การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

STUDY OF THE EFFECT OF ANTIBIOTICS ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF *ESCHERICHIA COLI* TS008 USING LIGHT MICROSCOPY

อภิรักษ์ สุดแสวง

สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY OF THE EFFECT OF ANTIBIOTICS ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF *ESCHERICHIA COLI* TS008 USING LIGHT MICROSCOPY

Aprilak Sudsawaend

A COOPERATIVE EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FUFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR THE DEGEREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสหกิจศึกษา การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

Study of the effect of antibiotics on morphological changes of *Escherichia coli* TS008 using light microscopy

ชื่อนักศึกษา นายอภิรักษ์ สุดแสวง นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัสนักศึกษา 63050529

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิมลมาศ บุญมี

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.ภูชิต โนนจุ้ย

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2566

คณะกรรมการ	ลายมือชื่อ
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	
ผศ.ดร.ภูชิต โนนจุ้ย กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสหกิจศึกษา การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
Study of the effect of antibiotics on morphological changes of *Escherichia coli TS008* using light microscopy

ชื่อนักศึกษา นายอภิรักษ์ สุดแสวง นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัสนักศึกษา 63050529

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2566

อาจารย์ที่ปรึษา ดร.วิมลมาศ บุญมี

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.ภูชิต โนนจุ้ย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Escherichia coli* TS008 จากสถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่พบได้เป็นปกติในลำไส้ของคนและสัตว์บางชนิด โดยปกติจะไม่ก่อโรคและยังมีประโยชน์บางอย่างต่อร่างกาย บางกรณีที่เชื้อ *E. coli* สามารถก่อโรคได้ โดยโรคที่พบบ่อยในมนุษย์ ได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและโรคท้องเดินอาหาร เนื่องจากนี้ยังเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม ESKAPE ที่เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ดื้อยาที่มีความสำคัญ โดยการศึกษาจะทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Luria-Bertani agar และนำไปทำการศึกษาหาค่าความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ของยาปฏิชีวนะทั้ง 8 ชนิด คือ 1. Ciprofloxacin 2. Rifampicin 3. Tetracycline 4. Mecillinam 5. Ampicillin 6. Kanamycin 7. Colistin 8. Ceurenin พบว่ายาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิ์ภาพมากที่สุดคือ Rifampicin ที่มีค่า MIC ต่ำที่สุดคือ 0.00234 µg/ml, รองลงมาคือ Ciprofloxacin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.00390 µg/ml และ Mecillinam ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.06 µg/ml เมื่อทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัณฐานวิทยาของ *E. coli* TS008 หลังได้รับยาปฏิชีวนะทั้ง 7 ชนิด แล้วทำการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าเชื้อ *E. coli* TS008 ที่ได้รับยาปฏิชีวนะ 6 ชนิดจาก 7 ชนิดสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับเชื้อที่ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ ส่วนยาปฏิชีวนะ Tetracycline ไม่สามารถสังเกตความเปลรายนแปลงทางสัณฐานวิทยาได้อย่างชัดเจน

คำสำคัญ: *Escherichia coli*, MIC, Rifampicin, Ciprofloxacin, Mecillinam, Tetracycline, กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Study of the effect of antibiotics on morphological changes of *Escherichia coli* TS008 using light microscopy.

Students Mr.Aprilak Sudsawaend Student ID 63050529

Degree Bachelor of science (Industrial Microbiology)

Department Biology

Faculty Science

University King Monkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Academic Year 2023

Advisor Dr. Wimonmat Boonmee

Co-advisor Asst Prof Dr. Poochit Nonejuie

Abstract

The purpose of this research is to study the morphological changes of *Escherichia coli* TS008 from the Institute of Molecular Biosciences. Mahidol University *E. coli* is a bacterium that is normally found in the intestines of people and some animals. They usually do not cause disease and still have some benefits for the body. There are some cases where *E. coli* can cause disease. Common diseases in humans include urinary tract infections and gastrointestinal diseases. Because this is also a bacterium in the ESKAPE group, which is an important group of drug-resistant bacteria. The Luria-Bertani agar. The lowest concentration of substances that can inhibit microbial growth (MIC) was also investigated for all 8 types of antibiotics: 1. Ciprofloxacin 2. Rifampicin 3. Tetracycline 4. Mecillinam 5. Ampicillin 6. Kanamycin 7. Colistin 8. Ceurenin It was found that the most effective antibiotic was Rifampicin with the lowest MIC value of 0.00234 µg/ml, followed by Ciprofloxacin with an MIC value of 0.00390 µg/ml and Mecillinam with an MIC value of 0.06 µg/ml. When analyzing the morphological changes of *E. coli* TS008 after receiving the 7 types of antibiotics and using light microscopy, it was found that *E. coli* TS008 that received the 6 types of

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

antibiotics from the 7 types could observe changes in appearance. The morphology was clearly compared to that of the bacteria that did not receive antibiotics. As for the antibiotic Tetracycline, no obvious morphological changes were observed.

Keyword: *Escherichia coli*, MIC, Rifampicin, Ciprofloxacin, Mecillinam, Light Microscopy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

สหกิจศึกษานี้สามารถสำเร็จไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ ได้รับความรู้ และได้รับความกรุณาจาก ดร.วิมลมาศ บุญมี และ อ.ดร.ภูชิต โนนจุ้ย อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษาที่ได้ให้คำเสนอแนะ แนวคิด ตลอดจนแก้ไข้ข้อบกพร่องต่างๆ จนสหิกิจศึกษานี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.วิมลมาศ บุญมี และ อ.ดร.ภูชิต โนนจุ้ย ที่ให้ความกรุณาตรวจทาน และให้คำชี้แนะเพิ่มเติม ในการทำสหกิจศึกษาให้สำเร็จลุล่วงไปได้

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าสหิกิจศึกษานี้จะมีประโยชน์ และสามารถเป็นแนวทางให้แก่ผู้ที่สนใจทุกท่าน จึงขอมอบคุณงามความดีทั้งหมดให้แก่เหล่าคณาจารย์ทุกๆท่านตั้งแต่อดีตจนถึงปันจุบัน สำหรับข้อบกพร่องต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น ทางผู้ทำสหกิจศึกษาขอน้อมรับไว้ทั้งหมด และ ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

อภิรักษ์ สุดแสวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญรูป..... ญ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2. วัตถุประสงค์ของสหกิจศึกษา..... 3

1.3. ขอบเขตของสหกิจศึกษา..... 3

1.4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1. *Escherichia coli*..... 4

2.1.1. อนุกรมวิธาน..... 4

2.1.2. แหล่งที่มาของ *Escherichia coli*..... 4

2.1.3. ลักษณะสัณฐานของ *Escherichia coli*..... 5

2.1.4. ผลเสียของ *Escherichia coli*..... 5

2.2 ยาปฏิชีวนะ..... 6

2.2.1. กลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ 7

2.2.2. ข้อมูลยาปฏิชีวนะ 7

2.2.2.1. Ciprofloxacin 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง **หน้า**

2.2.2.2. Rifampicin..... 8
2.2.2.3. Tetracycline 9
2.2.2.4. Mecillinam 10
2.2.2.5. Ampicillin 10
2.2.2.6. Kanamycin 10
2.2.2.7. Colistin 11
2.2.2.8. Cerulenin 11
2.3. Minimum inhibitory concentrations (MIC) 12
2.3.1. ทดสอบค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC) 12
2.4. *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่ดื้อยาปฏิชีวนะ 14
2.5. กล้องจุลทรรศน์ 14
2.6. Bacterial cytological profiling (BCP) 15
2.7. งานวิจัยที่เกี่ยงข้อง 15
บทที่ 3 วิธีดำเนินสหกิจศึกษา..... 20
3.1.เชื้อจุลินทรีย์..... 20
3.2. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี..... 20
3.2.1. อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 20
3.2.2. อุปกรณ์และเครื่องมือ..... 20
3.2.3. สารเคมี..... 21
3.3. วิธีการดำเนินงานสหิกิจศึกษา..... 21
3.3.1. การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* TS008..... 21
3.3.2. การทดสอบ Minimum inhibitory concentrations (MIC) 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง **หน้า**

3.3.3. การทดสอบ Bacterial cytological profiling (BCP) 24

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 26

4.1. การเจริญของ *Escherichia coli* TS008 บนอาหารแข็ง LBA..... 26

4.2. ผลการทดสอบค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC) ของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิด..... 27

4.3. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงหลังการรับยาปฏิชีวนะทั้ง 7 ชนิด..... 28

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 33

5.1. สรุปผลการวิจัย..... 33

5.2. ข้อเสนอแนะ..... 33

เอกสารอ้างอิง..... 34

ภาคผนวก..... 38

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี่ยงเชื้อ..... 39

ภาคผนวก ข การเตรียมยาปฏิชีวนะ..... 40

ภาคผนวก ค การคำเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.2.1. ตารางแสดงอนุกรมวิธานของเชื้อ *Escherichia coli*..... 4

4.2 ผลการทดสอบค่า MIC ของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดต่อ *Escherichia coli* TS008..... 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1. ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli*..... 5

3.1. ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ 96 well plate อันที่ 1.....
22

3.2. ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ 96 well plate อันที่ 2..... 23

4.1. ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* บนอาหาร LBA..... 26

4.2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ยังไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ..... 29

4.3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Tetracycline..... 29

4.4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Ciprofloxacin..... 29

4.5. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Ampicillin..... 30

4.6. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Rifampicin..... 30

4.7. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Cerulenin..... 30

4.8. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Colistin..... 31

4.9. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Kanamycin..... 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แม้จะมีการใช้ยาต่างๆในการปฏิบัติงานทางด้านคลินิก แต่อัตราการเสียชีวิตเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ดื้อยาปฏิชีวนะก็มีเพิ่มขึ้นทั่วโลก นอกจากจุลินทรีย์ที่ดื้อยาหลายชนิด (MDR) แล้ว แบคทีเรีย “ESKAPE” ก็กำลังเกิดขึ้นเช่นกัน การติดเชื้อที่เกิดจาก ESKAPE ไม่สามารถรักษาได้แม้จะใช้ยาปฏิชีวนะในปริมาณที่ถึงตาย การดื้อยายังแพร่หลายมากขึ้นในการรักษาด้วยเคมีบำบัดด้วยยาปฏิชีวนะ (Peraman et al., 2021) เนื่องจากการแพร่ระบาดของแบคทีเรียดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) และแบคทีเรียดื้อยาหลายขนานชนิดรุนแรงมาก (XDR-TB) มีความรุนแรงมากขึ้น การพิจารณาลักษณะทางคลินิกและระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของ MDR-TB และ XDR-TB จึงเป็นสิ่งสำคัญ การศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าลักษณะทางคลินิกและลักษณะทางโมเลกุลของสายพันธุ์ที่ดื้อยานั้นแตกต่างกันไปในพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องมีข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อประเมินวิวัฒนาการแบบไดนามิกของแบคทีเรียที่ดื้อยา จำเป็นต้องมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างช่วงเวลาต่างๆ เพื่อชี้แจงการพัฒนาแบคทีเรียที่ดื้อยา (Yin et al., 2016)

การดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR) เกิดขึ้นเมื่อแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา และปรสิตเกิดการเปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลา และไม่ตอบสนองต่อยาอีกต่อไป ทำให้การติดเชื้อยากต่อการรักษาและเพิ่มความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายของโรค การเจ็บป่วยรุนแรงและการเสียชีวิตผลจากการดื้อยาปฏิชีวนะและยาต้านจุลชีพอื่นๆ จึงไม่มีประสิทธิภาพ และการติดเชื้อกลายเป็นเรื่องยากมากขึ้นหรือรักษาไม่ได้เลย (World Health Organization, 2015) หลายทศวรรษหลังจากที่ผู้ป่วยกลุ่มแรกได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ การติดเชื้อแบคทีเรียได้กลายเป็นภัยคุกคามอีกครั้งเนื่องจากการเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วของแบคทีเรียที่ดื้อยา ซึ่งเป็นวิกฤตที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะเหล่านี้ในทางที่ผิดและการขาดการพัฒนายาใหม่ (Ventola, 2015)

การหายาปฏิชีวนะมีความจำเป็นสำหรับการศึกษาค้นคว้าอย่างต่อเนื่องและมีการพัฒนายาปฏิชีวนะขึ้นมาเรื่อยๆ เพื่อจัดการกับเชื้อโรคที่ดื้อยา ซึ่งจำเป็นเมื่อมีการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการรักษาแพร่หลายมากขึ้น ในยุคทองอันสั้นในการค้นพบยาปฏิชีวนะจากธรรมชาติ การปรับโครงสร้างทางเคมีในทางการแพทย์เพื่อให้เหมาะสม เพื่อแสดงถึงความจำเป็นในการสร้างกรอบโครงสร้างโมเลกุลยาปฏิชีวนะใหม่ (Walsh & Wencewicz, 2014) การเพิ่มประสิทธิภาพของโมเลกุลยาปฏิชีวนะใหม่ชนิดใหม่ ความท้าทายที่สำคัญคือ การเลือกเป้าหมายที่เหมาะสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งความจำเป็นในการออกฤทธิ์ตามเป้าหมายระดับโมเลกุลของเชื้อดื้อยา ที่ไม่เสี่ยงต่อการพัฒนาความต้านทานยาปฏิชีวนะอย่างรวดเร็ว (Silver, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านจุลชีพสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มตามกลไกการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพกลุ่มหลัก ได้แก่ สารที่ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ ดีโพลาไรซ์เยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิ และยับยั้งวิถีเมแทบอลิซึมในแบคทีเรีย (Reygaert, 2018) การพิจารณาความต้านทานของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะในทุกประเภท (ฟีโนไทป์) และการกลายพันธุ์ที่ส่วนต่อการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย (การวิเคราะห์ทางพันธุกรรม) จะเป็นประโยชน์ ในการเข้าใจกลไกการดื้อยาปฏิชีวนะดีขึ้นจะช่วยให้แพทย์ใช้ยาปฏิชีวนะในสถานการณ์ต่างๆได้ (Kapoor et al., 2017)

การทำโปรไฟล์ทางเซลล์วิทยาของแบคทีเรีย (BCP) เป็นวิธีการที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการระบุเส้นทางของเซลล์ที่ได้รับผลกระทบจากโมเลกุลต้านแบคทีเรีย BCP สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสารยับยั้งที่ส่งผลต่อวิถีของเซลล์ต่างๆ รวมถึงเป้าหมายที่แตกต่างกันภายในวิถีทางเดียวกัน (Nonejuie et al., 2013) การทำโปรไฟล์ทางเซลล์วิทยาของแบคทีรีย (BCP) ซึ่งใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์เชิงปริมาณเพื่อวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากยาปฏิชีวนะในรูปร่างของเซลล์ BCP แยกแยะระหว่างความไวต่อเมทิซิลิน (MSSA) และความต้านทานต่อยา (MRSA) (Quach et al., 2016)

การใช้สีย้อม Fluorescent Dye จะได้รับการตรวจสอบร่วมกับถ่ายภาพของการใช้สีย้อม Fluorescent Dye ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างโมเลกุลของเซลล์ที่ถูกย้อมด้วยสีย้อม Fluorescent Dye (Clark, 2011) ร่วมกับการใช้กล้อง Fluorescent ใช้ศึกษาสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีคุณสมบัติสามารถเรืองแสงหรือเปล่งแสงเองได้เอง การแสดงผลจะได้ภาพที่มีความละเอียดสูงซึ่งมีความจำเป็นในการศึกษาความแตกต่างของลักษณะเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Alsamsam et al., 2022)

การศึกษาด้วยสีย้อม Fluorescent Dye และการใช้กล้อง Fluorescent นั้นมีค่าใช้จ่ายที่มากในการดูแลรักษาอุปกรณ์และจัดเก็บอุปกรณ์สูง เพราะฉะนั้นจึงมีการทดลองประยุกต์ใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ซึ่งเป็นกล้องที่สามารถหาได้ทั่วไปมีราคาถูกกว่ากล้อง Fluorescent นอกจากนี้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยังสามารถดูแลรักษาง่ายและมีค่าใช้จ่ายในการดูแลไม่สูง ซึ่งสามารถใช้ศึกษาความเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้โดยไม่จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีที่จำเพาะในการศึกษา โดยศึกษาจากการแสดงผลเป็นการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างหรือลักษณะของเซลล์ระหว่างเซลล์ที่ได้รับยาปฏิชีวนะกับเซลล์ที่ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะจากการดูลักษณะที่เห็นได้ชัดคือ รูปร่างเซลล์และความยาวของเซลล์ ถึงอย่างนั้นถ้าจะสังเกตเห็นความแตกต่างของเซลล์อย่างจำเพาะเจาะจง ควรเลือกใช้กล้อง fluorescence และสารที่จำเพาะในการใช้ศึกษาเพื่อให้เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2. วัตถุประสงค์

