห์โปรตีน จึงตายในที่สุด ยามีบทบาทต่อเชื้อแกรมลบ รวมถึงเชื้อแกรมบวกบางชนิด ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ เช่น Kanamycin, Gentamicin, Tobramycin, Streptomycin, Netilmicin และ Amikacin เป็นต้น

2) Tetracyclines: ยาออกฤทธิ์โดยการจับตัวแบบชั่วคราวกับไรโบโซมหน่วยย่อย 30S มีผลยับยั้งการเข้าร่วมตัวกับ tRNA จึงขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน โดยยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์กว้างต่อทั้งเชื้อแกรมบวกและแกรมลบ โดยยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ Tetracycline, Doxycycline, Chlortetracycline, Oxytetracycline, Minocycline เป็นต้น

3) Macrolides: ยาออกฤทธิ์โดยการจับตัวแบบชั่วคราวกับไรโบโซมหน่วยย่อย 50S บริเวณ 23S rRNA มีผลยับยั้งกระบวนการ elongation ในการสร้างสายโปรตีน ยามีฤทธิ์ต่อเชื้อแกรมบวก โดยยาที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin

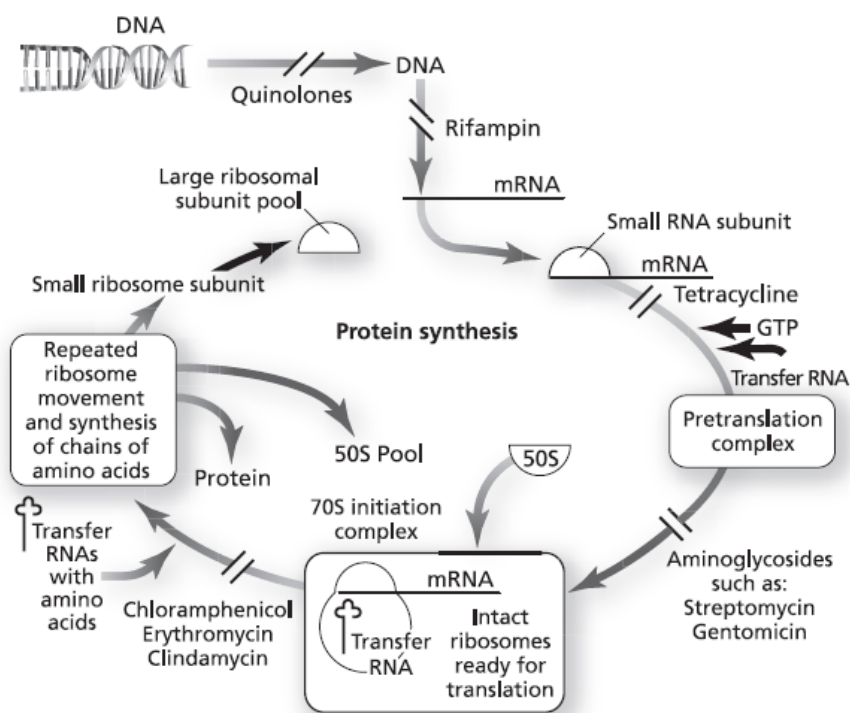
4) Chloramphenicol: ยาจะจับตัวแบบชั่วคราวกับเอนไซม์ peptidyltransferase ซึ่งเป็นส่วนประกอบของไรโบโซมหน่วยย่อย 50S โดยเอนไซม์ดังกล่าวมีบทบาทต่อการสร้างสายโปรตีน จัดเป็นยาที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

5. ออกฤทธิ์รบกวนเมตาบอลิซึม (Antimetabolites)

เป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์แบบนี้ส่วนใหญ่ มีลักษณะโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม จึงแย่งจับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้ และการยับยั้งของยาลักษณะนี้พบว่าสามารถฟื้นฟูสภาพเดิมเมื่อปริมาณยาลดลง หรือยาหมดฤทธิ์ หรือมีสารตั้งต้นที่เอนไซม์ไปแย่งกันจับมากกว่าปกติ โดยรายละเอียดของยาในกลุ่มนี้ ได้แก่

1) Sulfonamide: เป็นยาที่ยับยั้งการเมตาบอลิซึมกรดโฟเลท โดยยามีโครงสร้างคล้ายสารตั้งต้นของการสร้างกรด (para-aminobenzolic acid, PABA) จึงสามารถจับกับเอนไซม์ dihydrofolate synthetase ซึ่งมีบทบาทในการสร้างกรดดังกล่าวทำให้แบคทีเรียขาดกรดโฟเลทในการสังเคราะห์ DNA

2) Trimethoprim: เป็นยาที่มีกลไกการทำงานคล้าย Sulfonamide แต่ต่างกันว่า Trimethoprim ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ dihydrofolate reductase ซึ่งมีบทบาทในการสร้างกรดโฟเลทเช่นกัน ซึ่งเมื่อมีการใช้ร่วมกับ Sulfonamide จะออกฤทธิ์เสริมกันมากขึ้น



ภาพที่ 2.1 แสดงการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะประเภทต่างๆต่อเซลล์แบคทีเรีย (Guilfoile, 2007)

แบคทีเรียดื้อยา (Antibiotic resistance bacteria)

ขณะที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างกว้างขวาง อัตราการดื้อยาของแบคทีเรียต่างๆ ต่อยาเหล่านี้มีแนวโน้มสูงขึ้นด้วย โดยการดื้อยาของแบคทีเรียเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (Mutation) ของแบคทีเรีย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้อาจเกิดขึ้นที่ส่วนของโครโมโซม โดยโครโมโซมมีขนาดใหญ่ประกอบด้วยยีนที่จะแสดงออกเป็นลักษณะต่างๆ ของเชื้อมากมายรวมทั้งการดื้อยาซึ่งการดื้อยาปฏิชีวนะอาจเกิดจากพลาสมิดซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่อยู่นอกโครโมโซม (extrachromosome) โดยพลาสมิดมีขนาดเล็กกว่าโครโมโซมมาก โดยยีนที่ควบคุมการดื้อยาที่อยู่บนพลาสมิดของแบคทีเรียชนิดหนึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้ง่าย ทำให้เกิดการแพร่กระจายการดื้อยาจากเชื้อหนึ่งไปสู่อีกเชื้อหนึ่งได้รวดเร็ว (พิณทิพย์, 2544) โดยยีนดื้อยาที่ได้รับขนถ่ายมานี้จะอยู่ในรูปต่างๆ ที่สำคัญ คือ naked DNA, phage หรือ plasmids ซึ่งมีผลทำให้เกิดปัญหาการเพิ่มขึ้นของเชื้อดื้อยา และเมื่อเชื้อดื้อยาก่อโรคและเมื่อเกิดการดื้อของเชื้อต่อยาชนิดหนึ่งอาจจะมีการดื้อต่อยาหลายๆ กลุ่มไปด้วย ทำให้มียาให้เลือกใช้น้อยลง (ศิริพร, 2548; นพรัตน์, 2554)

1. การเกิดการดื้อยาของแบคทีเรียเกิดขึ้นได้ 2 แนวทาง คือ

1.1 เกิดจากการเลือกสรรตามธรรมชาติ (Natural selection) แบคทีเรียแต่ละชนิดจะมียีนดื้อยาอยู่ในตัวอยู่แล้วตามธรรมชาติ แต่เป็นจำนวนน้อย เมื่อแบคทีเรียชนิดดังกล่าวมีการสัมผัสกับยาปฏิชีวนะมากและนานขึ้น ยาจะทำลายเชื้อที่ไม่ดื้อยาจนหมด และไม่สามารถทำลายส่วนที่ดื้อต่อยาได้ ดังนั้นจะมีการเจริญเพิ่มจำนวนและแสดงออกเป็นแบคทีเรียดื้อยาอย่างสมบูรณ์

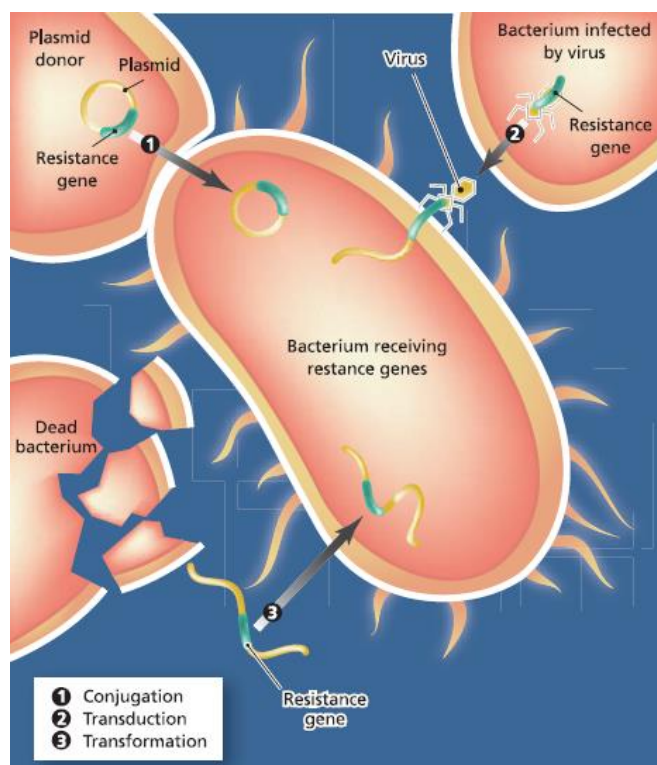
1.2 เกิดจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโดยการใช้ยาปฏิชีวนะ แต่ละชนิดจะมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ แต่เมื่อใดมีโอกาสสัมผัสกับยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะในขนาดและระยะเวลาในการให้ที่ไม่เหมาะสมที่จะทำลายเชื้อได้หมด เชื้อก็จะพัฒนาการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมให้สามารถทนทานต่อการทำลายของยาได้ เชื้อดื้อยาเหล่านี้ อาจเกิดจากการได้รับยีนดื้อยาจากเชื้ออื่นด้วยกระบวนการต่างๆ (Horizontal gene transfer, HGT) ผ่านสารพันธุกรรมชนิดเคลื่อนที่ได้ (Mobile genetic elements) เช่น plasmids, transposons และ integrons นอกจากนี้กระบวนการรับยีนดื้อยาจากแบคทีเรียอื่นยังประกอบไปด้วยกลไกต่างๆ ดังนี้ transformation (DNA uptake), conjugation (direct contact transfer of mobile plasmids), และ transduction (uptake of naked DNA) (Jury et al., 2010; Taylor et al., 2011)

2. กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะมี 4 วิธี คือ

2.1 การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา (Target site alteration)

การดื้อยาโดยวิธีนี้ในระยะเริ่มแรกพบว่าเชื่อมีการสร้างเป้าหมายใหม่ทำให้ยาไม่สามารถจับกับเป้าหมายเดิมได้ การดื้อยาวิธีนี้มีแยกออกเป็น การสร้างเป้าหมายใหม่ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงเส้นทางเมตาบอลิก การสร้างเป้าหมายให้มากเกินไป รวมทั้งการสร้างเส้นทางเมตาบอลิกที่มากเกินไป และการป้องกันไม่ให้ยาเข้าสู่เป้าหมาย (target protection) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาเป็นวิธีการดื้อยาที่สำคัญยาปฏิชีวนะกลุ่มต่อไปนี้เป็น การดื้อยากลุ่ม Beta-

lactam โดยเฉพาะ Penicillin และ Methicillin โดยเชื้อ *S. pneumoniae* และ *S. aureus* ตามลำดับ การดื้อยา Quinolone โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ การดื้อยา Tetracycline โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ การดื้อยา Trimethoprim และ Sulfonamide โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ การดื้อยา Vancomycin โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก การดื้อยา Streptomycin และ Spectinomycin โดยแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และ Mycobacterium



ภาพที่ 2.2 แสดงกลไกการรับยีนดื้อยาปฏิชีวนะมาจากแบคทีเรียชนิดอื่น (Guilfoile, 2007)

2.2 การสร้างเอนไซม์มาทำลายยา (Enzymatic deactivation)