1). เพื่อศึกษาหาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ของยาปฏิชีวนะทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ 1. Ciprofloxacin 2. Rifampicin 3. Tetracycline 4. Mecillinam 5. Ampicillin 6. Kanamycin 7. Colistin 8. Ceurenin ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TS008

2). เพื่อศึกษาผลของยาปฏิชีวนะทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ 1. Ciprofloxacin 2. Rifampicin 3. Tetracycline 4. Ampicillin 5. Kanamycin 6. Colistin 7. Ceurenin ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Escherichia coli* TS008 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

1.3. ขอบเขตของศึกษา

1). สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ต่อยาปฏิชีวนะ 7 ชนิด ได้แก่ 1. Ciprofloxacin 2. Rifampicin 3. Tetracycline 4. Ampicillin 5. Kanamycin 6. Colistin 7. Ceurenin

2). สามารถระบุค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ของยาแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ได้

1.4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1). สามารถสังเกตเห็นความเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 (*E. coli TS008*) จากการได้รับยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2). สามารถทราบถึงค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1. อนุกรมวิธาน

ตารางที่ 2.2.1. ตารางแสดงอนุกรมวิธานของเชื้อ *Escherichia coli (E. coli)*

ชื่อ	***Escherichia coli (E. coli)***
kingdom	Eubacteria
class	Gamma Proteobacteria
domain	Bacteria
Superdomain	Phylogenetica
family	Enterobacteriaceae
Genus	*Escherichia*
Species	*E. coil*

ที่มา:The population genetics of commensal *Escherichia coli*

2.1.2. แหล่งที่มาของ *Escherichia coli*

Escherichia coli (E. coli) เป็นแบคทีเรียที่อยู่รวมกันในจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์หลายชนิด รวมถึงมนุษย์ด้วย อย่างไรก็ตาม ไม่ใช่ว่าเชื้อ *E. coli* ทุกสายพันธุ์จะไม่เป็นอันตราย เนื่องจากบางชนิดสามารถทำให้เกิดโรคในมนุษย์ เช่นเดียวกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและนก เชื้อ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคแบ่งออกเป็นสองประเภท: สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในลำไส้และสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคภายนอกลำไส้ โรคในลำไส้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยอาการท้องร่วงที่รุนแรงไม่มากก็น้อยที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* ที่แตกต่างกัน เช่น enterotoxicogenic, enteropathogenic หรือ enterohaemorragic *E. coli* (*ETEC*, *EPEC* และ *EHEC* ตามลำดับ) อาจพัฒนาไปสู่กลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตก (HUS) ในกรณีของการติดเชื้อ *EHEC* ในบรรดาโรคเหล่านี้ สายพันธุ์ *EHEC* ของซีโรไทป์ O157:H7 เป็นเชื้อก่อโรคจากสัตว์สู่คน เป็นที่ยอมรับกันดีว่าสัตว์ในฟาร์ม ได้แก่ วัวควาย เป็นแหล่งสะสมของ *EHEC* (O157:H7) มีการประมาณการว่า *EHEC* ทำให้เกิดการติดเชื้อในมนุษย์ 4,75,000 ราย และเกิดการระบาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17 ครั้งต่อปีในอเมริกาเหนือ การติดเชื้อเหล่านี้สามารถพัฒนาเป็น HUS ซึ่งทำให้เสียชีวิตได้ประมาณ 5% ของกรณีทั้งหมด (Bélanger et al., 2011)

2.1.3. ลักษณะสัณฐานของ *Escherichia coli*

แบคทีเรีย *Escherichia coli (E. coli)* มีรูปร่างเป็นแท่ง และเซลล์หนึ่งหน่วยจะมีขนาดปกติประมาณ 1.5 μm ยาวและกว้าง 0.5 μm เซลล์รูปแท่งประกอบด้วยสองส่วน: มีทรงกระบอกอยู่ตรงกลางและมีฝาปิดที่ปลายทั้งสองข้าง ความยาวของกระบอกสูบสอดคล้องกับความยาวของเซลล์แท่ง ดังที่แสดงดังรูปที่ 2.1 บทความล่าสุดรายงานการควบคุมทางพันธุกรรมของความยาวเซลล์โดย rodz. Rodz เป็นโปรตีนเมมเบรนที่มีโทโพโลยีแบบบิโทปิกที่ประกอบกันอยู่ใต้เยื่อหุ้มเซลล์เพื่อสร้างเส้นใยเกลียวตามแกนด้านข้างของเซลล์ด้วยแอคติน MreB จากแบคทีเรียเส้นใย RodZ อาจมีปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่มีส่วนช่วยในการสังเคราะห์ peptidoglycan เซลล์ที่ไม่มี rodZ จะสั้นลงตามแกนด้านข้างของเซลล์เท่านั้น เพื่อให้เซลล์กลายเป็นทรงกลมแทนที่จะเป็นรูปแท่ง เซลล์ทรงกลมดังกล่าวประกอบด้วยแคปเท่านั้นเนื่องจากสูญเสียกระบอกสูบเกือบทั้งหมด นอกจากนี้การเผาผลาญคาร์บอนยังถูกรบกวนอย่างมากจากการขาด RodZ สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าการขนส่งสารอาหารที่พื้นผิวของทรงกระบอกลดลงในเซลล์กลายพันธุ์ rodZ ดังนั้นสัณฐานวิทยาของเซลล์จึงมีความสำคัญต่อการเผาผลาญที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Shiomi et al., 2009)

รูปที่ 2.1. ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli*

2.1.4. ผลเสียของ *Escherichia coli*

Escherichia coli (E. coli) ก่อโรคทางเดินปัสสาวะซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่ายหลายพันล้านดอลลาร์ทั่วโลกในการรักษาและฆ่ามนุษย์ประมาณ 2 ล้านคนในแต่ละปี บางสายพันธุ์อาจทำให้เกิดมะเร็งได้ การติดเชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อฉวยโอกาส บางสายพันธ์ไม่เป็นอันตราย อาจเป็นประโยชน์เมื่อนำไปใช้กับโฮสต์ที่ป่วยหรือไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายโฮสต์ที่อยู่นอกลำไส้ อย่างไรก็ตาม ยังมีสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคที่ก่อให้เกิดปัจจัยความรุนแรง และอาจก่อให้เกิดการเจ็บป่วยได้แม้กระทั่งในโฮสต์ที่มีสุขภาพดีที่สุด สายพันธุ์เหล่านี้ถูกจำแนกตามสถานที่และวิธีที่ทำให้

เอกสารนี้เป็นสิ่งที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดโรคออกเป็นกลุ่มที่เรียกว่าพยาธิสภาพ ซึ่งรวมถึง enteroaggregative, enterohemorrhagic, enteropathogenic, enterotoxigenic, uropathogenic, meningitis-associated และ septicemic-associated *E. coli* ที่อันตรายที่สุดคือ *E. coli* O157:H7 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เลือดออกในลำไส้ที่สร้างสารพิษ โดยสารพิษนี้มีเป้าหมายเป็นหลอดเลือดขนาดเล็ก ฆ่าเซลล์ในลำไส้ และทำให้เกิดอาการท้องเสียซึ่งอาจมีเลือดปนออกมาด้วยและทำให้เกิดอาการปวดท้องอย่างรุนแรง รวมถึงกลุ่มอาการอาการฮีโมไลติกยูรีมิก (HUS) ภาวะที่อาจเป็นอันตรายถึงชีวิตที่อาจเกี่ยวข้องกับลิ่มเลือดในเส้นเลือดฝอยและโรคโลหิตจางจากการที่เม็ดเลือดแดงแตก ภาวะเกล็ดเลือดต่ำ และภาวะไตวาย การรักษาอาจเป็นเรื่องยากเนื่องจากยาปฏิชีวนะเพิ่มความเสี่ยงของ HUS ผลก็คือการรักษาโดยทั่วไปจะจำกัดอยู่ที่การจัดหาของอาหารเหลวที่มีโภชนาการที่เพียงพอ ยาแก้ปวดและการถ่ายเลือดเมื่อมีความจำเป็น *E. coli* O157:H7 เป็นอันตรายอย่างยิ่งเนื่องจากสามารถปนเปื้อนแหล่งอาหารของมนุษย์ได้ง่าย สามารถอาศัยได้ในโคและในปศุสัตว์อื่นๆ และสามารถถ่ายโอนไปยังมนุษย์ผ่านการปนเปื้อนอุจจาระของเนื้อสัตว์ระหว่างการฆ่าและบรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้ยังสามารถปนเปื้อนผักผ่านทางปุ๋ยและน้ำ และผ่านการสัมผัสกับนกที่เกี่ยวข้องกับสต็อก *E. Coli* O157:H7 ทำให้เกิดการระบาดของการเจ็บป่วยมากมายในสหรัฐอเมริกา การระบาดดังกล่าวส่งผลกระทบต่อผู้คน 63,000 คนต่อปี คร่าชีวิตผู้คนไป 20 ราย และทำให้ต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายด้านการดูแลสุขภาพประมาณ 405 ล้านเหรียญสหรัฐ (Blount, 2015)

2.2. ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะเป็นยาที่ต่อสู้กับการติดเชื้อแบคทีเรียในคนและสัตว์ ทำงานโดยการฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและทำให้เพิ่มจำนวนได้ยาก ตำแหน่งที่เป็นไปได้ของการออกฤทธิ์มีนับไม่ถ้วนสำหรับความเป็นพิษแบบเลือกสรรของยาปฏิชีวนะต่อเซลล์แบคทีเรีย ไม่ใช่ต่อเซลล์เจ้าบ้าน ยาปฏิชีวนะที่มีอยู่มีประสิทธิภาพโดยการยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ โปรตีน RNA DNA หรือกรดโฟลิก ทั้งความเป็นพิษแบบเลือกสรรของยาปฏิชีวนะและการดื้อต่อยาปฏิชีวนะขึ้นอยู่กับบริเวณที่ออกฤทธิ์และการพาไปยังบริเวณที่ออกฤทธิ์ด้วยความเข้มข้นที่เพียงพอ กลไกที่สำคัญในการขนส่งยาปฏิชีวนะผ่านอุปสรรคของแบคทีเรียและคุณลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ที่สำคัญในมนุษย์มีส่วนเกี่ยวข้อง ผลข้างเคียงของยาปฏิชีวนะอาจเป็นผลทางภูมิคุ้มกันหรือไม่ใช่ภูมิคุ้มกัน ผลข้างเคียงที่ไม่ใช่ภูมิคุ้มกันวิทยาของยาปฏิชีวนะไม่ค่อยเกี่ยวข้องกับการเลือกความเป็นพิษแต่มักเป็นผลมาจากผลกระทบทางชีวเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องซึ่งสัมพันธ์กับการกระทำที่ไม่พึงประสงค์อื่นๆ ของยาทั้งหมด ผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ดังกล่าวสามารถหลีกเลี่ยงได้ในการพัฒนายาก็ต่อเมื่อเราเข้าใจพื้นฐานทางชีวเคมี (Lietman, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1. กลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ

กลไกพื้นฐานสามประการของการดื้อยาต้านจุลชีพเชื้อดื้อยา ได้แก่ 1. การย่อยสลายของเอนไซม์ของยาต้านแบคทีเรีย 2 การเปลี่ยนแปลงโปรตีนจากแบคทีเรียที่เป็นเป้าหมายในการต้านจุลชีพ และ 3 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ต่อยาปฏิชีวนะ การดื้อยาปฏิชีวนะอาจเป็นพลาสมิดที่เป็นสื่อกลางหรือคงไว้บนโครโมโซมของแบคทีเรีย กลไกที่สำคัญที่สุดในการต้านทานต่อเพนิซิลลินและเซฟาโลสปอรินคือการไฮโดรไลซิสของยาปฏิชีวนะที่อาศัยเอนไซม์เบต้าแลคตาเมสของแบคทีเรีย การแสดงออกของโครโมโซมเบตา-แลคตาเมสสามารถถูกกระตุ้นหรือกดดันได้อย่างคงที่โดยการสัมผัสกับยาเบต้าแลคตัม วิธีการเอาชนะการดื้อต่อยาปฏิชีวนะเบต้าแลคตัม ได้แก่ การพัฒนายาปฏิชีวนะชนิดใหม่ที่มีความเสถียรต่อการโจมตีของเบต้าแลคตาเมส และการใช้สารยับยั้งเบต้าแลคตาเมสร่วมกับยาเบต้าแลคตัม การต้านทานต่อเมทิซิลลินซึ่งมีความเสถียรต่อเบต้าแลคตาเมสแกรมบวกเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเป้าหมายที่เป็นยาปฏิชีวนะ โปรตีนที่จับกับเพนิซิลิน 2 การผลิตเอนไซม์ดัดแปลงยาปฏิชีวนะและการสังเคราะห์เป้าหมายของแบคทีเรียที่ไม่ไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นกลไกการต้านทานหลัก สำหรับยาปฏิชีวนะประเภทอื่นๆ รวมถึงไตรเมโทพริม ซัลโฟนาไมด์ อะมิโนไกลโคไซด์ คลอแรมเฟนิคอล และยาควิโนโลน การซึมผ่านของยาปฏิชีวนะที่ลดลงยังเป็นกลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายประเภท รวมถึงยาเบต้าแลคตัม อะมิโนไกลโคไซด์ คลอแรมเฟนิคอล และควิโนโลน (Dever & Dermody, 1991)

2.2.2. ข้อมูลยาปฏิชีวนะ

2.2.2.1. Ciprofloxacin

Ciprofloxacin เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม fluoroquinolone ที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและโรคปอดบวม Ciprofloxacin ได้รับการอนุมัติจาก FDA สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ (โรคหนองในและแผลริมอ่อน การติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน กระดูก การติดเชื้อร่วม ต่อมลูกหมากอักเสบ โรคปอดบวม ไข้ไทฟอยด์ การติดเชื้อในทางเดินอาหาร การติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนล่าง โรคแอนแทรกซ์จากการสูดดม โรคระบาดและเชื้อ *Salmonellosis* การกำเริบของแบคทีเรียเฉียบพลันของโรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง ทำให้ทราบว่า *Neisseria gonorrhea* มีอัตราการดื้อยา ciprofloxacin สูง Ciprofloxacin ไม่ควรเป็นวิธีการรักษาเบื้องต้นสำหรับการติดเชื้อทางเดินหายใจ หาก *Streptococcus pneumoniae* เป็นเชื้อก่อโรคที่ใช้ Ciprofloxacin เป็นทางเลือกการรักษาที่เหมาะสมในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแบบผสมหรือผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อแกรมลบ ตามแนวทางของ American Academy of Family Medicine พบว่าต่อมลูกหมากอักเสบจากแบคทีเรียเฉียบพลันสามารถรักษาได้ด้วย Ciprofloxacin นอกจากนี้ยังใช้สำหรับโรคต่อมลูกหมากอักเสบจากแบคทีเรียเรื้อรัง สารละลายจาก Ciprofloxacin ได้รับการอนุมัติจาก FDA สำหรับการรักษาแผลที่กระจกตาและเยื่อบุตาอักเสบที่เกิดจากสายพันธุ์ที่อ่อนแอ สารละลาย Ciprofloxacin ได้รับการอนุมัติสำหรับการรักษาโรคหูน้ำหนวกเฉียบพลันภายนอกที่เกิดจากสายพันธุ์ที่อ่อนแอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ *Pseudomonas aeruginosa* หรือ *Staphylococcus aureus* มีการกำหนดไว้สำหรับการติดเชื้อที่คุกคามถึงชีวิตว่าเป็นการบำบัดรักษาภาวะติดเชื้อเนื่องจากการดื้อยาหลายชนิด การค้นหาการศึกษาแบบสังเกตตามรุ่นและรายงานผู้ป่วยอย่างเป็นระบบ แสดงให้เห็นว่าการตอบสนองทางคลินิกส่วนใหญ่เป็นบวก และไม่มีเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้ายแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเป็นพิษต่อข้อต่อ นอกจากนี้ Ciprofloxacin ยังดึงดูดความสนใจจากชุมชนวิทยาศาสตร์เนื่องจากมีฤทธิ์ในการตายของเซลล์และฤทธิ์ต้านการเจริญของมะเร็งในมะเร็งหลายชนิด โดยขึ้นอยู่กับขนาดและเวลา Ciprofloxacin เป็นยาปฏิชีวนะฆ่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มยา fluoroquinolone ยับยั้งการจำลองแบบ DNA โดยการยับยั้ง DNA topoisomerase และ DNA-gyrase ของแบคทีเรีย ในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน ไซโปรฟลอกซาซินมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบแบคทีเรียแกรมลบได้มากที่สุด (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Enterobacteriaceae เช่น *Escherichia coli*, *Salmonella spp*., *Shigella spp.* และ *Neisseria*) ยังมีประสิทธิผลในการต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด Ciprofloxacin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้มากที่สุดในบรรดา quinolones มีรายงานความไวต่อเชื้อ *P. aeruginosa* (Thai et al., 2023)