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถทำลายยาต้านจุลชีพ โดยทำให้ยาเปลี่ยนแปลงสภาพไป ทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ เช่น *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin จะทำลายยาให้เปลี่ยนเป็น penicilloic acid ในกรณีของ Cephalosporins ก็เกิดขึ้นทำนองเดียวกัน ซึ่งเป็นผลมาจากเอนไซม์ เบต้าแลคแทมเมส (Beta-lactamase) สร้างโดยแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด ทำให้เชื้อดื้อยาในระดับที่สูงได้ เอนไซม์ lactamase แบ่งเป็นหลายประเภทตามชนิดของยา เป็นเอนไซม์ที่สร้างโดยยีนบนโครโมโซม หรือพลาสมิด หรือทรานส์โปซอนก็ได้ และอาจเป็นเอนไซม์ที่สร้างตลอดเวลา หรือสร้างเฉพาะเมื่อมีสารตั้งต้น (substrate) ก็ได้ การดื้อยาในกลุ่ม Aminoglycosides โดยเอนไซม์ aminoglycosides - modifying จะย่อยสลายยาในกลุ่ม Aminoglycosides ที่กลุ่ม amino และกลุ่ม hydroxy เช่น acetyltransferase (AAC) ทำหน้าที่ย่อยสลายยาด้วยกระบวนการ acetylation ที่กลุ่มอะมิโน เอนไซม์ที่สำคัญ คือ AAC(6) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบบ่อยที่สุดจากเชื้อ

แบคทีเรียทรงแท่งแกรมลบโดย AAC(6) ทำลายกลุ่ม amino ที่วงแหวนที่ 2 ของยาในตำแหน่งที่ 6 ตำแหน่งนี้พบใน Aminoglycosides ทุกตัว จึงย่อยสลาย Aminoglycosides ทุกตัว ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ถูกกลุ่มพบในแบคทีเรียทรงแท่งแกรมลบ นอกจากนั้น ยังพบ bifunctional enzyme ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ AAC(6) และ APH(2) เอนไซม์นี้ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียทรงกลมแกรมบวก คือ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis* และ *E. faecium* และเป็นตัวการที่สำคัญที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียทรงกลมแกรมบวกดื้อต่อยากลุ่มนี้ (พิณทิพย์, 2544)

2.3 การลดการนำยาเข้าเซลล์ของแบคทีเรีย (Decreased Uptake)

ยาปฏิชีวนะจะออกฤทธิ์ได้ตัวยาคจะต้องผ่านเข้าเซลล์ (entry) ของจุลินทรีย์เสียก่อน การเข้าสู่เซลล์ของยาอาจใช้พลังงานหรือไม่ใช้พลังงานก็ได้ ช่องทางที่ยาปฏิชีวนะจะเข้าเซลล์ของแบคทีเรียที่สำคัญ ได้แก่ ที่ outer membrane protein ซึ่งเรียกว่า porin ในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ จะมี porin ที่สำคัญอย่างน้อย 5 ชนิด คือ OmpC, OmpF, LamD, PhoE และ โปรตีน K แต่ OmpF จะมีความสำคัญมากที่สุด ช่องทาง porin เป็นทางเข้าที่สำคัญของยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่ม Beta-lactam และ Quinolone นอกจากนั้นยาปฏิชีวนะอาจเข้าที่โปรตีนพิเศษบางตัว เช่น Imipenem สามารถเข้าสู่แบคทีเรียทางโปรตีน D2 ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Aminoglycosides ไม่เข้าทาง porin แต่จะเข้าเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ทางเชื่อมระหว่าง LPS ด้วยวิธี self-promoted uptake การลดการนำเข้าของยาอาจเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรียไม่ต้องการออกซิเจนจะดื้อต่ออะมิโนกลัยโคไซด์เนื่องจากไม่มี ระบบขนส่งอิเล็กตรอนชนิด cytochrome-mediate electron transport การดื้อยาโดยธรรมชาติเกิดจากการลดการนำยาเข้าเซลล์เป็นวิธีที่สำคัญด้วย และเกิดภายหลัง พบได้บ่อยในเชื้อบางชนิดเช่น *P. aeruginosa* และ *E. cloacae* ซึ่งมักนำยาเข้าเซลล์น้อยอยู่แล้วโดยธรรมชาติ เมื่อมีพัฒนาการดื้อยาได้ไวขึ้น ยาปฏิชีวนะบางตัวก็ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้จากการดื้อยาโดยวิธีนี้และเกิดชั่วคราว พบได้จากการดื้อยาแบบ functional ของเชื้อต่ออะมิโนกลัยโคไซด์เมื่อมีการสัมผัสกับยาครั้งแรก การดื้อยาแบบนี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีแบบถาวร และไม่มีการควบคุมทางพันธุกรรมที่ผิดไปจากเดิม ส่วนการลดการนำเข้าเซลล์ของแบคทีเรียเกิดได้ 2 วิธี

1) การลดการซึมผ่าน (Decreased permeability) การดื้อยาโดยการลดการนำยาเข้าเซลล์ของจุลินทรีย์ อาจเกิดโดยวิธีการลดการซึมผ่าน หรือการขยับยาจากจุลินทรีย์ เช่น เชื้อ *P. aeruginosa* ดื้อต่อยากลุ่ม Beta-lactam โดยการซึมผ่าน เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ดื้อต่อ tetracycline โดยวิธี active efflux ส่วนการดื้อยากลุ่ม Quinolone มักเกิดจาก 2 วิธีร่วมกัน โดยทั่วไป การดื้อยาโดยการลดการนำยาเข้าเซลล์ทำให้เกิดการดื้อยาโดยวิธี decreased permeability ร่วมกับ active efflux จะทำให้เกิดการดื้อยาระดับสูง (high-level resistance) ยาปฏิชีวนะที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้โดยจุลินทรีย์ลดการซึมผ่านของยาเข้าเซลล์ ได้แก่ Beta-lactam, Chloramphenicol, Quinolone, Tetracycline และ Trimethoprim การดื้อยาแบบนี้ไม่ใช่กลไกหลักของยาเหล่านี้ยกเว้นที่เกิดกับเชื้อบางตัว เท่านั้น เช่น *P. aeruginosa* ดื้อต่อ Beta-lactam และ Aminoglycosides ส่วนใหญ่การดื้อยาแบบนี้จะเป็นกลไกรอง เชื้อที่ดื้อต่อยา ปฏิชีวนะด้วยวิธีนี้ที่สำคัญ คือ *P. aeruginosa* ดังกล่าวแล้ว *N. gonorrhoeae* ที่ดื้อต่อ Beta-lactam, Enterobacter

sp. ที่ ตัวยา Beta-lactamase, อีโคไล ที่ ตัวยา Chloroamphenicol, Tetracycline และ Quinolone

2) การขับยาออกจากเชื้อ (Active efflux) กลไกนี้เป็นกลไกการดื้อยาที่สำคัญของ ยา 3 กลุ่ม ต่อไปนี้ คือ

- การดื้อยากลุ่ม Tetracycline ในปัจจุบัน ยากลุ่ม Tetracycline เป็นยาที่มีประโยชน์สำหรับจุลชีพที่ไม่ใช่แบคทีเรียเป็นสำคัญ แบคทีเรียหลายชนิดดื้อยากลุ่มนี้โดยวิธี active efflux เป็นสำคัญ การดื้อยาแบบ active efflux ในยากลุ่ม tetracycline ถูกควบคุมโดยยีนหลายกลุ่ม เรียกว่า ynf tet จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาโดยวิธี efflux เป็นส่วนใหญ่ ส่วนเชื้อ Mycoplasma และ Ureaplasma ดื้อต่อยาโดยวิธีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมาย การดื้อยากลุ่ม Tetracycline มีการควบคุมทางพันธุกรรมโดยพลาสมิด

- การดื้อยากลุ่ม Quinolone โดยปกติหลังจากจุลชีพมี uptake ของ quinolone แล้วมักมี efflux เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ แต่การมี efflux ที่เพิ่มมากขึ้นเป็นกลไกอย่างหนึ่งที่ทำให้มีการดื้อยานี้ จากการศึกษาพบว่าเชื้อ S. aureus มี efflux ที่เพิ่มมากขึ้นและมีความสัมพันธ์กับการดื้อยา การดื้อยาโดยวิธีนี้เป็นการดื้อยาในระดับต่ำก็จริง แต่ระดับ MIC ที่เพิ่มขึ้นก็เพียงพอที่จะทำให้มีเชื้อดื้อยาจากการกลายพันธุ์เกิดขึ้นใน ระหว่างการรักษาได้ เชื้อ S. aureus ที่ดื้อยาโดยวิธีนี้จะเกิดกับยาที่ละลายน้ำได้ดี เช่น Norfloxacin, Enoxacin, Ofloxacin และ Ciprofloxacin มากกว่า ยาที่ละลายน้ำไม่ดี การดื้อยากลุ่มแรกจะมี MIC เพิ่มขึ้น 32 เท่า แต่ยากลุ่มหลังจะมี MIC เพิ่มขึ้นเพียง 2 เท่า ส่วนการศึกษาในแบคทีเรียแกรมลบนั้นพบว่า มี efflux ในระดับปรกติ และยังไม่พบว่า efflux ระดับปกติในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบเป็นสาเหตุของการดื้อยา การควบคุมทางพันธุกรรมเกิดโดยทางโครโมโซมแต่อาจกลายเป็นพลาสมิดได้ในอนาคต เพราะยีนที่กำกับการดื้อยาอยู่บนจุดที่ไวมากของโครโมโซม

- การดื้อยากลุ่ม Macrolide กลไกการขับยาออกจากเซลล์โดยอาศัยพลังงานคือ proton-motive force (PMF) หรือ ATP แบคทีเรียที่จะขับยาออกจากเซลล์ได้จะมีโปรตีนที่สำคัญที่ cytoplasmic membrane เรียกว่า integral inner membrane protein

2.4 การเปลี่ยนแปลงขบวนการเมตะบอลิซึม

การเปลี่ยนแปลงขบวนการเมตะบอลิซึมของตัวแบคทีเรียโดยใช้ขบวนการอื่นที่ไม่ใช่ขบวนการเดิมที่ยาเคยออกฤทธิ์ขัดขวางได้ตัวอย่างเช่นการดื้อต่อยา Sulfamethoxazole และ Trimethoprim เป็นต้น

ในวันสุขภาพโลก ปี พ.ศ. 2554 องค์การอนามัยโลกได้นำประเด็นปัญหาแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะ (Antibiotic resistance bacteria) มารณรงค์ สืบให้เห็นว่า ณ สถานการณ์ปัจจุบัน เรื่องดังกล่าวถือเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่มีความสำคัญในระดับนานาชาติ และเป็นวาระเร่งด่วนที่นานาชาติควรมีมาตรการในการป้องกันและควบคุมก่อนที่สถานการณ์จะทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะนั้นได้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษยชาติ รวมถึงความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจจากการที่มีค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียดื้อยาจัดได้ว่าเป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ (Emerging infectious diseases) มีระดับความรุนแรงของ

การก่อโรคที่เพิ่มขึ้น ในบางกรณีอาจมีระดับความรุนแรงมากจนถึงขั้นเป็นอันตรายต่อชีวิต จากอุบัติการณ์ดังกล่าวจำเป็นต้องมีการใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าเดิมในการรักษา ซึ่งอาจจะเป็นยาที่มีมูลค่าสูงขึ้น หรือในอนาคตหากปัญหาดังกล่าวทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น โรคติดเชื้อบางชนิดก็อาจจะไม่สามารถหายาปฏิชีวนะมารักษาได้ โดยทั่วไปแล้วยาปฏิชีวนะนั้น จัดเป็นกลุ่มยาที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งในแง่ของการรักษาโรคติดเชื้อ โดยเฉพาะจากแบคทีเรียในมนุษย์และสัตว์ รวมถึงใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโต สำหรับการใช้อยาปฏิชีวนะในสัตว์นั้นครอบคลุมทั้งอุตสาหกรรมปศุสัตว์ ประมง หรือแม้แต่กระทั่งการรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์เลี้ยงตามบ้านเรือน