2.2.2.2. Rifampicin

Rifampin เป็นสารต้านแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อต้าน cocci ที่เป็นแกรมบวก, Mycobacteria, Clostridium difficle และสิ่งมีชีวิตที่เป็นแกรมลบบางชนิด ได้แก่ *Neisseria meningitides*, *Neisseria gonorrhoeae* และ *Hemophilus influenzae* Rifampin เป็นสารต้านแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์กับ cocci ที่เป็นแกรมบวก, Mycobacteria, *Clostridium difficle* และสิ่งมีชีวิตที่เป็นลบส่วนใหญ่รวมถึง *Neisseria meningitides*, *Neisseria gonorrhoeae* และ *Hemophilus influenzae* ใช้ในการรักษาวัณโรคระยะลุกลามและระยะแฝง (TB) โรคเรื้อน และสำหรับการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกขั้นรุนแรง เช่น โรคกระดูกอักเสบ, เยื่อบุหัวใจอักเสบ, ฝีในสมอง, เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อที่รากฟันเทียม ในทางป้องกันจะใช้เพื่อป้องกันการติดเชื้อวัณโรค ไข้กาฬหลังแอ่นในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง และพาหะของเชื้อ *Hemophilus influenzae* ที่สามารถแพร่เชื้อไปยังเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปีได้ นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในฐานะตัวแทนทางเลือกที่สองสำหรับการรักษาโรคหนองในcholestatic Rifampin เป็นที่รู้จักมากที่สุดว่าเป็นเสาหลักในการรักษาวัณโรคที่ไวต่อยาหลายชนิดซึ่งเกิดจากเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* Rifampin ใช้ยาร่วมกับ Isoniazid, ethambutol, และ pyrazinamide ในช่วงสองเดือนแรก ตามด้วยริแฟมพินและไอโซไนอะซิดเพียงสี่เดือนเท่านั้น ระบบการรักษานี้มีระยะเวลารวม 6 เดือน และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัณโรคได้ถึง 83% Rifampin ผลิตฤทธิ์ต้านจุลชีพจากแบคทีเรียโดยการยับยั้ง RNA polymerase (RNAP) ที่ขึ้นกับ DNA โดยการปิดกั้นเส้นทางของ RNA ที่ยืดออกที่ปลาย 5 ′หรือโดยการลดความสัมพันธ์ของ RNAP สำหรับการถอดเสียง RNA สั้น ๆ มันยับยั้ง RNAP ของจุลินทรีย์โดยเฉพาะ และหยุดการสังเคราะห์ RNA เพิ่มเติม Rifampin ไม่มีผลต่อเอนไซม์ RNAP ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงช่วยลดจำนวนผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นในมนุษย์ ระดับกรดน้ำดีที่เพิ่มขึ้นเป็นสาเหตุหลักสำหรับอาการคันที่เกิดจากโรคcholestatic เช่น โรคตับแข็งทางเดินน้ำดี (PBC) ฤทธิ์ต้านอาการคันของยา rifampin ซึ่งได้รับการอธิบายว่ามี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์มากที่สุดในความผิดปกติของ cholestatic นั้นเกิดขึ้นจากการควบคุมเอนไซม์ microsomal cytochrome P3A (CYP3A) ซึ่งต่อมาทำให้เกิดไฮดรอกซิเลชันของกรดน้ำดี ไฮดรอกซิเลชันของกรดน้ำดีจะช่วยลดการดูดซึมกลับของลำไส้เล็ก ซึ่งจะช่วยบรรเทาอาการคันได้อีกด้วย (Beloor Suresh et al., 2023)

2.2.2.3. Tetracycline

Tetracyclines เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มหนึ่งที่ใช้ในการจัดการและรักษาโรคติดเชื้อต่างๆ เป็นยาที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในกลุ่มนี้คือ tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline, และ demeclocycline สามารถรักษาโรคติดเชื้อริกเก็ตเซียล, โรคเออร์ลิชิโอซิส, อะนาพลาสโมซิส, โรคเลปโตสไปโรซีส, อะมีเบียซิส, แอกติโนมัยโคซิส, โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ โรคแท้งติดต่อ โรคเมลิออยโดซิส ทิวลาเรเมีย การติดเชื้อหนองในเทียม โรคอุ้งเชิงกรานอักเสบ ซิฟิลิส โรคท้องร่วงของผู้เดินทาง โรคไลม์ในระยะเริ่มแรก สิว โรคลีเจียนแนร์ และโรควิปเปิล ครอบคลุมถึง *Borrelia recurrentis*, *Mycobacterium marinum*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (รวมถึง *S. aureus* ที่ทนต่อ methicillin [MRSA]), *Vibrio vulnificus* และ enterococcus ที่ดื้อต่อ vancomycin (VRE) (สายพันธุ์ที่อ่อนแอ) Tetracyclines จะส่งผลการสังเคราะห์โปรตีนเป็นข้อกำหนดที่สำคัญของเซลล์ใดๆ มันเกี่ยวข้องกับการใช้ไรโบโซมซึ่งมีหน้าที่แปลรหัส mRNA ให้เป็นโปรตีนที่ใช้งานได้ ในยูคาริโอต สิ่งนี้เกิดขึ้นกับไรโบโซมที่มีหน่วยย่อย 40S และ 60S ในโปรคาริโอต เช่น แบคทีเรีย การสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นโดยใช้ไรโบโซมที่มีหน่วยย่อย 30S และ 50S ที่ไซต์เหล่านี้ ไรโบโซมถ่ายโอน RNA (tRNA) ซึ่งมีประจุด้วยกรดอะมิโนจับกับเทมเพลต mRNA การจับกันของ tRNA แต่ละตัวที่มีประจุด้วยกรดอะมิโนในเวลาต่อมามีส่วนช่วยในการสร้างและการยืดตัวของโปรตีนในเซลล์ Tetracyclines ยับยั้งหน่วยย่อยไรโบโซม 30S โดยเฉพาะ โดยขัดขวางการจับกันของ aminoacyl-tRNA ไปยังไซต์ตัวรับบน mRNA-ribosome complex เมื่อกระบวนการนี้หยุดลง เซลล์จะไม่สามารถรักษาการทำงานที่เหมาะสมได้อีกต่อไป และจะไม่สามารถเติบโตหรือทำซ้ำได้อีก การด้อยค่าของยา Tetracyclines ประเภทนี้ทำให้เกิด “แบคทีเรีย” มีความกังวลเพิ่มขึ้นเกี่ยวกับสายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ Tetracyclines ได้ ยีนของแบคทีเรียที่ต้านทานต่อ Tetracyclines มักถูกเข้ารหัสบนพลาสมิดหรือองค์ประกอบที่สามารถถ่ายโอนได้ เช่น ทรานสโพซอน มีกลไกการดื้อยาที่ได้รับการบันทึกไว้อย่างดีสองกลไก ซึ่งรวมถึงการเปลี่ยนแปลงในโปรตีนป้องกันไรโบโซมหรือปั๊มไหลออก กลไกเดิมช่วยให้ไรโบโซมดำเนินการสังเคราะห์โปรตีนได้โดยไม่คำนึงถึงระดับของยาในเซลล์ที่สูง กลไกหลังประกอบด้วยปั๊มเมมเบรนประเภทย่อยต่างๆ ที่ขับตัวถูกละลาย (ในกรณีนี้คือสารต้านจุลชีพ) ออกจากเซลล์เพื่อป้องกันการตายของเซลล์ (Shutter & Akhondi, 2023)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.4. Mecillinam

Mecillinam เป็นยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ที่เกี่ยวข้องกับ penicillin แต่มีฤทธิ์มากกว่า ampicillin ต่อเชื้อ *Salmonellae* รวมถึง *Salmonella typhi* ต้องฉีดเมซิลลิแนมทางหลอดเลือดดำ แต่เอสเทอร์ พิฟเมซิลลิแนม จะถูกดูดซึมจากลำไส้ ผู้ป่วยแปดรายที่เป็นไข้ไทฟอยด์และไข้รากสาดเทียมหนึ่งรายได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะและเจ็ดรายตอบสนองอย่างน่าพอใจ ผู้ป่วยรายหนึ่งไม่สามารถทนต่อยา pivmecillinam ได้เนื่องจากการอาเจียน แต่ไม่มีอาการไม่พึงประสงค์อื่นๆ ระดับ mecillinam ในซีรัมและน้ำดีมีความเข้มข้นในการยับยั้งขั้นต่ำสำหรับเชื้อ *Salmonellae* ส่วนใหญ่หลายเท่า ยาปฏิชีวนะเป็นสารเสริมที่มีแนวโน้มในการรักษาโรคไทฟอยด์ (Clarke et al., 1976) Mecillinam มีฤทธิ์ต้าน Enterobacteriaceae หลายชนิดเนื่องจากการคัดเลือกจับกับ PBP 2 แม้ว่าความไวของ *Proteus* และ *Providencia* spp. เป็นตัวแปร *H. influenzae* มีความไวน้อยกว่า bacilli ในลำไส้ และ *Acinetobacter* spp., *B. fragilis* และ *Ps. aeruginosa* มีความทนทาน เบต้า-แลคตาเมสจำนวนมากสามารถยับยั้งการทำงานของมันได้อย่างง่ายดาย แม้ว่าจะมีความเสถียรมากกว่าแอมพิซิลินก็ตาม (Wachi & Nagai, 2001)

2.2.2.5. Ampicillin

Ampicillin เป็นยาปฏิชีวนะ beta-lactam และจัดเป็น aminopenicillins รูปแบบการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพเบต้าแลคตัมต่อสิ่งมีชีวิตที่ละเอียดอ่อนถือได้ว่าเป็นกระบวนการสองขั้นตอน: ในขั้นตอนแรก ยาจะจับกับตัวรับปฐมภูมิที่เรียกว่าโปรตีนที่จับกับเพนิซิลิน (PBP) ที่ยึดกับเมมเบรน โปรตีนเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในวัฏจักรของเซลล์ การก่อตัวของโครงสร้างผนังเซลล์ peptidoglycan ดังนั้นการปิดใช้งาน PBP โดยยาต้านจุลชีพที่ถูกผูกไว้จะส่งผลต่อการทำงานของพวกมันทันที ระยะที่สองประกอบด้วยผลกระทบทางสรีรวิทยาที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างรีเซพเตอร์กับลิแกนด์ PBP เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เพปทิโดไกลแคนในระยะท้ายของผนังเซลล์ เนื่องจากเพปทิโดไกลแคนรักษาความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ซึ่งอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีภาวะไฮโพโทนิก การหยุดชะงักของสารดังกล่าวทำให้เกิดการสลายและการตายของเซลล์สิ่งสำคัญคือต้องรับรู้ว่าแอมพิซิลลินมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียกับแบคทีเรียที่ไวต่อยาเป็นหลัก เนื่องจากการยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ กลไกการดื้อยา: Penicillinase (a β-lactamase) จะแยกวงแหวน beta-lactam และส่งผลให้เกิดความต้านทานต่อ ampicillin ดังนั้นแอมพิซิลลินจึงมักใช้ร่วมกับสารยับยั้ง β-lactamase เช่น sulbactam (Peechakara et al., 2023)

2.2.2.6. Kanamycin

Kanamycin O-3-amino-3-deoxy-α -D-glucopyranosyl-(1⟶ 6)-O-[6-deoxy6-amino-α -D-glucopyranosyl-(1⟶4)]–2-deoxy-D-streptamine แยกได้จากของเหลวเพาะเลี้ยงของ *actinomycete Streptomyces* kanamyceticus ซึ่งผลิตยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ kanamycins A, B และ C Kanamycin A คล้ายคลึงกับ streptomycin และ neomycines และมีฤทธิ์ในวงกว้าง สเปกตรัมของฤทธิ์ต้านจุลชีพ มีฤทธิ์กับจุลินทรีย์แกรมบวกและแกรมลบส่วนใหญ่ ใช้ (*staphylococci, colon bacillus, klebisella, Fridlender's*

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bacillus, proteus, shigella, salmonella) ในการรักษาภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด, เยื่อหุ้มสมองอักเสบ, กระดูกอักเสบ, เยื่อบุช่องท้องอักเสบ, โรคปอดบวม, pyelonephritis, pyelocystitis, บาดแผลที่ติดเชื้อและภาวะแทรกซ้อนหลังการผ่าตัดเป็นหนองที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่ไวต่อยานี้ Kanamycin ใช้รักษาวัณโรคปอดและอวัยวะอื่น ๆ เมื่อมีความต้านทานต่อยาต้านวัณโรคชนิดอื่น (Vardanyan & Hruby, 2006)

2.2.2.7. Colistin

Colistin มีการใช้อย่างแพร่หลายตั้งแต่กลางศตวรรษที่ผ่านมาในสัตว์ต่างๆ โดยเฉพาะในสุกร เพื่อควบคุมการติดเชื้อในลำไส้ ปัจจุบัน Colistin ถือเป็นปราการสุดท้ายในการป้องกันการติดเชื้อในมนุษย์ที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตแกรมลบที่ดื้อยาหลายชนิด เช่น Enterobacterales ซึ่งเป็นผู้ผลิต carbapenemase, *Acinetobacter baumanni* และ *Pseudomonas aeruginosa* มีรายงานการดื้อต่อแบคทีเรียที่ถ่ายโอนได้ เช่น ยีน mcr ในเชื้อที่แยกได้จากทั้งมนุษย์และสัตว์ นักวิจัยกระตือรือร้นแสวงหากลยุทธ์เพื่อลดการดื้อยา Colistin กรดโคลิสติน แอล-ไดอะมิโนบิวทีริกซึ่งมีประจุบวก จับตัวกันด้วยปฏิกิริยาทางไฟฟ้าสถิตกับกลุ่มฟอสเฟตที่มีประจุลบของไขมัน A ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (LPS) ของแบคทีเรียแกรมลบ ไขมันเอมีบทบาทสำคัญในการซึมผ่านของแบคทีเรียและการแลกเปลี่ยนกับภายนอกเซลล์ Colistin จะแทนที่แคตไอออนไดเวเลนต์ของแคลเซียม (Ca_2^+) และแมกนีเซียม (Mg_2^+) ในลักษณะที่สามารถแข่งขันได้ ซึ่งทำให้โครงสร้างสามมิติของ LPS ลดลง จากนั้นโคลิสตินจะสอดสายโซ่ไขมันอะซิลที่ปลายอะซิลที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้เกิดการขยายตัวของชั้นเดียวของเมมเบรนด้านนอก (OM) การซึมผ่านของ OM เกิดขึ้น ทำให้โคลิสตินสามารถผ่าน OM เพื่อส่งเสริมตนเองได้ การทำงานร่วมกันที่แสดงโดยโคลิสตินและยาต้านจุลชีพอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ เช่น บี-แลกทามิกส์, เจนตามิซิน, ไรแฟมพิซิน, เมโรพีเนม และทิจไซคลิน อธิบายได้ด้วยกระบวนการนี้ ฟอสโฟไลปิดไบเลเยอร์ของเยื่อหุ้มชั้นใน (IM) ซึ่งมีอยู่ในแกรมลบเท่านั้น สูญเสียความเสถียร เนื่องจากการกระทำของโคลิสตินโดยรวมกลุ่มที่ชอบน้ำไว้ในสายโซ่กรดไขมันเปลี่ยนแปลงความสมบูรณ์ของมันและนำไปสู่การทำลายของมัน โดยไม่สามารถรักษาไว้ได้ ปริมาณเซลล์นำไปสู่การสลายเซลล์ โคลิสตินซึ่งจับกับไขมัน A ยังออกฤทธิ์ต้านเอนโดทอกซินอีกด้วย ป้องกันการชักนำให้เกิดอาการช็อกจากเอนโดทอกซิน โคลิสตินช่วยละลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ส่งผลให้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Andrade et al., 2020)

2.2.2.8. Cerulenin

Cerulenin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่มีโครงสร้างเป็น (2R)(3S)-2,3-epoxy-4-oxo-7,10-dodecadienoylamide ยับยั้งการทำงานของกรดไขมันสังเคราะห์ของยีสต์อย่างถาวร จากกิจกรรมการเร่งปฏิกิริยาทั้งหมดของซินเทเตส เฉพาะปฏิกิริยาการควบแน่นเท่านั้นที่ถูกยับยั้งโดยเซรูเลนิน ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส และ pH 6.5 ค่าคงที่อัตราอันดับสองของ k = 88 M-1 ได้รับ S-1 สำหรับการยับยั้งโดย Cerulenin ค่านี้มากกว่าค่าคงที่อัตราสำหรับการยับยั้งเอนไซม์ด้วยไอโอโดอะเซทาไมด์ประมาณ 90 เท่า เอนไซม์ได้รับการปกป้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการกระทำของเซรูเลนินโดยการบำบัดด้วยอะซิติล-โคเอก่อน แต่ไม่ใช่มาโลนิล-โคเอ การบำบัดเอนไซม์ด้วย iodoacetamide ในขณะที่ทำให้กิจกรรมการสังเคราะห์ลดลง ทำให้เกิดกิจกรรม decarboxylase ของ malonyl-CoA Cerulenin ไม่มีผลต่อการทำงานของ malonyl-CoA decarboxylase ของเอนไซม์ที่ได้รับ iodoacetamide ในทางตรงกันข้าม N-Ethylmaleimide ยับยั้งการทำงานของ malonyl-CoA decarboxylase ที่เกิดจาก iodoacetamide เมื่อเอนไซม์ถูกบ่มล่วงหน้าด้วยเซรูเลนิน จะตรวจไม่พบฤทธิ์ของดีคาร์บอกซิเลสของ malonyl-CoA แม้หลังจากบำบัดเอนไซม์ด้วยไอโอโดอะเซทาไมด์แล้วก็ตาม ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าปฏิกิริยาของเซรูเลนินกับกลุ่ม SH ส่วนปลายของซินเทเทสมีหน้าที่ในการยับยั้ง (Kawaguchi et al., 1982)

2.3. Minimum inhibitory concentrations (MIC)

Minimum inhibitory concentrations (MICs) หมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่จะยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ที่มองเห็นได้หลังจากการฟักตัวข้ามคืน ห้องปฏิบัติการวินิจฉัยมักใช้ MIC เพื่อยืนยันการดื้อยาเป็นหลัก แต่ส่วนใหญ่มักใช้เป็นเครื่องมือในการวิจัยเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ภายนอกร่างกายของยาต้านจุลชีพชนิดใหม่ และข้อมูลจากการศึกษาดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้เพื่อกำหนดค่าของ MIC วิธีการมาตรฐานในการกำหนด MIC มีอธิบายไว้ในบทความนี้ เช่นเดียวกับขั้นตอนมาตรฐานทั้งหมด ผู้ใช้จะต้องปฏิบัติตามวิธีการดังกล่าวและไม่สามารถปรับเปลี่ยนได้โดยผู้ใช้ วิธีการให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเก็บรักษาผงยาปฏิชีวนะมาตรฐาน การเตรียมสารละลายยาปฏิชีวนะ อาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมหัวเชื้อ สภาวะการฟักตัว การอ่านและการตีความผล ตารางที่ให้ช่วง MIC ที่คาดหวังสำหรับการควบคุมสายพันธุ์ NCTC และ ATCC ก็มีให้มาด้วย (Andrews, 2001)

2.3.1. ทดสอบค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC)

วิธีการเจือจาง EUCAST แนะนำให้เจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นส่วนใหญ่ ยกเว้นฟอสโฟมัยซินและเมซิลลิแนมซึ่งแนะนำให้เจือจางด้วยวุ้น ยอมรับว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและวุ้นเจือจาง สำหรับแบคทีเรียและยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่สามารถใช้แทนกันได้ Minimum inhibitory concentrations (MIC) สามารถกำหนดได้โดยการเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อและฟอสโฟมัยซินเท่านั้น สามารถวัด MIC ได้โดยใช้วิธีการเจือจางวุ้น ไม่ว่าจะอยู่ในรูปของวุ้น (MHA) หรืออาหารเลี้ยงเชื้อ (MHB) ในบางกรณีจะเสริมด้วย เช่น เลือดม้า lysed 5% หรือสารประกอบอื่นๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียหรือยาปฏิชีวนะ เฉพาะแบคทีเรียไร้ออกซิเจน ในการหาค่า MIC โดยวิธีการเจือจาง จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะในสารที่ต้องมีการละลายเบื้องต้นเพื่อให้ได้สารละลายสต๊อก จากนั้นจึงเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสม สำหรับยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ น้ำเป็นทั้งตัวทำละลายและตัวเจือจาง รวมถึงเบต้าแลคตัม ฟลูออโรควิโนโลน และอะมิโนไกลโคไซด์ส่วนใหญ่ บางชนิดต้องใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเฉพาะแมคโครไลด์ คลอแรมเฟนิคอล และไรแฟมพิซิน ในขณะที่บางชนิดต้องการบัฟเฟอร์ฟอสเฟตหรือไดเมทิลซัลฟอกไซด์ DMSO ยาปฏิชีวนะที่ละลายและเจือจางจะใช้ในการทำสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือวุ้น สารละลายที่ใช้ได้ผลควรมีการเจือจางยาปฏิชีวนะเป็นสองเท่า โดยมีช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบขึ้นอยู่กับยาที่เกี่ยวข้อง และควรคำนึงถึงจุดอ้างอิง MIC สำหรับสายพันธุ์อ้างอิง ควรเจือจางยาปฏิชีวนะสองครั้งในภายหลัง โดยใช้รูปแบบที่มีอยู่ในเอกสารและเสนอโดย EUCAST ในวิธีการเจือจางน้ำซุปแบบ microdilution สารละลายที่เตรียมไว้พร้อมยาปฏิชีวนะเจือจางสองเท่าจะถูกกระจายลงในหลุมที่เหมาะสมของแผ่น microtiter และในรูปแบบนี้สามารถนำมาใช้โดยตรงในการตรวจวัด MIC หรือเก็บไว้ในถุงพลาสติกได้นานถึงสามเดือนที่อุณหภูมิ ≤ −60 °C Tigecycline เป็นข้อยกเว้นที่การทดสอบ MIC ควรทำภายใน 12 ชั่วโมงหลังจากการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB เนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไป ตัวกลางจะสะสมออกซิเจน ซึ่งจะลดการทำงานของ tigecycline ในวิธีการเจือจางวุ้น ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ได้รับแต่ละความเข้มข้นในปริมาตร 1 ml จะถูกเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่เป็นของเหลวจำนวน 19 ml ที่อุณหภูมิ 45–50 °C และเทลงบนจานเพาะเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm หัวเชื้อแบคทีเรียควรเตรียมสารแขวนลอยของแบคทีเรียจากโคโลนีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน เพาะเลี้ยงข้ามคืนบนอาหารแข็งหรือของเหลวที่ไม่ผ่านการคัดเลือก หัวเชื้อที่จะรักษาด้วยการเจือจางยาปฏิชีวนะในภายหลังควรมีค่าสุดท้ายดังต่อไปนี้ในวิธีการที่เกี่ยวข้อง:วิธีเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเล็ก 5×10^5 CFU/ml จากนั้นเทลงในบ่อที่มีความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรเติมหัวเชื้อลงในอาหารเหลวหรือวางบนอาหารแข็งที่มียาปฏิชีวนะเพื่อรักษาความหนาแน่นของเซลล์ (CFU/ml) การทดสอบควรบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง หัวเชื้อแบคทีเรียควรได้รับการควบคุมเนื่องจากมีผลกระทบสำคัญต่อความน่าเชื่อถือของการทดสอบ MIC โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 nm ควรอยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.08 ถึง 0.13 เมื่อใช้การเจือจางอาหารปริมาณน้อย ควรเก็บตัวอย่าง 10 µl จากช่องควบคุมการเจริญเติบโตและเติมอาหารเลี้ยงเชื้อหรือเกลือ 10 ml จากนั้นจึงใส่ 100 µl จากการเจือจางดังกล่าว การควบคุมคุณภาพจำเป็นต้องดำเนินการโดยการควบคุมความเป็นหมันปานกลาง การเจริญเติบโตของสายพันธุ์ และคุณภาพของผลลัพธ์ที่ได้รับโดยการประเมิน MIC ของยาปฏิชีวนะที่ทดสอบสำหรับสายพันธุ์อ้างอิง ค่า MIC ที่ได้รับสำหรับสายพันธุ์อ้างอิงควรอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่แนะนำโดย EUCAST และ CLSI การอ่านผลลัพธ์ ค่า MIC คือความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์ ในวิธีการเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด การอ่านค่า MIC ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโต ≥ 80% เมื่อเปรียบเทียบกับการควบคุมการเจริญเติบโต เพื่ออำนวยความสะดวกในการอ่านค่าในวิธีเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อแบบไมโคร สามารถใช้เรซาซูริน (สีย้อมสีน้ำเงินเรืองแสงอ่อน) ซึ่งแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์รีดิวซ์ไปเป็นรีโซรูฟินเรืองแสง (สีชมพู) การทดสอบที่ไม่พบการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะต่ำและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มองเห็นได้นั้นจะต้องทำซ้ำที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้น อาจมีสาเหตุหลายประการ รวมถึงข้อผิดพลาดทางเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับ เช่น การเจือจางยาปฏิชีวนะที่ไม่เหมาะสม เป็นต้น (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4. *Escherichia coli (E. coli)* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะ

เนื่องจากเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) มักอาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น จึงต้องเผชิญกับยาปฏิชีวนะบ่อยครั้ง โดยมีความกดดันในการคัดเลือกสูง ซึ่งนำไปสู่การดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่โฮสต์ของมันบริโภค สิ่งนี้นำไปสู่สมมติฐานที่ว่ารูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* จากโฮสต์ที่แตกต่างกันสามารถใช้เพื่อติดตามต้นกำเนิดของโฮสต์ แม้ว่าวิธีการนี้จะแสดงให้เห็นว่าไม่มีประโยชน์ตามจุดประสงค์ที่ตั้งใจไว้ในเวลาต่อมา แต่กลุ่มสายวิวัฒนาการของเชื้อ *E. coli* ที่เฉพาะเจาะจงก็แสดงให้เห็นว่ามีระดับความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกันโดยไม่คำนึงถึงการได้รับความต้านทาน ซึ่งบ่งชี้ว่าภูมิหลังทางพันธุกรรมของ *E. coli* ยังส่งผลต่อวิธีการนี้ด้วย รูปแบบการดื้อยาปฏิชีวนะ สภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ เช่น น้ำ ดิน และโรงบำบัดน้ำเสีย ได้รับการพิจารณาว่าเป็นเครื่องปฏิกรณ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย ซึ่งการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมเชิงรุกเกิดขึ้นเป็นประจำระหว่างแบคทีเรียต่างๆ คล้ายคลึงกับที่เกิดขึ้นในลำไส้ของโฮสต์ ยีนที่เข้ารหัสการดื้อยาปฏิชีวนะมักเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางพันธุกรรมที่เคลื่อนที่ได้ เช่น พลาสมิดและทรานส์โพซัน ซึ่งสามารถแลกเปลี่ยนระหว่างแบคทีเรียที่อยู่ในสายเลือดสายวิวัฒนาการที่แตกต่างกัน การศึกษาก่อนหน้านี้จำนวนมากรายงานเชื้อ *E. coli* ที่ดื้อยาหลายชนิดที่พบในสิ่งแวดล้อม ซึ่งบ่งชี้ถึงความเสี่ยงด้านสาธารณสุขที่อาจเกิดขึ้นจากกิจกรรมของมนุษย์ (Jang et al., 2017)

2.5. กล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แสงส่องสว่างจะถูกส่งผ่านตัวอย่างอย่างสม่ำเสมอเท่าที่จะเป็นไปได้ในขอบเขตการมองเห็น สำหรับตัวอย่างที่มีความหนามากขึ้น โดยที่เลนส์ใกล้วัตถุมีระยะโฟกัสไม่เพียงพอ แสงจากระนาบตัวอย่างด้านบนและด้านล่างระนาบโฟกัสก็จะถูกตรวจจับเช่นกัน แสงที่อยู่นอกโฟกัสจะทำให้ได้ภาพเบลอส่งผลให้ความละเอียดลดลง ในกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ โมเลกุลของสีย้อมใดๆ ในขอบเขตการมองเห็นจะถูกกระตุ้น รวมถึงโมเลกุลที่อยู่ในระนาบที่อยู่นอกระยะโฟกัสด้วย กล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลเป็นวิธีการปฏิเสธแสงที่อยู่นอกโฟกัสจากเครื่องตรวจจับ เพื่อไม่ให้ภาพที่กำลังรวบรวมเบลอ แสงที่อยู่นอกโฟกัสจะทำให้ภาพเบลอส่งผลให้ความละเอียดลดลง ในกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ โมเลกุลของสีย้อมใดๆ ในขอบเขตการมองเห็นจะถูกกระตุ้น รวมถึงโมเลกุลที่อยู่ในระนาบที่อยู่นอกโฟกัสด้วย กล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลเป็นวิธีการปฏิเสธแสงที่อยู่นอกโฟกัสจากเครื่องตรวจจับ เพื่อไม่ให้ภาพที่กำลังรวบรวมเบลอ เทคนิคนี้ช่วยให้สามารถถ่ายภาพความละเอียดสูงในเนื้อเยื่อหนาได้ ในกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอล ระบบส่องสว่างและการตรวจจับจะโฟกัสไปที่จุดที่จำกัดการเลี้ยวเบนเดียวกันในตัวอย่าง ซึ่งเป็นจุดเดียวที่เครื่องตรวจจับถ่ายภาพได้ในระหว่างการสแกนคอนโฟคอลเพื่อสร้างภาพที่สมบูรณ์ จะต้องย้ายจุดไปเหนือตัวอย่างและข้อมูลที่รวบรวมทีละจุด ข้อได้เปรียบที่สำคัญของกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลคือการแบ่งส่วนแสง ซึ่งช่วยให้สามารถสร้างตัวอย่าง 3 มิติขึ้นใหม่จากสแต็กภาพที่มีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละเอียดสูง กล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลหลายประเภทได้รับการพัฒนาเพื่อจุดประสงค์นี้ และแต่ละอย่างมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน (Elliott, 2020)

2.6. Bacterial cytological profiling (BCP)

การระบุกลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบต้านเชื้อแบคทีเรียถือเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการทำความเข้าใจว่าแบคทีเรียมีปฏิกิริยาต่อกันและกับเซลล์ประเภทอื่นอย่างไร สำหรับความพยายามในการค้นพบยาปฏิชีวนะ การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบยังคงเป็นความท้าทายที่สำคัญซึ่งจำกัดทั้งการวิจัยขั้นพื้นฐานและโครงการค้นพบสารต้านแบคทีเรีย ในการศึกษานี้เราแสดงให้เห็นว่าการทำ Bacterial cytological profiling (BCP) เป็นวิธีการที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการระบุเส้นทางของเซลล์ที่ได้รับผลกระทบจากโมเลกุลต้านเชื้อแบคทีเรีย BCP สามารถแยกแยะระหว่างสารยับยั้งที่ส่งผลต่อวิถีเซลล์ที่แตกต่างกันและเป้าหมายที่แตกต่างกันภายในวิถีเดียวกัน เราใช้ BCP เพื่อแสดงให้เห็นว่า spirohexenolide A ซึ่งเป็น spirotetronate ที่ออกฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อ methicillin สามารถสลายแรงกระตุ้นของโปรตอนได้อย่างรวดเร็ว BCP นำเสนอการทดสอบง่ายๆ ในขั้นตอนเดียวที่สามารถนำไปใช้ในวงกว้างได้ โดยช่วยแก้ปัญหาที่มีมายาวนานในการกำหนดเป้าหมายเซลล์ของสารประกอบหลายพันชนิดอย่างรวดเร็ว (Nonejuie et al., 2013)