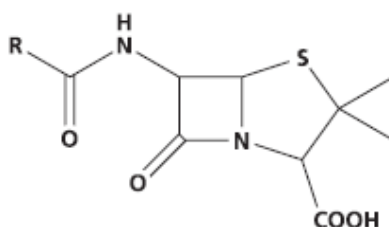
สถานการณ์ปัญหาแบคทีเรียดื้อยาในประเทศไทยนั้น ถ้าพิจารณาจากการใช้อยาปฏิชีวนะในมนุษย์ เรื่องนี้จัดเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญในระดับชาติ โดยพบว่าปริมาณการใช้อยาปฏิชีวนะที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี ประกอบกับมีการใช้อย่างไม่สมเหตุสมผลทั้งในโรงพยาบาลและชุมชน รวมถึงการที่สามารถหาซื้อได้ง่ายโดย บางครั้งไม่จำเป็นต้องมีใบสั่งยา (แผนงานสร้างกลไกเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา, 2554) ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ล้วนแล้วแต่ส่งเสริมให้แบคทีเรียทั้งสายพันธุ์ที่ก่อโรค และสายพันธุ์ประจำถิ่น มีการพัฒนาและปรับตัวให้เหมาะสมเพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะที่มีการปรากฏของยาปฏิชีวนะ หรืออาจเรียกได้ว่าเกิดการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่ดื้อยาขึ้น นอกเหนือจากนี้ ด้านการใช้อยาปฏิชีวนะในสัตว์เชิงพาณิชย์ พบปัญหาการเลือกใช้ชนิดยา, ปริมาณยา, และระยะเวลาการใช้อย่างไม่เหมาะสม ซึ่งอาจเป็นปัจจัยส่งเสริมการเกิดแบคทีเรียดื้อยา และบางกรณีอาจพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ด้วย สำหรับการใช้อยาปฏิชีวนะในสัตว์เลี้ยง สาเหตุของการก่อเกิดแบคทีเรียดื้อยา อาจมาจากการที่เจ้าของซื้อยามารักษาเอง หรือเมื่อนำไปรักษาอาจมีการให้ยาหรือนำมารักษาไม่ต่อเนื่อง (สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข, 2555)

คุณสมบัติของเอนไซม์ Extended beta-lactamase (ESBL)

ยากลุ่ม beta-lactam ประกอบด้วยยาในกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ได้แก่ penicillin , cephem (cephalosporin และ cephamycin) , monobactam และ carbapenem โดยที่ยาหลายชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ จัดเป็นยาต้านแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด และใช้มากที่สุดในด้านเวชปฏิบัติ เนื่องด้วยยามีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal effect) อีกทั้งมีความปลอดภัยในการใช้ และยาหลายชนิดมีฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) แต่ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่มากอาจทำให้มีการคัดเลือกตามธรรมชาติ (natural selection) ของสายพันธุ์ที่ดื้อยา หรือมีการกลายพันธุ์ที่เพิ่มความสามารถในการดื้อยา จึงทำให้มีเชื้อดื้อยาเพิ่มขึ้นและแพร่กระจายต่อไป ปัญหาการดื้อยาในกลุ่ม beta-lactam จึงพบได้มากขึ้น และส่งผลให้เกิดความล้มเหลวในการรักษา

การดื้อยากลุ่ม beta-lactam เกิดขึ้นได้จากหลายกลไก กลไกสำคัญที่สุดในแบคทีเรียแกรมลบ คือ การสร้างเอนไซม์เพื่อทำลายยา ที่เรียกว่าเอนไซม์ beta-lactamase ซึ่งมีความสามารถในการออกฤทธิ์ทำลายพันธะเคมีของวงแหวน beta-lactam (beta-lactam ring) ที่เป็นส่วนแกนของโครงสร้างทางเคมีของยา (ภาพที่ 2.3) ทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ อย่างไรก็ตามเอนไซม์ beta-lactamase มีความหลากหลายทางโครงสร้างโมเลกุล กลไกการออกฤทธิ์และประสิทธิภาพใน

การทำลายยา ซึ่งมีรายงานชนิดของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เอนไซม์ ESBL ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ beta-lactamase ใน class A ตามโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งคุณสมบัติหลักของเอนไซม์คือสามารถทำลายยาในกลุ่ม penicillin, cephalosporin (รวมถึง oxyimino-cephalosporin) และ monobactam ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ทำลายยาในกลุ่ม cephamycin และ carbapenem รวมถึงสามารถต้านฤทธิ์ได้ด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamase เช่น กรด clavulanic คุณสมบัติดังกล่าวมีความสำคัญในการใช้จำแนกเอนไซม์ ESBL และ AmpC beta-lactamase ซึ่งเป็นเอนไซม์ beta-lactamase ใน class C เอนไซม์ทั้งสองกลุ่มนี้พบได้บ่อยในเชื้อวงศ์ Enterbacteriaceae เช่นเดียวกัน โดยมีข้อเปรียบเทียบคุณสมบัติดังแสดงในตารางที่ 1 เอนไซม์ beta-lactamase ที่มีคุณสมบัติเป็น ESBL มีจำนวนมาก ซึ่งมีความแตกต่างทางโครงสร้างโมเลกุลและคุณสมบัติบางประการ โดยชนิดที่พบระบาดอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสมาชิกของวงศ์ CTX-M, TEM และ SHV ส่วนวงศ์อื่นๆ พบได้น้อย เช่น VEB, OXA, PER, GES, IBC, BES, SFO (ภัทรชัย และอนุชา, 2555)



ภาพที่ 2.3 แสดงโครงสร้างหลักของยาในกลุ่ม beta-lactam ซึ่งประกอบไปด้วยวงแหวน beta-lactam (Guilfoile, 2007)

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ ESBL และ AmpC beta-lactamase

คุณสมบัติของเอนไซม์	ESBL	AmpC beta-lactamase
การจัดกลุ่มตามโครงสร้างโมเลกุล	Class A	Class C
การจัดกลุ่มตามความสามารถในการออกฤทธิ์	Group 2be	Group 1
การทำลายยาในกลุ่ม cephalosporin รุ่นที่ 3	ได้	ได้
การทำลายยาในกลุ่ม cephalosporin รุ่นที่ 4	ได้	ไม่ได้
การทำลายยา aztreonam	ได้	ได้
การทำลายยาในกลุ่ม cephamycin	ไม่ได้	ได้
การทำลายยาในกลุ่ม carbapenem	ไม่ได้	ไม่ได้
การถูกต้านด้วยสารยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamase	ได้	ไม่ได้

(ภัทรชัย และอนุชา, 2555)