2.7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Htoo et al., 2019 ได้ทำการศึกษามีรายงานการติดเชื้อ *Acinetobacter baumannii* (MDR-AB) ที่ดื้อยาหลายขนานเพิ่มขึ้นทั่วโลก เป็นภัยคุกคามต่อสุขภาพของประชาชน การสร้างวิธีการเพื่ออธิบายกลไกการออกฤทธิ์ (MOA) ของยาปฏิชีวนะที่จำเพาะต่อเชื้อ *A. baumannii* จึงสิ่งจำเป็นในการพัฒนาวิธีการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพแบบใหม่ที่มีฤทธิ์ต้าน MDR-AB (เชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายขนาน) ก่อนหน้านี้เราได้พัฒนาการทำโปรไฟล์เซลล์วิทยาของแบคทีเรีย (BCP) เพื่อทำความเข้าใจ MOA ของสารประกอบใน *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* เมื่อพิจารณาว่า *A. baumannii* มีความเกี่ยวข้องอย่างไรกับสปีชีส์เหล่านี้ มันไม่ชัดเจนว่าจะนำไปใช้ในระดับใด ในที่นี่ เราใช้ BCP เป็นแพลตฟอร์มการค้นพบ MOA ของยาปฏิชีวนะสำหรับ *A. baumannii* เราพบว่าแพลตฟอร์ม BCP สามารถแยกความแตกต่างระหว่างยาปฏิชีวนะหลักๆหกประเภท และยังสามารถแยกย่อยยาปฏิชีวนะที่ยับยั้งวิถีเซลล์เดียวกันแต่มีเป้าหมายระดับโมเลกุลต่างกัน เราใช้ BCP เพื่อแสดงว่าสารประกอบ NSC145612 ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. baumannii* ผ่านการกำหนดเป้าหมายการถอดรหัส RNA เรายืนยันผลลัพธ์นี้โดยแยกและจำแนกลักษณะการกลายพันธุ์ที่ดื้อยาด้วยการกลายพันธุ์ในยีน rpoB สรุปได้ว่า BCP เป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์สำหรับการศึกษา MOA เกี่ยวกับสารต้านแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อ *A. baumannii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nonejuie et al., 2013 ได้ศึกษาเกี่ยวกับการระบุกลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านแบคทีเรียเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการทำความเข้าใจว่าแบคทีเรียมีปฏิกิริยาต่อกันอย่างไรและกับเซลล์ชนิดอื่นๆ สำหรับความพยายามในการค้นพบยาปฏิชีวนะ แต่การพิจารณากลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบยังคงเป็นความท้าทายอย่างยิ่งที่จำกัดทั้งการวิจัยขั้นพื้นฐานและโปรแกรมการค้นพบสารต้านแบคทีเรีย ที่นี่เราแสดงให้เห็นว่าการทำโปรไฟล์ทางเซลล์วิทยาของแบคทีเรีย (BCP) เป็นวิธีการที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการระบุเส้นทางของเซลล์ที่ได้รับผลกระทบจากโมเลกุลต้านแบคทีเรีย BCP สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสารยับยั้งที่ส่งผลต่อวิถีของเซลล์ต่างๆ รวมถึงเป้าหมายที่แตกต่างกันภายในวิถีทางเดียวกัน เราใช้ BCP เพื่อแสดงให้เห็นว่าสไปโรเฮกเซโนไลด์ A ซึ่งเป็นสไปโรเทโทรเนตที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อเมธิซิลลินสลายแรงเคลื่อนของโปรตอนอย่างรวดเร็ว BCP นำเสนอการทดสอบแบบขั้นตอนเดียวที่เรียบง่ายซึ่งสามารถนำไปใช้ในวงกว้างได้ การแก้ปัญหาที่มีมาอย่างยาวนานของวิธีการระบุเป้าหมายระดับเซลล์ของสารประกอบนับพันอย่างรวดเร็ว

Nonejuie et al., 2016 การระบุกลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบต้านเชื้อแบคทีเรียถือเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการทำความเข้าใจว่าแบคทีเรียมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างกันและกับเซลล์ประเภทอื่นอย่างไร และสำหรับความพยายามในการค้นพบยาปฏิชีวนะ แต่การกำหนดกลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบยังคงเป็นความท้าทายร้ายแรงที่จำกัดทั้งการวิจัยขั้นพื้นฐานและการค้นพบสารต้านแบคทีเรีย โปรแกรม ที่นี่เราแสดงให้เห็นว่าการทำโปรไฟล์ทางเซลล์วิทยาของแบคทีเรีย (BCP) เป็นวิธีการที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการระบุเส้นทางของเซลล์ที่ได้รับผลกระทบจากโมเลกุลต้านเชื้อแบคทีเรีย BCP สามารถแยกแยะระหว่างสารยับยั้งที่ส่งผลต่อวิถีเซลล์ที่แตกต่างกันและเป้าหมายที่แตกต่างกันภายในวิถีเดียวกัน เราใช้ BCP เพื่อแสดงให้เห็นว่า spirohexenolide A ซึ่งเป็น spirotetronate ที่ออกฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อ methicillin จะทำให้แรงกระตุ้นของโปรตอนยุบลงอย่างรวดเร็ว BCP นำเสนอการทดสอบง่ายๆ ในขั้นตอนเดียวที่สามารถนำไปใช้ในวงกว้างได้ เพื่อช่วยแก้ปัญหาที่มีมายาวนานในการกำหนดเป้าหมายเซลล์ของสารประกอบหลายพันชนิดอย่างรวดเร็ว

Pauter et al., 2020 ยาปฏิชีวนะเป็นสารธรรมชาติในขั้นต้น ปัจจุบันมีการผลิตยาสังเคราะห์ที่แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของพวกมันด้วย ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ ยาปฏิชีวนะหลายชนิดจึงสามารถนำไปใช้ได้จริงอย่างรวดเร็วในการต่อสู้กับโรคติดเชื้อ เช่น วัณโรค ซิฟิลิส การติดเชื้อในทางเดินอาหาร โรคปอดบวม หลอดลมอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และภาวะโลหิตเป็นพิษ การดื้อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาที่เป็นอันตรายในปัจจุบัน ดังนั้นนอกเหนือจากการปรับปรุงการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะแล้ว ควรให้ความสนใจกับสารออกฤทธิ์ในร่างกายด้วย ซึ่งอาจมีบทบาทสำคัญในการทำให้ปัญหาที่มีอยู่รุนแรงขึ้น เมื่อพิจารณาถึงวัตถุประสงค์ทางคลินิก ความรู้ความเข้าใจ และการวินิจฉัยของการเฝ้าระวังยา การเลือกวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมที่ตรงตามข้อกำหนดทั้งหมดจึงเป็นสิ่งสำคัญ การตรวจหาและระบุจุลินทรีย์ที่รับผิดชอบต่อการติดเชื้อก็เป็นปัจจัยสำคัญในการดำเนินการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะอย่างเหมาะสม ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางคลินิกได้ประสบกับการเปลี่ยนแปลงครั้งใหญ่ในวิธีการระบุจุลินทรีย์ เทคนิค MALDI-TOF MS อาจน่าสนใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบางพื้นที่ที่จำเป็นต้องมีการวิเคราะห์อย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกับในกรณีของจุลชีววิทยาทางคลินิก วิธีการนี้ไม่ได้กำหนดเป้าหมาย ซึ่งหมายความว่าไม่จำเป็นต้องมีความรู้ล่วงหน้าเกี่ยวกับเชื้อโรค เนื่องจากการระบุตัวตนจะขึ้นอยู่กับการจับคู่ฐานข้อมูล

Mueller & Tainter, 2023 *Escherichia coli* (*E. coli*) เป็นบาซิลลัสแกรมลบที่เป็นสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงหลายชนิด รวมถึงอาการท้องร่วงและโรคบิดของนักเดินทาง *E. coli* เป็นเชื้อโรคที่พบบ่อยที่สุดที่นำไปสู่โรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบที่ไม่ซับซ้อน และส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วยภายนอกลำไส้อื่นๆ รวมถึงโรคปอดบวม แบคทีเรียในเลือด และการติดเชื้อในช่องท้อง เช่น เยื่อบุช่องท้องอักเสบจากแบคทีเรียที่เกิดขึ้นเอง การเจ็บป่วยที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* ถือเป็นภาระสำคัญต่อผู้ป่วยและระบบการรักษาพยาบาล ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการรับรู้และการรักษาที่เหมาะสมโดยทันท่วงที กิจกรรมนี้จะทบทวนเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ก่อให้เกิดความเจ็บป่วยในมนุษย์ และอธิบายวิธีการระบุและรักษาโรคเหล่านี้ และเน้นย้ำถึงบทบาทของทีมงานระหว่างมืออาชีพในการดูแลผู้ป่วยที่มีอาการนี้

Adamus-Białek et al., 2019 การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะและผลที่ตามมาในด้านแบคทีเรียและมนุษย์ได้รับการตรวจสอบอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตาม การเกิดขึ้นของแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดยังคงเป็นปัญหาในปัจจุบัน ขอบเขตของงานของเรารวมถึงการสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *Escherichia coli* ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินปัสสาวะหลังการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าการยับยั้ง สายพันธุ์ที่ละเอียดอ่อนที่มีหรือไม่มีปัจจัยความรุนแรงถูกบ่มด้วย amoxicillin, ciprofloxacin, gentamycin หรือ tobramycin หลังจากแต่ละตอนอนุพันธ์ของเชื้อ *E. coli* จะถูกเปรียบเทียบกับชนิดพันธุ์ wild โดยพิจารณาจากโปรไฟล์ความไวต่อยา ยีนของความรุนแรง การก่อตัวของฟิล์มชีวะ และโปรไฟล์ลายนิ้วมือของผลิตภัณฑ์ PCR ที่ขยายโดยใช้ไพรเมอร์ (N) และ(CGG) ปรากฏว่ายาปฏิชีวนะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในความรุนแรงของแบคทีเรียและการสร้างฟิล์มชีวะ ซึ่งสอดคล้องกับการต้านทานข้ามที่ได้รับ การเปลี่ยนแปลงจีโนมของแบคทีเรียที่ศึกษาสะท้อนให้เห็นในโปรไฟล์ที่เปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ CGG-PCR โดยสรุป การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมอาจทำให้สายพันธุ์ Multidrug Resistance (MDR) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และทำให้แบคทีเรียมีโอกาสปรับสภาพการเกิดโรคของตนเองได้ ปรากฏการณ์นี้สังเกตได้ง่ายในเชื้อ *E. coli* ที่เกิดจากเชื้อ uropathogenic และเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของการติดเชื้อซ้ำในทางเดินปัสสาวะ

Revitt-Mills et al., 2022 ข้อบกพร่องในการซ่อมแซมการแตกหักของ DNA แบบเกลียวคู่ทำให้ *Escherichia coli* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมีความไวต่อยาปฏิชีวนะฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ในการศึกษาปัจจุบันเราระบุการซ่อมแซมการแตกหักของดีเอ็นเอแบบเกลียวคู่ของแบคทีเรียเป็นเป้าหมายที่มีแนวโน้มสำหรับการพัฒนาการบำบัดร่วมที่ทำลายการดื้อยา เราตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของ *E. coli* ที่รวมปัจจัยการดื้อยาปฏิชีวนะเข้ากับข้อบกพร่องในการซ่อมแซม DNA เราสังเกตว่าข้อบกพร่องในเส้นทางการซ่อมแซมการแตกหักแบบสองชั้นนำไปสู่การเกิดอาการแพ้อย่างมีนัยสำคัญต่อยาปฏิชีวนะฆ่าเชื้อแบคทีเรียห้าชนิดซึ่งเป็นตัวแทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของประเภทการทำงานที่แตกต่างกัน ผลกระทบมีตั้งแต่การทำให้เกิดอาการแพ้บางส่วนจนถึงทั้งหมด สำหรับ ciprofloxacin และ nitrofurantoin อาการแพ้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของการยับยั้งขั้นต่ำลดลง สำหรับคานามัยซินและไตรเมโทพริม ความไวจะแสดงออกมาผ่านอัตราการฆ่าที่เพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะสูง สำหรับแอมพิซิลลิน การซ่อมแซมข้อบกพร่องจะลดความทนทานต่อยาปฏิชีวนะลงอย่างมาก Ciprofloxacin, nitrofurantoin และ trimethoprim กระตุ้นให้เกิดการตอบสนอง SOS ที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ การหยุดชะงักของการซ่อมแซมการแตกหักแบบเกลียวคู่ทำให้การเหนี่ยวนำของ SOS ด้วยยาปฏิชีวนะเหล่านี้ลดลงอย่างมาก การค้นพบของเราชี้ให้เห็นว่าหากสามารถพัฒนาสารยับยั้งการซ่อมแซมการแตกหักได้ พวกมันสามารถกระตุ้นแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะให้มีความไวต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่หลายประเภท และอาจระงับการพัฒนาของการกลายพันธุ์ที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะของเดอโนโว

French et al., 2017 การก่อกวนกระบวนการเซลล์เป็นแนวทางทั่วไปในการทำความเข้าใจชีววิทยา เพื่อให้เข้าใจชีววิทยาที่ซับซ้อนซึ่งกำหนดรูปร่างของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น จึงได้มีการพัฒนาแพลตฟอร์มที่มีความละเอียดอ่อนและมีเนื้อหาสูงเพื่อตรวจจับฟีโนไทป์ที่มีข้อบกพร่องทางสัณฐานวิทยาหลายรายการโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ เราตรวจสอบฟีโนไทป์ทางสัณฐานวิทยาในคอลเลกชันการลบ *Escherichia coli* K-12 (Keio) ที่ระยะการเติบโตแบบเอ็กซ์โพเนนเชียลระดับกลาง ซึ่งเผยให้เห็นการลบ 111 ครั้งซึ่งรบกวนรูปร่าง สิ่งที่น่าสนใจคือ 64% ของสิ่งเหล่านี้เป็นการกลายพันธุ์ที่ไม่เคยมีมาก่อน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงลักษณะที่ซับซ้อนของการบำรุงรักษารูปร่างและการควบคุมในแบคทีเรีย เพื่อให้เข้าใจถึงบทบาทของยีนเหล่านี้ ให้มีบทบาทในการกำหนดสัณฐานวิทยา โดยผสมข้ามสายพันธุ์กลายพันธุ์ 53 สายพันธุ์ที่มีการน็อคเอาต์ซึ่งส่งผลให้รูปร่างของเซลล์ผิดปกติกับคอลเลกชัน Keio ในปริมาณงานสูง ทำให้เกิดปฏิกิริยาสังเคราะห์ที่ทำให้ถึงตายได้ 1,373 รายการจากการกลายพันธุ์แบบ double deletion 1.7 ล้านครั้ง การวิเคราะห์นี้ให้ผลเครือข่ายอันตรกิริยาที่มีประชากรสูงซึ่งครอบคลุมและเชื่อมโยงฟีโนไทป์หลายอัน โดยมีความเหนือกว่าอันตรกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการขนส่ง การลดการเกิดออกซิเดชัน และกระบวนการเมแทบอลิซึม

Santajit & Indrawattana, 2016 เชื้อก่อโรค ESKAPE (สายพันธุ์ *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterobacter*) เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาลทั่วโลก ส่วนใหญ่เป็นเชื้อไอโซเลทที่ดื้อต่อยาหลายชนิด ซึ่งเป็นหนึ่งในความท้าทายที่ยิ่งใหญ่ที่สุดในการปฏิบัติงานทางคลินิก การดื้อยาหลายขนานเป็นหนึ่งในสามภัยคุกคามต่อสุขภาพของประชาชนทั่วโลก และมักเกิดจากการเสพยามากเกินไปหรือการสั่งยา การใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสม และการใช้ยาที่ไม่ได้มาตรฐาน การทำความเข้าใจกลไกการต้านทานของแบคทีเรียเหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาสารต้านจุลชีพชนิดใหม่หรือเครื่องมือทางเลือกอื่น ๆ เพื่อต่อสู้กับความท้าทายด้านสาธารณสุขเหล่านี้ ความเข้าใจด้านกลไกที่มากขึ้นจะช่วยในการทำนายกลไกการดื้อยาที่ซ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่หรือไม่ทราบ ซึ่งสามารถนำไปใช้กับเชื้อโรคที่ดื้อยาหลายชนิดที่เกิดขึ้นใหม่ได้ เราจนสรุปกลไกการดื้อยาต้านจุลชีพที่ทราบของเชื้อโรค ESKAPE

Elliott, 2020 นิวเคลียสของสิ่งมีชีวิตและเซลล์คงที่ OsO_4 หรือกลูตาราลดีไฮด์ของสายพันธุ์ *Escherichia coli* ได้รับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์คอนทราสต์เฟส กล้องจุลทรรศน์แสงสแกนคอนโฟคอล และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของภาพที่ได้รับด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสแกนคอนโฟคอลโดยเปรียบเทียบกับไมโครกราฟคอนทราสต์เฟสและการสร้างใหม่โดยใช้วัสดุที่แบ่งส่วนตามลำดับของเซลล์ที่มี DNA และเซลล์ที่ไม่มี DNA การเปรียบเทียบนี้แสดงความละเอียดสูงกว่าของกล้องจุลทรรศน์แสงสแกนคอนโฟคอลเมื่อเปรียบเทียบกับกล้องจุลทรรศน์คอนทราสต์เฟส และสอดคล้องกับผลลัพธ์ที่ได้รับด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การศึกษาผลของการตรึงต่อโครงสร้างของนิวเคลียสใน *E. coli* B/r H266 ภาพไมโครกราฟแสงสแกนคอนโฟคอลและการสร้างใหม่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงให้เห็นว่ารูปร่างของนิวเคลียสยังคงเหมือนเดิมหลังจากการตรึง OsO_4 หรือการตรึงกลูตาราลดีไฮด์ อย่างไรก็ตามนิวครอยด์ OsO_4 ดูเหมือนจะมีขนาดเล็กกว่าและรวมศูนย์ภายในเซลล์มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานสหกิจศึกษา

3.1. เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1. เชื้อ *Escherichia coli* TS008 (*E. coli* TS008): (สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล)

3.2. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1.1. Luria-Bertani broth (LB)

3.2.1.2. Luria-Bertani agar (LBA)

3.2.2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.2.1. Light microscope

3.2.2.2. Spectrophotometer

3.2.2.3. Roller

3.2.2.4. Vortex Mixer

3.2.2.5. Pipette 5 ml

3.2.2.6. Pipette 10 ml

3.2.2.7. Tube

3.2.2.8. 96 well plate

3.2.2.9. Liquid reservoir

3.2.2.10. Auto Pipette

3.2.2.11. กระดาษเช็ดเลนส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3. สารเคมี