ข้อมูลทั่วไปของพื้นที่ที่ศึกษา

1. ข้อมูลทั่วไปของพื้นที่

อุทยานแห่งชาติพุเตย ตั้งอยู่ในจังหวัดสุพรรณบุรี มีเนื้อที่ 198,422 ไร่ จัดตั้งขึ้นเนื่องจากกรมป่าไม้เห็นว่า พื้นที่ป่าเพื่อการอนุรักษ์บางส่วนในเขตป่าสงวนแห่งชาติ ป่าองค์พระ ป่าเขาพระกำ และป่าห้วยพลู ท้องที่อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์เป็นแหล่งต้นน้ำลำธารในการเกษตร ของจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดกาญจนบุรี มีทิวทัศน์สวยงาม สัตว์ป่าชุกชุมสมควรอนุรักษ์ไว้เป็นสมบัติของชาติ จึงแต่งตั้งให้ นายพันเทพ อันตระกูล นักวิชาการกรมป่าไม้ ไปทำการสำรวจบุกเบิกเตรียมการประกาศเป็นอุทยานแห่งชาติ ตั้งแต่ปี 2538 จนถึงปี 2541 จึงได้ประกาศเป็นอุทยานแห่งชาติลำดับที่ 84 ในราชกิจจานุเบกษาเล่มที่ 115 ตอนที่ 67ก ลงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2541 โดยใช้ชื่อว่า "อุทยานแห่งชาติพุเตย" ต่อมาได้มีคำสั่งกรมป่าไม้ที่ 2421/2543 ลงวันที่ 12 ธันวาคม พ.ศ. 2543 ให้โอนงานวนอุทยาน "ถ้ำเขาวง" ซึ่งอยู่ในความรับผิดชอบของป่าไม้เขตนครสวรรค์ จำนวน 8,125 ไร่ ผนวกเข้าเป็นพื้นที่ส่วนหนึ่งของอุทยานแห่งชาติพุเตย โดยให้มีการจัดการตามระบบอุทยานแห่งชาติ โดยมีลักษณะตามแสดงในภาพที่ 2.4-2.5 (สำนักอุทยานแห่งชาติ, 2556)

2. ลักษณะภูมิประเทศ

สภาพทั่วไปเป็นเทือกเขาสูงติดต่อกันสลับซับซ้อน จุดสูงสุดที่ยอดเขาเทวดา ระดับความสูง 1,123 เมตร เป็นต้นน้ำลำธาร ซึ่งไหลลงอ่างเก็บน้ำลำตะเพิน ตามโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ มีคลอง ลำห้วยต่างๆ เช่น ห้วยเหล็กไหล ห้วยวังน้ำเขียว ห้วยองค์พระ ห้วยท่าเตื่อ ห้วยขมื่น ห้วยองค์ต ซึ่งเป็นลำน้ำสายหลักของชาวสุพรรณบุรี และเป็นต้นกำเนิดของเขื่อนกระเสียวพันธุ์ไม้และสัตว์ป่า มีสภาพเป็นป่าดิบชื้นเช่น ป่าสนสองใบ ป่าเต็งรังอุทยานแห่งชาติพุเตยมีสัตว์ป่าอาศัยอยู่มากมายหลายชนิดด้วยกัน สัตว์ที่มีเป็นจำนวนมากในพื้นที่ ได้แก่ เสียงผา นกเงือก ชะนี ลิงลม

3. สภาพภูมิอากาศ สภาพอากาศ

มีลมมรสุมพัดผ่านตลอดปี เกิดฤดูกาล 3 ฤดู คือ ฤดูฝน ประมาณ เดือนพฤษภาคม ถึงกลางเดือนตุลาคม ฤดูหนาว ประมาณปลายเดือนตุลาคม ถึงเดือน กุมภาพันธ์ และฤดูร้อน ประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ ถึงกลางเดือนพฤษภาคม อุณหภูมิเฉลี่ยโดยทั่วไปประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส แต่ในฤดูหนาวจะมีอุณหภูมิประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส และที่หมู่บ้านกระเหรี่ยงตะเพนคี่นี้มีอุณหภูมิประมาณ 5-6 องศาเซลเซียส

4. หมู่บ้านกระเหรี่ยงตะเพนคี่

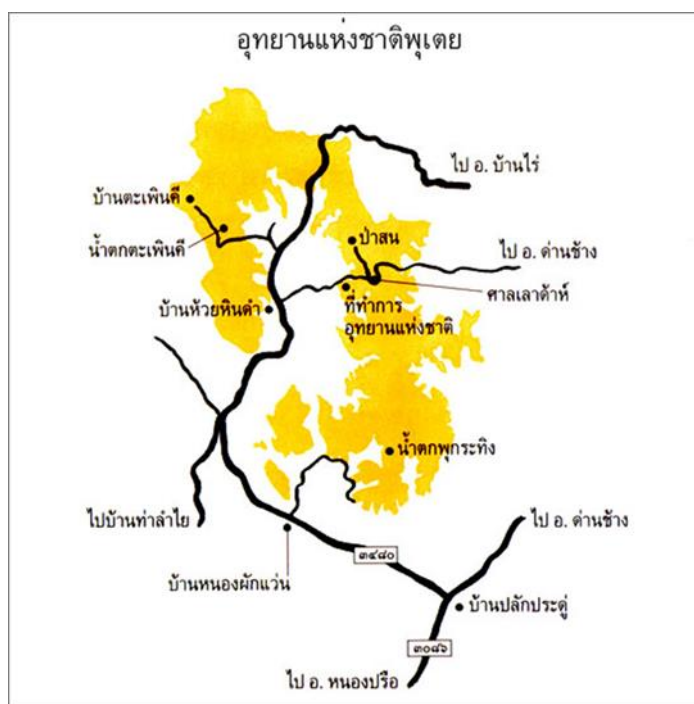
หมู่บ้านกระเหรี่ยงตะเพนคี่ (ที่ตั้งของหน่วยพิทักษ์อุทยานฯ พุเตยที่ 3 ตะเพนคี่) เป็นป่าที่สวยงาม และเป็นที่ตั้งของหมู่บ้านกระเหรี่ยง ชนกลุ่มน้อยที่อาศัยมากกว่า 200 ปี ผืนป่า และต้นน้ำตะเพนคี่ ยังคงสภาพสมบูรณ์ เหมาะแก่การท่องเที่ยวเชิงผจญภัยล่องไพร เป็นดินแดนแห่งความหนาว