3.2.3.1. Ciprofloxacin

3.2.3.2. Rifampicin

3.2.3.3. Tetracycline

3.2.3.4. Mecillinam

3.2.3.5. Ampicillin

3.2.3.6. Kanamycin

3.2.3.7. Colistin

3.2.3.8. Cerulenin

3.2.3.9. แอลกฮอล์ 70%

3.2.3.10. แอลกฮอล์ 90%

3.2.3.11. น้ำกลั่น

3.2.3.12. น้ำปราศจากไอออน

3.2.3.13. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

3.3. วิธีการดำเนินงานสหิกิจศึกษา

3.3.1. การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* TS008

นำอาหาร LB agar จากห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ 4°C มาทำการตากให้แห้งในฮู้ด (Hood) หลังจากอาหาร LB แห้งแล้วจึงนำเชื้อ *Escherichia coli* TS008 (*E. coli* TS008) ที่ถูกจัดเก็บเป็น Stock ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -20°C ออกมาแล้วจนทำการใช้ไม้เสียบลูกชิ้นที่ผ่านการ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 15 นาที มาทำการเตะที่บริเวณผ่านหน้าภายในหลอด Stock ที่เป็นน้ำแข็ง เตะจนกว่าจะมีเกล็ดน้ำแข็งหรือจนกว่าที่ปลายของไม้จะมีลักษณะเปียก แล้วจึงนำไม้เสียบลูกชิ้นนั้นไปทำการ streak plate โดนการ streak เสร็จแต่ละครั้งจะทำการเปลี่ยนไม้เสียบลูกชิ้นทุกครั้ง หลังจากนั้นก็ทำการนำ *E. coil* TS008 ที่เป็น Stock เก็บใส่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C (ควรทำให้เร็วที่สุดเพื่อป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น) จากนั้นนำ plate ที่ streak เสร็จแล้ว

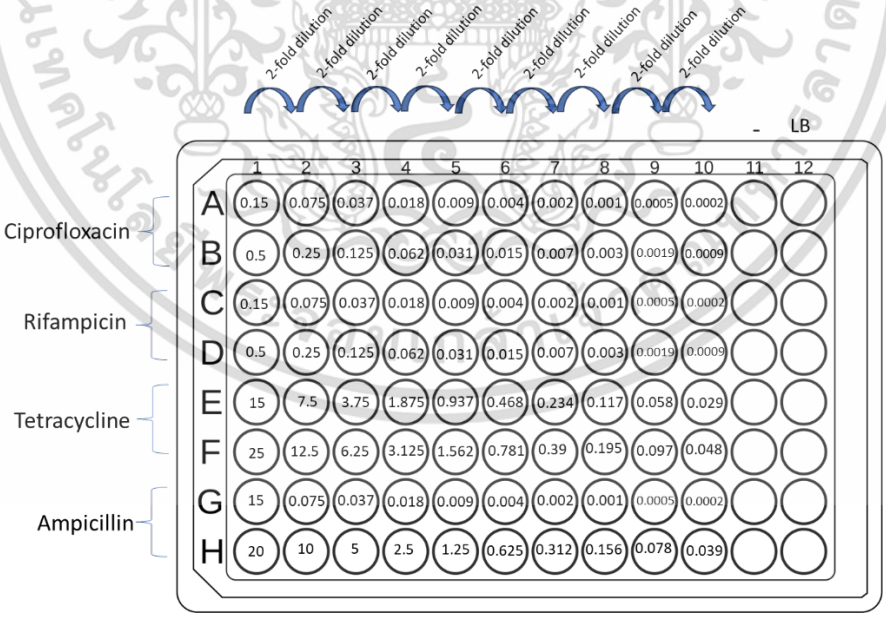
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปบ่มในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 วัน แล้วสังเกตผลโดยการดูลักษณะการเจริญบนแผ่นหน้าของอาหารแข็ง LB agar (Ruiz et al., 2005)

3.3.2. การทดสอบ Minimum inhibitory concentrations (MIC)

เตรียมเชื้อข้ามคืน โดยการเตรียมหลอดทดลอง 2 หลอด และทำการเขียนกำกับที่บริเวณฝาขวดดังนี้ 1. หลอด LB 2. หลอดเชื้อข้ามคืน (O/N) โดยหลอด LB จะทำการปิเปตอาหาร LB broth ลงไปปริมาณ 5 ml ส่วนหลอด O/N ทำการปิเปตอาหารเหลว LB broth ลงไป 5 ml หลังจากนั้นนำไม้เสียบลูกชิ้นเขี่ยที่โคโลนีของเชื้อ *Escherichia coli* TS008 (*E. coli* TS008) บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ LB agar ที่ผ่านการบ่มมาแล้ว 1 วัน จากนั้นนำปลายของไม้เสียบรูปชิ้นที่ทำการเขี่ยเชื้อมาทำการเกวี่ยงในหลอด O/N ที่มีอาหาร LB broth อยู่แล้วจึงนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากบ่มได้ประมาณ 18 ชั่วโมง ทำการเตรียม 96 well plate โดยที่เขียนเลเบลที่ฝาของ 96 well plate ดังนี้ วันที่ทำการทดลอง, ชื่อของยา, ความเข้มข้นของยาในช่องที่ 1, - ที่ช่องที่ 11 และ LB ที่ช่อง 12 จากนั้นทำการปิเปตอาหาร LB broth ลงไปใน Liquid reservoir ปริมาตร 28 ml หลังจากนั้นก็ทำการใช้ multichannel pipette ปิเปตอาหาร LB broth ลงในแถวที่ 1 ตามแนวตั้ง ปิเปตลงไปปริมาตร 200 µl ส่วนแถวที่ 2-12 ปิเปต LB broth ปริมาตร 100 µl (Nonejuie et al., 2013) แล้วทำการปิเปตยาลงไปดังนี้

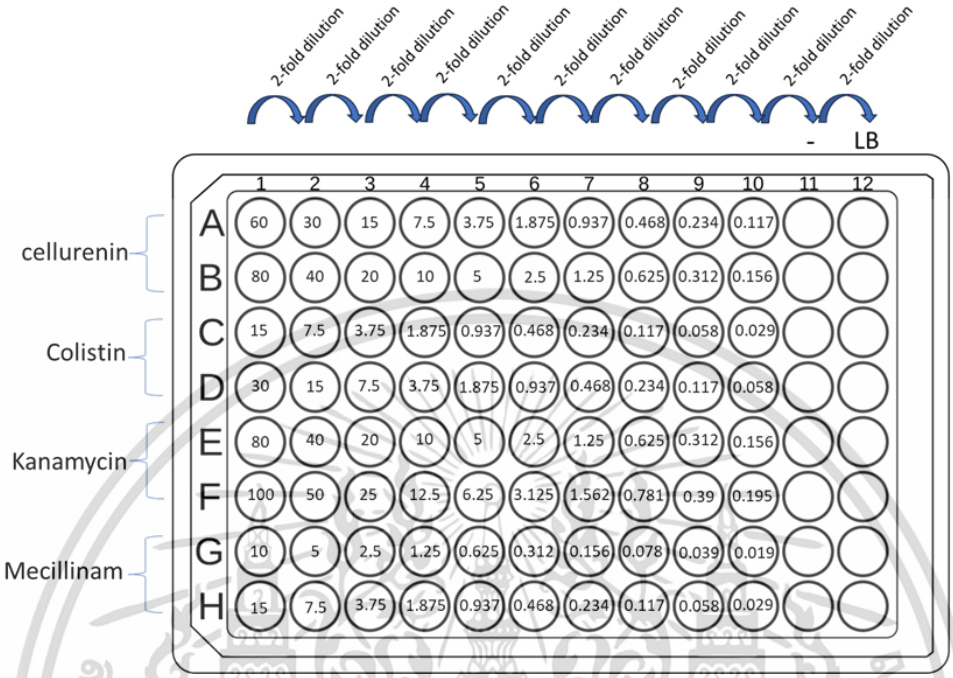
<u>96 well plate อันที่ 1</u>



รูปที่ 3.1. (-) ช่องสำหรับใส่อาหาร LB broth และใส่เชื้อที่ศึกษาลงไป (LB) ช่องสำหรับใส่อาหาร LB broth เพื่อใช้ในการตรวจสอบว่ามีการปนเปื้อนในอาหารหรือไม่ ความเข้มขันของยามีหน่วยเป็น µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96 well plate อันที่ 2



รูปที่ 3.2. (-) ช่องสำหรับใส่อาหาร LB broth และใส่เชื้อที่ศึกษาลงไป (LB) ช่องสำหรับใส่อาหาร LB broth เพื่อใช้ในการตรวจสอบว่ามีการปนเปื้อนในอาหารหรือไม่ ความเข้มข้นของยามีหน่วยเป็น µg/ml

หลังจากนั้นใช้ multichannel pipette ที่ปรับปริมาตรไว้ที่ 100 µl ดูดขึ้น-ลงประมาณ 5-6 ครั้ง แล้วดูดสารในช่องที่ 1 ปริมาตร 100 µl ไปยังช่องที่ 2 แล้วทำการดูดขึ้น-ลงประมาณ 5-6 ครั้ง แล้วทำการดูดสารจากช่องที่ 2 ไปยัง ช่องที่ 3 ด้วยปริมาตร 100 µl ทำซ้ำจนถึงช่องที่ 10 แล้วทำการปิดฝาครอบ 96 well plate ไว้ จากนั้นนำเชื้อในหลอด O/N มาทำการเจือจาง 10 เท่า โดยนำหลอดทดลองใหม่มาปิเปตอาหาร LB broth ลงไป 4,500 µl จากนั้นปิเปตเชื้อจากหลอด O/N ลงไป 500 µl จากนั้นใช้เครื่อง Vortex Mixer ในการผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปทำการวัดค่า OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ให้ได้ค่า OD ประมาณ 0.2 เมื่อได้ค่า OD ประมาณ 0.2 แล้วทำการเทอาหาร LB broth ที่เหลือออยู่ใน Liquid reservoir ทิ้งลงใน waste โดยพยายามไม่ให้ Liquid reservoir สัมผัสกับถังของ waste แล้วนำเชื้อในหลอดทดลองใหม่มาเทใส่ Liquid reservoir แล้วทำการใช้ multichannel pipette ที่ปรับปริมาตรไว้ที่ 1 µl ดูดเชื้อที่มีอยู่ใน Liquid reservoir ลงไปแล้วทำการปิเปตลงยัง 96 well plate ตั้งแต่ช่องที่ 1-11 โดยที่แต่แต่ช่องจะต้องทำการดูดขึ้น-ลง เพื่อเป็นการผสมสารให้เข้ากัน (ต้องเปลี่ยน Tube ทุกรอบในการทำแต่ละครั้ง) เมื่อเสร็จแล้วก็ทำการนำไปบ่มที่ตู้บ่ม 37°C เป็นเวลา 1 วัน แล้วมาทำการอ่านผล MIC (Htoo et al., 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3. การทำ Bacterial cytological profiling (BCP)

เตรียมเชื้อข้ามคืน โดยการเตรียมหลอดทดลอง 2 หลอด และทำการเขียนกำกับที่บริเวณฝาขวดดังนี้ 1. หลอด LB 2. หลอดเชื้อข้ามคืน (O/N) โดยหลอด LB จะทำการปิเปตอาหาร LB broth ลงไปปริมาณ 5 ml ส่วนหลอด O/N ทำการปิเปตอาหารเหลว LB broth ลงไป 5 ml หลังจากนั้นนำไม้เสียบลูกชิ้นเขี่ยที่โคโลนีของเชื้อ *E. coil* บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ LB agar ที่ผ่านการบ่มมาแล้ว 1 วัน จากนั้นนำปลายของไม้เสียบรูปชิ้นที่ทำการเขี่ยเชื้อมาทำการเกวี่ยงในหลอด O/N ที่มีอาหาร LB broth อยู่ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

หลังจากบ่มได้ประมาณ 18 ชั่วโมง ทำการเตรียมการเพาะเลี้ยงเชื้อรายวัน โดยเตรียมหลอดทดลองและทำการเลย์เบลที่ฝาหลอดทดลองตามจำนวนของยาที่ใช้คือ 7 ชนิด และ หลอดควบคุม 1 หลอด โดยเริ่มจากทำการเจือจาง 100 เท่า โดยใช้ LB broth 4950 µl และเชื้อจากหลอด O/N 50 µl หลังจากนั้นทำการวัดค่า OD โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ให้ได้ค่า OD ประมาณ 0.2 (ในกรณีที่ยังไม่ได้ ให้ทำการบ่มต่อจนกว่าจะได้ค่า OD ประมาณ 0.2) หลังจากทำการเติมยาปฏิชีวนะที่มีความเข้มข้นดังนี้

Ciprofloxacin ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 0.1 µg/ml ปิเปตปริมาตร 50 µl

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 1 µg/ml

Ampicillin ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 0.1 µg/ml ปิเปตปริมาตร 50 µl

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 1 µg/ml

Tetracycline ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 0.1 µg/ml ปิเปตปริมาตร 12.5 µl

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 0.25 µg/ml

Cerulenin ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 10 µg/ml ปิเปตปริมาตร 10 µl

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 20 µg/ml

Rifampicin ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 0.1 µg/ml ปิเปตปริมาตร 2 µl

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 0.04 µg/ml

Colistin ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 0.1 µg/ml ปิเปตปริมาตร 50 µl

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 1 µg/ml

Kanamycin ที่มีความเข้มข้นของ Stock เท่ากับ 10 µg/ml ปิเปตปริมาตร 15 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความเข้มข้นในหลอดเชื้อเพาะเลี้ยงรายวัน เท่ากับ 30 µl

หลังจากนั้นทำการบ่มต่อไปอีก 1 ชั่วโมง แล้วนำไปทำการปิเปตใส่ใน tube ละ 500 µl ก่อนจะนำไป Centrifuge ด้วยความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการดูดส่วยที่เป็น supernatant ออกให้เหลือปริมาตรเลยน้อย จากนั้นทำการใช้ Vortex Mixer ผสมส่วนของ supernatant และ pellet ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

การเตรียมเจลสำหรับทำสไลด์ในการส่องภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เตรียมโดยเริ่มจากทำการชั่งตวงผงเจลปริมาตร 0.12 g. โดยทำการชั่งบนเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนที่ผ่านการ Auto autoclave ลงไปปริมาตร 8 ml และเติม LB broth ปริมาตร 2 ml จากนั้นนำเข้าไปผสมกันในไมโครเวฟโดยการให้ความร้อนจนถึงจุดที่กำลังเดือดแล้วหยุดเครื่องไมโครเวฟทันที เพื่อไม่ให้วุ้นหกออกมา ทำซ้ำขั้นตอนเดิมจนกว่าวุ้นจะใส จากนั้นทำการดูดวุ่นลงในสไลด์หลุมปริมาตร 500 µl แล้วนำสไลด์ปกติมาทำการกดให้สนิททั้งด้านซ้ายและขวา พอกดได้ประมาณ 5-6 วินาทีก็ทำการปล่อยมือออก แล้วทำการตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัวประมาณ 45 นาที – 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการนำสไลด์ปกติออก โดยการดึงลงมาเล็กน้อยจากสไลด์หลุม แล้วทำการใช้กระดาษเช็ดเลนส์ เช็ดด้านบนของสไลด์หลุมแล้วจึงดึงสไลด์ปกติออก จากนั้นทำการนำสไลด์ปกติมาทำการเขี่ยเอาวุ้นที่ติดบริเวณรอบๆของหลุมออก จากนั้นทำการทำ air pocket โดยให้ฝาของหลอดทดลองทำการเจาะแผ่นวุ้นทั้ง 2 ด้านของวุ้นที่อยู่ในหลุม จากนั้นทำการปิเปตเชื้อที่ผ่านการ ผสมส่วนของ supernatant และ pellet ที่ผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาตร 10 µl ทำการหยดลงไปวุ้นโดยทำการหยดทั้งบริเวณด้านบน, ตรงกลาง, และด้านล่างของวุ้นเพื่อให้เซลล์กระจายกันได้ดี แล้วจึงทำการปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ และใช้ tube กดให้ของเหลวกระจายได้อย่างทั่ววุ้น (Nonejuie et al., 2013) หลังจากนั้นนำไปทำการส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเพื่อดูความเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1. การเจริญของ *Escherichia coli* TS008 บนอาหารแข็ง LBA

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* TS008 (*E. coli* TS008) ที่ถูกจัดเก็บเป็น Stock ของสถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดลมา streak plate บนอาหาร Luria-Bertani agar (LBA) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 วัน ลักษณะการเจริญของโคโลนีของแบคทีเรียเป็นแบบกลมมน โคโลนีมีลักษณะนูนนูน ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว โคโลนีมีสีครีม ดังแสดงในรูปที่ 4.1

รูปที่ 4.1 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* บนอาหาร LBA

สอดคล้องกับผลการศึกษาของ (Sasanpour et al., 2019) โดยที่ *Escherichia Coli (E. coli)* มีโคโลนีที่เจริญโค้งนูน มีลักษณะกลม ขอบโคโลนีมีความเรียบ ผิวหน้ามันวาว และโคโลนีมีสีครีม เมื่อมีการเพาะเลี้ยงเชื้อ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2. ผลการทดสอบค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC)

ทำการเตรียมเชื้อข้ามคืน โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* TS008 (*E coli* TS008) โดยบ่มไว้ 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนั้นเชื้อที่ Over night มาทำการเจือจางด้วยอาหาร LB broth ปริมาตร 4,500 µl และ เชื้อ Over night ปริมาตร 500 µl แล้วทำการวัดค่า OD ให้ได้ค่าประมาณ 0.2 หลังจากนั้นทำการเตรียม 96 well plate โดยทำการเติมอาหาร LB broth 100 µl ใส่ลงไปทุกช่อง ทำการเตรียมความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะทั้ง 8 ชนิด,ช่อง – และช่อง LB ดังรูปที่ 3.1-3.2 หลังจากนั้นทำการใช้ Multichannel pipette ทำการเจือจางโดยการดูดยาปฏิชีวนะ + LB broth ที่อยู่ภายในช่องของ 96 well plate ปริมาตร 100 µl ตั้งแต่ช่อง 1-10 และต้องทำการดูดผสมสารให้เข้ากัน หลังจากนั้นทำการใส่เชื้อมีค่า OD 0.2 ลงไปปริมาตร 1 µl ลงไปในช่อง 1-11 แล้วทำการผสมสารให้เข้ากัน หลังจากนั้นทำการบ่มในตู้บ่ม 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการอ่านผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC) ของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดต่อ *Escherichia coli* TS008

สายพันธ์แบคที่เรีย	ยาปฏิชีวนะ	ค่า MIC (µg/ml)
Escherichia coli TS008	Mecillinam	0.06
Escherichia coli TS008	Cerulenin	0.156
Escherichia coli TS008	Kanamycin	1.562
Escherichia coli TS008	Ampicillin	0.117
Escherichia coli TS008	Colistin	0.234
Escherichia coli TS008	Ciprofloxacin	0.00390
Escherichia coli TS008	Rifampicin	0.00234
Escherichia coli TS008	Tetracycline	1.5625

จากตารางที่ 4.2 จะแสดงให้ถึงค่า MIC ของยาปฏิชีวนะ 8 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TS008 พบว่าเชื้อ *E. coli* TS008 มีความไวต่อ Rifampicin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.00234 µg/ml, Ciprofloxacin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.00390 µg/ml และ Mecillinam ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.06 µg/ml รองลงมาเป็น Ampicillin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.117 µg/ml, ceurenin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.156 µg/ml, Colistin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.234 µg/ml สุดท้ายคือยาที่มีโอกาสเลี่ยงที่จะมีความดื้อยาเกิดขึ้นในอนาคตมี Kanamycin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 1.562 µg/ml และ ยา Tetracycline ที่มีค่า MIC เท่ากับ 1.5625 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

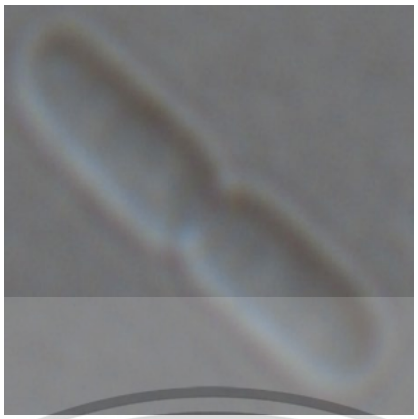
จากการศึกษาของ (Berman & Riley, 2013) พบว่าการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ กับเชื้อ *Escherichia coli (E. coli)* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ได้โดยสังเกตจากค่า MIC ซึ่งจากการศึกษาพบว่า *E. coli* จัดเป็นเป็นเชื้อดื้อยาในกลุ่มของ ESKAPE เพราะฉะนั้นควรมีการหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะควรเลือกใช้ยาที่มีค่า MIC ในอยู่ช่วงกลางคือ Ampicillin, Cerulenin, Colistin เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อมีการดื้อต่อยาของกลุ่มยาที่มีค่า MIC ต่ำคือ Rifampicin, Ciprofloxacin, Mecillinam เนื่องจากการใช้ยาปฏิชีวนะที่มีการยับยั้งการเจริญได้ดีและมีประสิทธิ์ภาพมาก สามารถส่งผลให้เชื้อ *E. coli* TS008 เกิดการกลายพันธ์หรือมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธ์กรรม ทำให้ยานั้นไม่สามารถแสดงผลออกมาได้ และจากการทดลองนี้จะแสดงให้เห็นว่า Kanamycin และ Tetracycline มีความเลี่ยงที่เชื้อ *E. coli* TS008 จะเกิดการดื้อยาในอนาคต

4.3. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงหลังการรับยาปฏิชีวนะทั้ง 7 ชนิด

ทำการเตรียมชั่วข้ามคืน โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* TS008 โดยบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อรายวันโดยการ เตรียมอาหาร LB broth ปริมาตร 4950 µl + เชื้อจากหลอดเชื้อชั่วข้ามคืนปริมาตร 50 µl แล้วทำการวัดค่า OD ให้ได้ค่าประมาณ 0.2 หลังจากนั้นทำการเตรียมยาปฏิชีวนะดังข้อ 3.3.3 แล้วทำการบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาปิเปตใส่ tube ปริมาตร 500 µl ก่อนจะนำไปทำการ Centrifuge ด้วยความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทำการเก็บส่วนที่เป็น pellet ไว้ จากนั้นทำการผสม ผงเจล+น้ำปราศจากไอออน+LB broth ให้ความร้อนจนได้น้ำใส จากนั้นทำการเตรียมสไลด์โดยปิเปตสารปริมาตร 500 µl แล้วทำการกดปิดสไลด์ให้สนิท แล้วกดค้าง 5-6 วินาทีแล้วปล่อยมือออก แล้วตั้งทิ้งไว้ 45 นาที – 1ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการเปิดสไลด์แล้วทำ air pocket ที่บริเวณหลุมของแผ่นสไลด์ แล้วจนนำ tube มา centrifuge แล้วจนทำการปิเปตลงบนวุ่นในแผ่นสไลด์ ปริมาตร 10 µl แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปส่องดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *E. coli* TS008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เมื่อทำการใส่ยาปฏิชีวนะทั้ง 7 ชนิดลงภายในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีเชื่อ *Escherichia coli* TS008 แล้วทำการปั้นเหวี่ยงเพื่อทำการเอาตัวของเซลล์ของเชื้อ แล้วมาทำการเอาส่วนของตะกอนของเชื้อมาทำการหยดเป็นแผ่นวุ้นแล้วนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อสังการณ์ความเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาจะแสดงในรูปที่ 4.1 -4.8 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

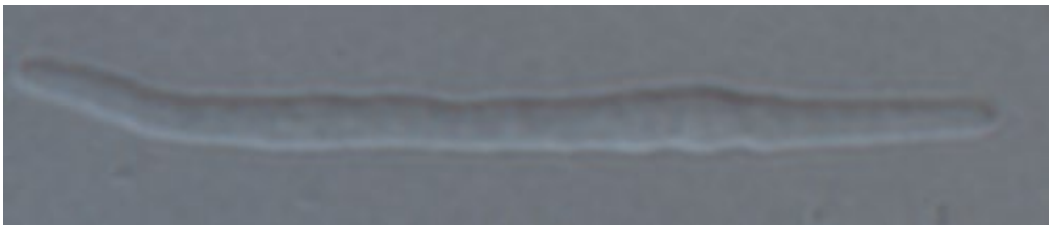


รูปที่ 4.2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ยังไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ

รูปที่ 4.3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Tetracycline

รูปที่ 4.4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Ciprofloxacin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

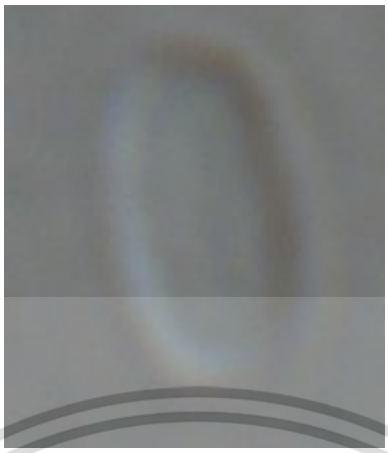


รูปที่ 4.5. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Ampicillin

รูปที่ 4.6. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Rifampicin

รูปที่ 4.7. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Cerulenin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Colistin

รูปที่ 4.9. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ที่ได้รับ Kanamycin

จากการทดสอบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่า *Escherichia coli* TS008 (*E. coli* TS008) untreated ดังรูปที่ 4.2 เซลล์ของ *E. coli* TS008 มีลักษณะเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกระบอกยาว บริเวณที่ปลายของเซลล์มีลักษณะกลมมน แต่เมื่อได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ จะได้ผลดังต่อไปนี้ *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ดังรูปที่ 4.3 เมื่อเปรียบเทียบกับ *E. coli* TS008 untreated แล้วไม่พบความแตกต่าง ต่อมา *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin พบว่าเซลล์ของ *E. coli* TS008 มีลักษณะที่ยืดยาวขึ้นกว่าเซลล์ปกติ มีเซลล์ของเชื้อมีการบิดโค้ง ดังที่แสดงดังรูปที่ 4.4 ส่วน *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ Ampicillin เซลล์ของ *E. coli* TS008 มีลักษณะที่ยืดยาวออกจากเซลล์ *E. coli* TS008 ปกติและมีลักษณะยืดยาวกว่าเซลล์ของ *E. coli* TS008 เมื่อได้รับยา Ciprofloxacin ดังที่แสดงในรูปที่ 4.5 ส่วนต่อมาคือ *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ Rifampicin เซลล์ของ *E. coli* TS008 มีลักษณะที่หดสั้นลงกว่าเซลล์ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TS008 untreated และมีลักษณะรูปร่างของเซลล์แบบค่อนข้างคล้ายรูปไข่ ดังที่แสดงในรูปที่ 4.6 ส่วน *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ Cerulenin เซลล์ของ *E. coli* TS008 มีเซลล์มีลักษณะค่อนข้างกลม เซลล์มีลักษณะสั้นลงเมื่อเทียบกับ *E. coli* TS008 untreated และบริเวณกลางเซลล์มีลักษณะเป็นร่องที่สามารถสังเกตเห็นได้ ดังที่แสดงในรูปที่ 4.7 ส่วน *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ยาปฏิชีวนะ Colistin เซลล์มีลักษณะที่สั้นลง รูปร่างของเซลล์มีลักษณะที่เล็กลงทำให้เซลล์มีรูปร่างคล้ายเมล็ดข้าวเมื่อเทียบกับ *E. coli* TS008 untreated ที่บริเวณกลางเซลล์มีลักที่เป็นร่อง ดังที่แสดงในรูปที่ 4.8 สุดท้ายคือ *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treatedยาปฏิชีวนะ Kanamycin เซลล์มีลักษณะยืดยาวกว่าเซลล์ *E. coli* TS008 untreated ปกติเล็กน้อย ซึ่งจะสั้นกว่าเซลล์ของ *E. coli* TS008 ที่ได้รับการ treated ด้วยยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin และ Ampicillin ดังที่แสดงในรูปที่ 4.9 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ (Nonejuie et al., 2013) ซึ่งหลังจากการใส่ยาปฏิชีวนะ 8 ชนิด และสอดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ *E. coli* เป็นไปตามรูปที่ 4.2-4.9

โดยรวมภาพรวมแล้ว การเพาะเลี้ยง *Escherichia coli* TS008 มีการเจริญเติมโตบนอาหาร Lysogeny broth agar มีลักษณะการเจริญของโคโลนีแบบกลมมน โคโลนีมีลักษณะนูน ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว โคโลนีมีสีครีม เมื่อทำการทดสอบ *E. coli* TS008 โดยการใช้ยาปฏชีวนะทั้ง 8 ชนิดเพื่อทำการหาค่า MIC ของเชื้อ *E. coli* TS008 ปรากฏว่า สามารถจัดจำแนกประเภทของยาปฏิชีวนะตามผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1. ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* TS008 สูง 2. ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* TS008 ปานกลาง 3. ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* TS008 ต่ำ และเมื่อทำการใช้ยาปฏิชีวนะ 7 ชนิดที่มีวิถีการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันคือ ในการทำ BCP ของเชื้อ *E. coli* TS008 พบว่าการทำ BCP สามารถจัดประเภทตามกลไกการออกฤทธิ์และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาตามกลไกการออกฤทธิ์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1. สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองการเพาะเลี้ยง *Escherichia coli* TS008 (*E. coli* TS008) ในอาหาร Luria-Bertani agar พบว่ามีการเจริญโดยมีลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียเป็นแบบกลม ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว มีสีใส/ไม่มีสี โคโลนีนูน จากนั้นการศึกษาค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรือการศึกษาค่าMIC ที่มีประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TS008 โดยวิธี treated ยาปฏิชีวนะทั้ง 8 ชนิดคือยาปฏิชีวนะ Mecillinam, ยาปฏิชีวนะ Cerulenin, ยาปฏิชีวนะ Kanamycin, ยาปฏิชีวนะ Ampicillin, ยาปฏิชีวนะ Colistin, ยาปฏิชีวนะCiprofloxacin, ยาปฏิชีวนะ Rifampicin และยาปฏิชีวนะ Tetracycline พบว่ายาปฏิชีวนะ Rifampicin ที่มีค่า MIC เท่ากับ 0.00234 µg/ml มีประสิทธ์ภาพมากที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TS008 จากนั้นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *E. coli* TS008 โดยทดสอบกับยาปฏิชีวนะ 7 ชนิด แล้วทำการส่องดูการเปลี่ยนแปลงผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยยาปฏิชีวนะที่ใช้มีดังนี้ ยาปฏิชีวนะ ceurenin, ยาปฏิชีวนะ Kanamycin, ยาปฏิชีวนะ Ampicillin, ยาปฏิชีวนะ Colistin, ยาปฏิชีวนะCiprofloxacin, ยาปฏิชีวนะ Rifampicin และยาปฏิชีวนะ Tetracycline พบว่ากล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง สามารถใช้สังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *E. coli* TS008 ได้อย่างชัดเจน ซึ่งจากยาปฏิชีวนะ 7 ชนิดสามารถใช้แยกการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 6 ชนิด ซึ่งยกเว้นยาปฏิชีวนะ Tetracycline ที่ไม่สามารถสังเกตความแตกต่างได้ ดังนั้นถ้าจะศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยระเอียดและสามารถใช้แยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน ควรใช้สีย้อม Fluorescent Dye และกล้องจุลทรรศน์แบบ fluorescence ในการศึกษาเพื่อให้ได้ผลที่มีความละเอียดและความจำเพาะสูง

5.2. ข้อเสนอแนะ

5.2.1. ควรทำการทดสอบค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC) เพื่อใช้ทำเป็นฐานข้อมูลของยาปฏิชีวนะไว้ใช้เปรียบเทียบการดื้อยาของ *Escherichia coli* TS008 ในอนาคต

5.2.2. การทำ Bacterial cytological profiling (BCP) ควรมีการทดสอบด้วยความเข้มขันของยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกัน เพื่อให้ทราบถึงความแตกต่างของลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008

5.2.3. ควรทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ เพื่อการเปรียบเทียบความแตกต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Alsamsam, M. N., Kopūstas, A., Jurevičiūtė, M., & Tutkus, M. (2022). The miEye: Bench-top super-resolution microscope with cost-effective equipment. HardwareX, 12, e00368.

Andrade, F. F., Silva, D., Rodrigues, A., & Pina-Vaz, C. (2020). Colistin Update on Its Mechanism of Action and Resistance, Present and Future Challenges. Microorganisms, 8(11), 1716.

Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48 Suppl 1, 5–16.

Bélanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E., & Dozois, C. M. (2011). *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli.* FEMS Immunology and Medical Microbiology, 62(1), 1–10.

Beloor Suresh, A., Rosani, A., & Wadhwa, R. (2023). Rifampin. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Berman, H. F., & Riley, L. W. (2013). Identification of novel antimicrobial resistance genes from microbiota on retail spinach. BMC Microbiology, 13(1), 272.

Blount, Z. D. (2015). The unexhausted potential of E. coli. eLife, 4, e05826.

Clark, M. (Ed.). (2011). Handbook of textile and industrial dyeing. Woodhead Publishing Limited.

Clarke, P. D., Geddes, A. M., McGhie, D., & Wall, J. C. (1976). Mecillinam: A new antibiotic for enteric fever. British Medical Journal, 2(6026), 14–15.