เย็น ในหน้าหนาวอุณหภูมิจะลดลง 5-6 องศาเซลเซียส ยอดเขาเทวดาที่ความสูงกว่า 1000 เมตร และยังเป็นดินแดนรอยต่อของสามจังหวัด คือ สุพรรณบุรี อุทัยธานี และกาญจนบุรี

5. แหล่งน้ำ

5.1 น้ำตกตะเพินคี่น้อย: เป็นน้ำตกขนาดเล็กอยู่ใกล้กับหมู่บ้านตะเพินคี่ มีน้ำไหลตลอดปี เป็นความงามทางธรรมชาติ ที่คนภายนอกไม่ค่อยได้มีโอกาสไปสัมผัส เหมาะสำหรับผู้ที่รักการเดินทางแบบผจญภัยเล็กๆ

5.2 น้ำตกตะเพินคี่ใหญ่: เป็นน้ำตกขนาดเล็กมีสองชั้น ความสูงประมาณชั้นละ 5-6 เมตร มีน้ำไหลตลอดปี เพราะเป็นต้นน้ำและบ่อน้ำผุด ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และยังมีถ้ำที่สวยงามที่ยังอยู่ระหว่างการสำรวจ



ภาพที่ 2.4 แสดงลักษณะพื้นที่ที่ทำการศึกษา (สำนักอุทยานแห่งชาติ, 2556)

การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาในครั้งนี้ดำเนินการภายใต้ข้อสมมติฐาน 3 ข้อ ที่กล่าวว่า 1) เชื้อแบคทีเรียในดินเพาะปลูกที่มีความต้านทานต่อโลหะหนัก จะมีคุณสมบัติในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วยหรือไม่, 2) มีโอกาสที่จะพบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในดินเพาะปลูกหรือไม่, และ 3) มีโอกาสหรือไม่ที่เชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะจากบริเวณที่ทำการเพาะปลูกจะแพร่กระจาย ไปยังบริเวณใกล้เคียง ดังข้อสันนิษฐานที่กล่าวมานั้นสามารถแยกประเด็นการศึกษาที่เกี่ยวข้องออกเป็น 3 ประเด็นหลัก ได้แก่ 1) ปริมาณแบคทีเรียก่อโรคที่พบในพื้นที่ทางการเกษตร, 2) การทนทานต่อสารอื่นของแบคทีเรีย อาทิเช่น โลหะหนัก และสารเคมีทางการเกษตร, และ 3) การพบลักษณะร่วมกันระหว่างการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ และการทนทานต่อโลหะหนัก โดยรายละเอียดของการศึกษาข้อมูลแต่ละส่วนมีดังต่อไปนี้

1. ปริมาณแบคทีเรียก่อโรคที่พบในพื้นที่ทางการเกษตร

โดยทั่วไปแบคทีเรียในดินเพาะปลูกทางการเกษตรพบปริมาณแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดของดินและกิจกรรมในแต่ละบริเวณ เช่น ในช่วง 1×10^6 - 3×10^6 โคโลนี/กรัมดิน (Negrenu et al., 2012) และเป็นที่ทราบกันดีว่าจุลินทรีย์ในดินมีความหลากหลายมาก โดยพบประมาณ 13,000 ชนิด (species) (Giller et al., 1998) โดยตัวอย่างของแบคทีเรียที่พบในดิน ได้แก่ Bacillus, Micrococcus, Staphylococcus, Pseudomonas, Escherichia, Shigella, Xanthomonas, Acetobacter, Citrobacter, Enterobacter, Moraxella และ Methylococcus (Bahig et al., 2008)

2. การทนทานต่อสารเคมีของแบคทีเรีย

โดยทั่วไปเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียเกิดจากการเลือกสรรตามธรรมชาติ (Natural selection) เพราะแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมียีนดื้อยาอยู่ในตัวอยู่แล้วตามธรรมชาติ แต่สาเหตุที่เป็นปัจจัยหลักคือ การถูกเหนี่ยวนำโดยการใช้อยาปฏิชีวนะ โดยแบคทีเรียจะเกิดพัฒนาการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมให้สามารถทนทานต่อการทำลายของยาได้ ดังเช่นนี้เรียกว่า เกิดการกลายพันธุ์ (Mutation) นอกจากนี้ อาจเกิดจากการได้รับยีนดื้อยาจากแบคทีเรียอื่นด้วย กระบวนการส่งถ่ายยีน (Horizontal gene transfer, HGT) ผ่านสารพันธุกรรมชนิดเคลื่อนที่ได้ (Mobile genetic elements) เช่น plasmids, transposons และ integrons ซึ่งกระบวนการรับยีนดื้อยาจากแบคทีเรียอื่นยังประกอบไปด้วยกลไกต่างๆ ดังเช่น transformation (DNA uptake), conjugation (direct contact transfer of mobile plasmids), และ transduction (uptake of naked DNA) (Jury et al., 2010; Taylor et al., 2011)