Dever, L. A., & Dermody, T. S. (1991). Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. Archives of Internal Medicine, 151(5), 886–895.

Elliott, A. D. (2020). Confocal Microscopy: Principles and Modern Practices. Current Protocols in Cytometry, 92(1), e68.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Htoo, H. H., Brumage, L., Chaikeeratisak, V., Tsunemoto, H., Sugie, J., Tribuddharat, C., Pogliano, J., & Nonejuie, P. (2019). Bacterial Cytological Profiling as a Tool To Study Mechanisms of Action of Antibiotics That Are Active against *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 63(4), e02310-18.

Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: Ecology and public health implications-a review. Journal of Applied Microbiology, 123(3), 570–581.

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology, 33(3), 300–305.

Kawaguchi, A., Tomoda, H., Nozoe, S., Omura, S., & Okuda, S. (1982). Mechanism of action of cerulenin on fatty acid synthetase. Effect of cerulenin on iodoacetamide-induced malonyl-CoA decarboxylase activity. Journal of Biochemistry, 92(1), 7–12.

Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. Pathogens (Basel, Switzerland), 10(2), 165.

Lietman, P. S. (1986). What is an antibiotic? The Journal of Pediatrics, 108(5), 824–829.

Nonejuie, P., Burkart, M., Pogliano, K., & Pogliano, J. (2013). Bacterial cytological profiling rapidly identifies the cellular pathways targeted by antibacterial molecules. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110(40), 16169–16174.

Peechakara, B. V., Basit, H., & Gupta, M. (2023). Ampicillin. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Peraman, R., Sure, S. K., Dusthackeer, V. N. A., Chilamakuru, N. B., Yiragamreddy, P. R., Pokuri, C., Kutagulla, V. K., & Chinni, S. (2021). Insights on recent approaches in drug discovery strategies and untapped drug targets against drug resistance. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 7(1), 56.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Quach, D. T., Sakoulas, G., Nizet, V., Pogliano, J., & Pogliano, K. (2016). Bacterial Cytological Profiling (BCP) as a Rapid and Accurate Antimicrobial Susceptibility Testing Method for *Staphylococcus aureus*. EBioMedicine, 4, 95–103.

Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. AIMS Microbiology, 4(3), 482–501.

Ruiz, N., Falcone, B., Kahne, D., & Silhavy, T. J. (2005). Chemical conditionality: A genetic strategy to probe organelle assembly. Cell, 121(2), 307–317.

Sasanpour, P., Dilmaghani-Marand, A., Montazeri, H., Ivani, S., Hajipour, M. J., & Mahmoudi, M. (2019). Nanoparticles affect bacterial colonies' optical diffraction patterns. Nanoscale, 11(6), 2594–2601.

Shiomi, D., Mori, H., & Niki, H. (2009). Genetic mechanism regulating bacterial cell shape and metabolism. Communicative & Integrative Biology, 2(3), 219–220.

Shutter, M. C., & Akhondi, H. (2023). Tetracycline. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Silver, L. L. (2011). Challenges of antibacterial discovery. Clinical Microbiology Reviews, 24(1), 71–109.

Thai, T., Salisbury, B. H., & Zito, P. M. (2023). Ciprofloxacin. In StatPearls. StatPearls Publishing.

Vardanyan, R. S., & Hruby, V. J. (2006). Antimycobacterial Drugs. In Synthesis of Essential Drugs (pp. 525–534). Elsevier.

Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: Part 1: causes and threats. P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management, 40(4), 277–283.

Wachi, M., & Nagai, K. (2001). *Escherichia coli* Ribonuclease G. In Methods in Enzymology (Vol. 342, pp. 55–63). Elsevier.

Walsh, C. T., & Wencewicz, T. A. (2014). Prospects for new antibiotics: A molecule-centered

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

perspective. The Journal of Antibiotics, 67(1), 7–22.

World Health Organization. (2015). Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization.

Yin, Q.-Q., Jiao, W.-W., Li, Q.-J., Xu, F., Li, J.-Q., Sun, L., Li, Y.-J., Huang, H.-R., & Shen, A.-D. (2016). Prevalence and molecular characteristics of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Beijing, China: 2006 versus 2012. BMC Microbiology, 16(1), 85.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.Luria-Brtani broth (LB broth)

1.1. ชั่ง Tryptone 10 กรัม จากนั้นชั่ง Yeast extract 5 กรัมแล้วเทผสมกัน จากนั้นชั่ง NaCl 5 กรัมแล้วเทลงไปผสม จากนั้นเติม Distilled water 1,000 ml จากนั้นคนผสมให้เข้ากัน

1.2. นำไปปรับ PH ให้ได้ 7.0 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหมอนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นสามารถนำมาใช้ได้เลย

2. Luria-Bertani agar (LB agar)

2.1. ชั่ง Tryptone 10 กรัม จากนั้นชั่ง Yeast extract 5 กรัมแล้วเทผสมกัน จากนั้นชั่ง NaCl 5 กรัมแล้วเทลงไปผสม ทำการเติมผงวุ้น 20 กรัม (คิดเป็นสัดส่วน 2 %) จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนผงวุ้นละลาย

2.2. ทำการเติม Tributyrin oil 10 ml แล้วนำไปปั่นขณะร้อนด้วยเครื่องปั่นผสม ด้วยความเร็ว 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

2.3. จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหมอนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาทีจากนั้นรอให้อาหารอุ่นแล้วทำการเทใส่แพลท แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งจนสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมยาปฏิชีวนะ

1. Ciprofloxacin

1.1. ทำการเจือจาง Stock 100 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอด Stock ที่มีความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยการ ปิเปตยาจาก Stock มา 5 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม 0.1 HCl ปริมาตร 495 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ยา Ciprofloxacin ที่ได้จะมีความเข้มข้น 100 µg/ml

1.2. ทำการเจือจาง Stock 10 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอดในข้อ 1.1 ที่มีความเข้มข้น 100 µg/ml โดยการปิเปตยาจาก Stock มา 50 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม 0.1 HCl ปริมาตร 450 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ยา Ciprofloxacin ที่ได้จะมีความเข้มข้น 10 µg/ml

2. Rifampicin

2.1. ทำการเจือจาง Stock 100 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอด Stock ที่มีความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยการปิเปตยาจาก Stock มา 5 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม DMSO ปริมาตร 495 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ยา Rifampicin ที่ได้จะมีความเข้มข้น 100 µg/ml

2.2. ทำการเจือจาง Stock 10 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอดในข้อ 1.1 ที่มีความเข้มข้น 100 µg/ml โดยการปิเปตยาจาก Stock มา 50 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม DMSO ปริมาตร 450 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ยา Rifampicin ที่ได้จะมีความเข้มข้น 10 µg/ml

3. Tetracycline

3.1. ทำการเจือจาง Stock 10 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอด Stock ที่มีความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยการ ปิเปตยาจาก Stock มา 5 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม H_2O ปริมาตร 495 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ยา Tetracycline ที่ได้จะมีความเข้มข้น 1,000 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Mecillinam

4.1. ทำการเจือจาง Stock 10 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอด Stock ที่มีความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยการ ปิเปตยาจาก Stock มา 5 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม Cholorofrom ปริมาตร 495 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ยา Mecillinam ที่ได้จะมีความเข้มข้น 1,000 µg/ml

5. Ampicillin

5.1. ทำการเจือจาง Stock 10 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอด Stock ที่มีความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยการ ปิเปตยาจาก Stock มา 5 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม H2O ปริมาตร 495 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน Ampicillin ที่ได้จะมีความเข้มข้น 1,000 µg/ml

6. Colistin

6.1. ทำการเจือจาง Stock 10 เท่า โดยการนำยาที่อยู่ในหลอด Stock ที่มีความเข้มข้น 10,000 µg/ml โดยการ ปิเปตยาจาก Stock มา 5 µl ลงใน tube หลังจากนั้นทำการเติม H_2O ปริมาตร 495 µl แล้วทำการ Vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน Colistin ที่ได้จะมีความเข้มข้น 1,000 µg/ml

7. Kanamycin

ไม่มีการทำเจือจองความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ

8. Cerulenin

ไม่มีการทำเจือจองความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การคำนวณความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ

1.คำนวณความเข้มข้นของยาฏิชีวนะสำหรับการทำ MIC

1.1.1. Ciprofloxacin ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.15 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10 µg/ml V_1 = 0.15 µg/ml 200 µl

V_1 = (0.15 µg/ml*200 ml)/ 10 µg/ml

V_1 = 3 µl

ต้องทำการปิเปต Ciprofloxacin ปริมาตร 3 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Ciprofloxacin ในช่องที่ 1

1.1.2. Ciprofloxacin ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.5 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 µg/ml V_1 = 0.5 µg/ml 200 µl

V_1 = (0.5 µg/ml*200 ml)/10 µg/ml

V_1 = 10 µl

ต้องทำการปิเปต Ciprofloxacin ปริมาตร 10 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 µl สำหรับการทดสอบ MIC ของ Ciprofloxacin ในช่องที่ 1

1.2.1. Rifampicin ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.15 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10 µg/ml V_1 = 0.15 µg/ml 200 µl

V_1 = (0.15 µg/ml*200 ml)/10 µg/ml

V_1 = 3 µl

ต้องทำการปิเปต Rifampicin ปริมาตร 3 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Rifampicin ในช่องที่ 1

1.2.2. Rifampicin ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.5 µg/ml

V_2 = 200 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10 µg/ml V_1 = 0.5 µg/ml 200 µl

V_1 = (0.5 µg/ml*200 ml)/10 µg/ml

V_1 = 10 µl

ต้องทำการปิเปต Rifampicin ปริมาตร 10 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Rifampicin ในช่องที่ 2

1.3.1. Tetracycline ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 15 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10 µg/ml V_1 = 15 µg/ml 200 µl

V_1 = (15 µg/ml*200 ml)/10 µg/ml

V_1 = 3 µl

ต้องทำการปิเปต Tetracycline ปริมาตร 3 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Rifampicin ในช่องที่ 1

1.3.2. Tetracycline ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 25 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

V_2 = 200 µg/ml

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10 µg/ml V_1 = 25 µg/ml 200 µl

V_1 = (25 µg/ml*200 ml)/10 µg/ml

V_1 = 5 µl

ต้องทำการปิเปต Tetracycline ปริมาตร 5 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Rifampicin ในช่องที่ 2

1.4.1. Mecillinam ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 10 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

1,000 µg/ml V_1 = 10 µg/ml 200 µl

V_1 = (10 µg/ml*200 ml)/1,000 µg/ml

V_1 = 2 µl

ต้องทำการปิเปต Mecillinam ปริมาตร 2 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Mecillinam ในช่องที่ 1

1.4.2. Mecillinam ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C_2 = 15 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

1,000 µg/ml V_1 = 25 µg/ml 200 µl

V_1 = (25 µg/ml*200 ml)/1,000 µg/ml

V_1 = 3 µl

ต้องทำการปิเปต Mecillinam ปริมาตร 3 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Mecillinam ในช่องที่ 2

1.5.1. Ampicillin ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 15 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

1,000 µg/ml V_1 = 15 µg/ml 200 µl

V_1 = (15 µg/ml*200 ml)/1,000 µg/ml

V_1 = 3 µl

ต้องทำการปิเปต Ampicillin ปริมาตร 3 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Ampicillin ในช่องที่ 1

1.5.2. ยา Ampicillin ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

V_1 =?

C_2 = 30 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

1,000 µg/ml V_1 = 30 µg/ml 200 µl

V_1 = (30 µg/ml*200 ml)/1,000 µg/ml

V_1 = 6 µl

ต้องทำการปิเปต Ampicillin ปริมาตร 6 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Ampicillin ในช่องที่ 2

1.6.1. Colistin ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 15 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

1,000 µg/ml V_1 = 15 µg/ml 200 µl

V_1 = (15 µg/ml*200 ml)/1,000 µg/ml

V_1 = 3 µl

ต้องทำการปิเปต Colistin ปริมาตร 3 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Colistin ในช่องที่ 1

1.6.2. Colistin ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยที่ C_1 = 1,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 30 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

1,000 µg/ml V_1 = 30 µg/ml 200 µl

V_1 = (30µg/ml*200 ml)/1,000 µg/ml

V_1 = 6 µl

ต้องทำการปิเปต Colistin ปริมาตร 6 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Colistin ในช่องที่ 2

1.7.1. Kanamycin ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 80 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10,000 µg/ml V_1 = 80 µg/ml 200 µl

V_1 = (80 µg/ml*200 ml)/10,000 µg/ml

V_1 = 1.6 µl

ต้องทำการปิเปต Kanamycin ปริมาตร 1.6 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Kanamycin ในช่องที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7.2. Kanamycin ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 100 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10,000 µg/ml V_1 = 100 µg/ml 200 µl

V_1 = (100 µg/ml *200 ml)/10,000 µg/ml

V_1 = 2 µl

ต้องทำการปิเปต Kanamycin ปริมาตร 1.6 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Kanamycin ในช่องที่ 2

1.8.1. Cerulenin ช่องที่ 1

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 60 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10,000 µg/ml V_1 = 60 µg/ml 200 µl

V_1 = (60 µg/ml*200 ml)/10,000 µg/ml

V_1 = 1.2 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องทำการปิเปต Cerulenin ปริมาตร 1.2 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของยา Cerulenin ในช่องที่ 1

1.8.2. ยา Cerulenin ช่องที่ 2

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 80 µg/ml

V_2 = 200 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

10,000 µg/ml V_1 = 100 µg/ml 200 µl

V_1 = (80 µg/ml*200 ml)/10,000 µg/ml

V_1 = 1.6 µl

ต้องทำการปิเปต Cerulenin ปริมาตร 1.6 µl มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 µg/ml สำหรับการทดสอบ MIC ของ Cerulenin ในช่องที่ 2

2.คำนวณความเข้มขันของยาฏิชีวนะสำหรับการ BCP

ใช้ความเข้มขัน 5*X*MIC

2.1. Ciprofloxacin

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 100 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.2 µg/ml

V_2 = 5000 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (0.2*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((0.2*5) µg/ml*5000 µl)/100 µg/ml

V_1 = 50 µl

ต้องทำการปิเปต Ciprofloxacin ปริมาตร 50 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2.2. Rifampicin

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 100 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.008 µg/ml

V_2 = 5000 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (0.008*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((0.008*5) µg/ml*5000 µl)/100 µg/ml

V_1 = 2 µl

ต้องทำการปิเปต Rifampicin ปริมาตร 2 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2.3. Tetracycline

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 100 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.05 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

V_2 = 5,000 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (0.05*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((0.05*5) µg/ml*5000 µl)/100 µg/ml

V_1 = 12.5 µl

ต้องทำการปิเปต Tetracycline ปริมาตร 12.5 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

***2.4.* Cerulenin**

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 10,000 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 4 µg/ml

V_2 = 5,000 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (4*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((4*5) µg/ml *5000 µl)/10,000 *µg/ml*

V_1 = 10 µl

ต้องทำการปิเปตยา Cerulenin ปริมาตร 10 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2.5. Ampicillin

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 100 µg/ml

V_1 =?

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C_2 = 0.2 µg/ml

V_2 = 5000 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (0.2*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((0.2*5) µg/ml*5000 µl)/100 µg/ml

V_1 = 50 µl

ต้องทำการปิเปต Ampicillin ปริมาตร 50 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2.6. Colistin

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 100 µg/ml

V_1 =?

C_2 = 0.2 µg/ml

V_2 = 5000 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (0.2*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((0.2*5) µg/ml*5000 µl)/100 µg/ml

V_1 = 50 µl

ต้องทำการปิเปต Colistin ปริมาตร 50 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

2.7. Kanamycin

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 = 100 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

V_1 =?

C_2 = 6 µg/ml

V_2 = 5000 µl

แทนค่า $C_1V_1 = C_2V_2$

100 µg/ml V_1 = (6*5) µg/ml 5000 µl

V_1 = ((6*5) µg/ml*5000 µl)/100 µg/ml

V_1 = 15 µl

ต้องทำการปิเปต Kanamycin ปริมาตร 15 µl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 µg/ml ลงใน Dayculture สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางสัฐวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 8 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2567

ข้าพเจ้า นายอภิรักษ์ สุดแสวง รหัสประจำตัว 63050529
นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา
ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษเรื่อง

ชื่อภาษาไทย การศึกษาผลของยาปฏิชีวนะต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Escherichia coli* TS008 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ชื่อภาษาอังกฤษ STUDY OF THE EFFECT OF ANTIBIOTICS ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF *Escherichia coli* TS008 USING LIGHT MICROSCOPY

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่นสหกิจศึกษาโปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.20 %

ลงชื่อ.....อภิรักษ์.....สุดแสวง.....
(นายอภิรักษ์ สุดแสวง)
นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร.วิมลมาศ บุญมี อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบสหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริง และมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
(ดร.วิมลมาศ บุญมี)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้