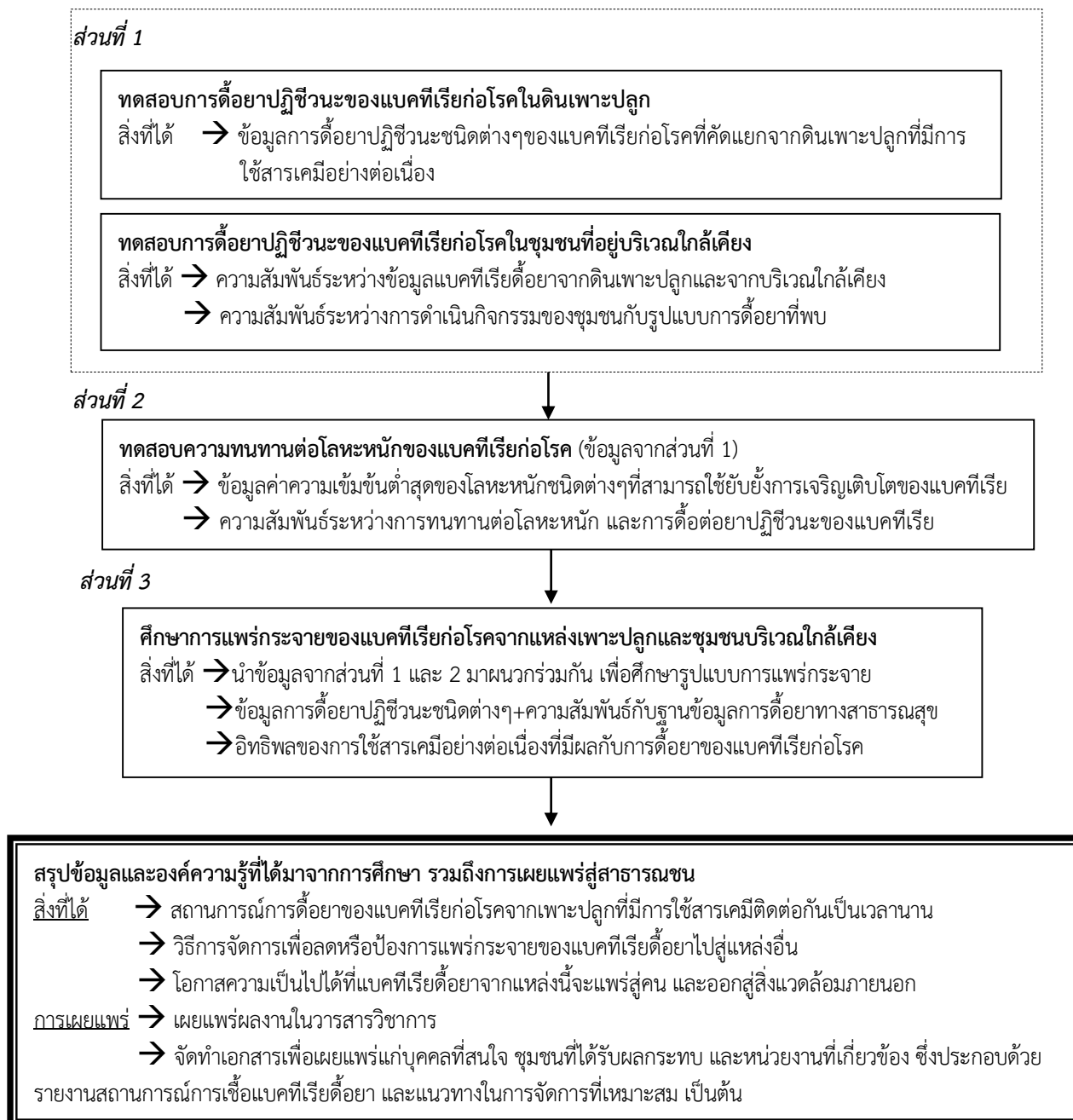
ในปัจจุบันนี้เริ่มมีงานวิจัยที่ค้นพบว่าในสิ่งแวดล้อมนั้นมีปัจจัยอื่นนอกเหนือจากยาปฏิชีวนะที่สามารถเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียมีคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Selective pressure) เกิดขึ้น อาทิเช่น สภาวะแวดล้อมที่กดดัน (Environmental stresses) ซึ่งมีผลรบกวนกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ ได้แก่ growth-inhibiting stresses, oxidative stress, และ cell envelope damage ส่งผลให้

เซลล์เกิดการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมดังกล่าวเพื่อการอยู่รอด (McMahon et al., 2007; Poole, 2012) โดยโลหะหนักจัดเป็นสารประเภทหนึ่งส่งผลให้แบคทีเรียสามารถปรับตัวอยู่รอดได้ (ทนทานต่อโลหะหนัก) ก่อเกิดการพัฒนาระดับยีน ซึ่งมียางานการวิจัยที่เริ่มพบว่า ยีนดื้อยาปฏิชีวนะที่เกิดขึ้นสัมพันธ์กับโลหะหนักที่พบในสิ่งแวดล้อม (Ji et al., 2012) อาทิเช่น Bahig et al. (2008) ทำการทดสอบการทนต่อโลหะหนักของแบคทีเรียที่คัดแยกด้วยการหาค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC) โดยพบว่า เชื้อส่วนใหญ่ทนต่อตะกั่วสูง มีค่า MIC 1,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, โคบอล และสารหนู 800 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, นิกเกิล 1,200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, ทองแดง 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และค่าน้อยกว่า 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับโลหะหนักชนิดอื่นๆ โดยเชื้อที่คัดแยกจากทั้งสองพื้นที่มีการทนทานต่อโลหะหนักมากกว่า 1 ชนิดขึ้นไป โดยเชื้อสามารถใช้ Carbaryl ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดแมลง เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานในการเจริญเติบโต โดยแบคทีเรีย *Citrobacter* ให้ผลการทดสอบดีที่สุด

3) การพบลักษณะร่วมกันระหว่างการดื้อยาปฏิชีวนะ และการทนทานต่อโลหะหนัก

เมื่อแบคทีเรียมีความทนทานต่อโลหะหนักนั้น มักจะมีกลไกของเซลล์เพื่อช่วยปรับสมดุลเพื่อให้แบคทีเรียสามารถอยู่รอดได้ ซึ่งกลไกเหล่านั้นบางครั้งก็จัดเป็นกลไกเดียวกันกับกลไกการดื้อยาปฏิชีวนะ อาทิเช่น Habi and Daba (2009) ได้ทำการศึกษาเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่คัดแยกจากบริเวณที่พบการปนเปื้อนของแคดเมียม, พรอท และตะกั่ว ตรวจพบปริมาณความเข้มข้น 32, 8 และ 4,096 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และพบว่าแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อตะกั่วมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบการดื้อยาปฏิชีวนะร่วมในกลุ่ม Erythromycin (45.45-68.8%), Tetracyclines (14-61.11%), Streptomycin (16-24%) นอกจากนี้ยังพบว่าการปรากฏของยีนดื้อยากลุ่ม Sulfonamide เช่น sulA และ sulIII สอดคล้องเชิงบวกกับปริมาณทองแดง, สังกะสี และพรอท (Ji et al., 2012)

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 2.6 แสดงกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย