สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การแยกและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยซีทส์ทางทะเล

น.ส.เมชยา ปรีชากวิน

น.ส.สุภาพร พัฒนะวิริยะศิริกุล

ปพ.
มาตรา
25ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 72580
วัน,เดือน,ปี 20 มิ.ย. 2550

b 11768156
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolation and Anti-microbial activities of marine actinomycetes

Mechaya Prechakawin

Suphaporn Pattanaviriyasirikul

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the

Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การแยกและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยซีทส์ทางทะเล

นักศึกษา นางสาวเมชยา ปรีชากวิน

นางสาวสุภาพร พัฒนะวิริยะศิริกุล

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.จิตติ ท่าไว

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผ.ศ.วีนา ชูโชติ	
กรรมการ อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์	
กรรมการ ดร.จิตติ ท่าไว	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การแยกและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยซีทส์ทางทะเล

นักศึกษา นางสาวเมชยา ปรีชากวิน

นางสาวสุภาพร พัฒนะวิริยะศิริกุล

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2549

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.จิตติ ท่าไว

บทคัดย่อ

ในการศึกษาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ได้ 20 ไอโซเลต คือ LT 1-13, LT 1-14, LT 3-12, LT 3-17, LT 3-20, LT 3-21, LT 3-25, POR 4-2, POR 4-3, POR 4-4, POR 4-5, POR 4-6, POR 4-7, POR 4-8, ROK 1-2, ROK 1-4, ROK 1-16, ROK 1-17, HAR 1-8 และ HAR 2-12 ซึ่งแยกจากตัวอย่างดินและตะกอนดินใต้ทะเล บริเวณ เกาะห้า จ.พังงา, เกาะรอกใน จ.ตรัง, เกาะปอและเกาะลันตา จ.กระบี่ เชื้อแอคติโนมัยซีทส์เหล่านี้สามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ น้ำหมักของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์เหล่านี้ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ เอทิลอะซีเตต และ เอ็น-บิวทานอล สารสกัดหยาบที่ได้ในแต่ละส่วนถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ซึ่งได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Candida albicans* ATCC 10231 ด้วยวิธี Agar Disc Diffusion จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดจากน้ำหมักในชั้นเอทิลอะซีเตตมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้อย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Isolation and Anti-microbial activities of marine actinomycetes

Name Miss Mechaya Prechakawin

Miss Suphaporn Pattanaviriyasirikul

Department Applied Biology Faculty of Science

Program Industrial Microbiology

Academic Year 2006

Special Project Advisor Dr.Chitti Thawai

Abstract

In the course of our investigation for bioactive metabolites of the actinomycetes. Twenty actinomycete strains, LT 1-13, LT 1-14, LT 3-12, LT 3-17, LT 3-20, LT 3-21, LT 3-25, POR 4-2, POR 4-3, POR 4-4, POR 4-5, POR 4-6, POR 4-7, POR 4-8, ROK 1-2, ROK 1-4, ROK 1-16, ROK 1-17, HAR 1-8 and HAR 2-12 were isolated from marine soils and sediments that' collected from Har island, Pangnga province; Roknai island, Trang province; Por and Lunta island, Krabi provinces. These actinomycete strains could be devided into six groups using the morphological and cultural characteristics. The fermentation broth of these strains was extracted with two organic solvent; ethyl acetate and n- butanol. The crude extract from each part of fermentation broth were tested for antimicrobial activities against six genera of tested microorganisms, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Candida albicans* ATCC 10231, using agar disc diffusion method. The results showed that the crude ethylacetate extract from all fermentation broth of actinomycete strains significantly inhibited the growth of the tested microorganisms.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงงานพิเศษ ในหัวข้อเรื่องการศึกษาการคัดแยกและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยซีทส์ทางทะเล โครงงานพิเศษนี้จะไม่สามารถลุล่วงไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.จิตติ ท่าไว อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้คำปรึกษา ความรู้ต่างๆ เกี่ยวกับการทดลอง ตลอดจนตรวจทานแก้ไขรูปเล่มโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ประธานกรรมการ และกรรมการตามลำดับที่กรุณาสละเวลาตรวจทานและพิจารณาโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องต่างๆ ในการทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และผู้ที่มีอุปการคุณที่กรุณาอบรมสั่งสอน เป็นกำลังใจ ให้คำปรึกษาและคอยเป็นห่วงและขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆ ทำให้โครงงานพิเศษสำเร็จเป็นได้ด้วยดี

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวเมชยา ปรีชากวิน
นางสาวสุภาพร พัฒนะวิริยะศิริกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	จ
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ	48
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	51
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	60
เอกสารอ้างอิง	62
ภาคผนวก	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะเชื้อ Nocardioform actinomycetes	6
2	ลักษณะโคโลนีและเส้นใยของสกุล *Norcardia*	6
3	ลักษณะสกุล *Dermatophilus*	7
4	ลักษณะสกุล *Actinoplanetes*	7
5	ลักษณะสกุล *Micromonospora*	8
6	ลักษณะสกุล *Actinoplanes*	8
7	ลักษณะเชื้อ *Streptomyces* spp.	8
8	ลักษณะสกุล *Streptosporangium*	9
9	ลักษณะของเชื้อ *Microbispora*	9
10	ลักษณะของเชื้อ *Thermoactinomyces*	10
11	แสดงตำแหน่งที่ยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ออกฤทธิ์ต่อเซลล์แบคทีเรีย	22
12	แสดงโครงสร้างของยา Tetracycline	25
13	แสดงโครงสร้างของยา Oxytetracycline	26
14	แสดงโครงสร้างของ Erythromycin A	26
15	แสดงโครงสร้างของ Roxithromycin	27
16	แสดงโครงสร้างของ Spiramycin	27
17	แสดงโครงสร้างของ Vancomycin	28
18	แสดงโครงสร้างของ Streptomycin	29
19	แสดงโครงสร้างของ Neomycin	30
20	แสดงโครงสร้าง Paromomycin	31
21	แสดงโครงสร้างของ Kanamycin	32
22	แสดงโครงสร้างของ Amikacin	33
23	แสดงโครงสร้างของ Gentamicin	34
24	แสดงโครงสร้างของ Spectinomycin	34
25	แสดงแผนผังการสกัดสารจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์	50
26	แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-12	52
27	แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	52
28	แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-21	53
29	แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
30 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-2	54
31 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	54
32 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-17	54
33 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	54
34 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-25	55
35 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	55
36 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-5	56
37 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	56
38 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 1-13	74
39 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	74
40 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 1-14	74
41 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	74
42 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-17	74
43 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	74
44 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-20	75
45 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	75
46 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-3	75
47 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	75
48 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-4	75
49 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	75
50 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-6	76
51 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	76
52 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-7	76
53 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	76
54 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-8	76
55 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	76
56 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-2	77
57 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	77
58 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-4	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
59 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	77
60 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-16	77
61 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	77
62 แสดงการเจริญของไอโซเลต HAR 1-8	78
63 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	78
64 แสดงการเจริญของไอโซเลต HAR 2-12	78
65 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	78
66 แสดงผลการทดสอบของไอโซเลต POR 4-3, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9341	79
67 แสดงผลการทดสอบของไอโซเลต POR 4-3, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	79
68 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 1-14, LT 3-25 และ LT 3-21 กับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923	80
69 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633	80
70 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922	80
71 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231	81
72 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-17, LT 1-13 และ LT 3-12 กับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	81
73 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-20, LT 3-21, POR 4-3, LT 3-25 และ POR 4-2 กับเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9341	82
74 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-20, LT 3-21, POR 4-3, LT 3-25 และ POR 4-2 กับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923	82
75 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-20, LT 3-21, POR 4-3, LT 3-25 และ POR 4-2 กับเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633	82
76 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-4, POR 4-5, POR 4-8, POR 4-6 และ POR 4-7 กับเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922	83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

77 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต ROK 1-2, ROK 1-4, HAR 1-8, ROK 1-17 และ ROK 1-16 กับเชื้อ *Candida albican* ATCC 10231 83

78 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* 84

79 แสดงลักษณะของ *Pseudomonas aeruginosa* 85

80 แสดงลักษณะของ *Candida albicans* 85

81 แสดงลักษณะของ *Bacillus subtilis* 86

82 แสดงลักษณะของ *Micrococcus luteus* 87

83 แสดงลักษณะของ *Staphylococcus aureus* 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงชนิดของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ	14
2	แสดงจำนวนสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ สามารถผลิตได้ในแต่ละสายพันธุ์	15
3	ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ	36
4	แสดงข้อมูลเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ 20 ไอโซเลต	51
5	แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 1	52
6	แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 2	53
7	แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 3	53
8	แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 4	54
9	แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 5	55
10	แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 6	56
11	แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion ในชั้นของสิ่งสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต	57
12	แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion ในชั้นของสิ่งสกัดหยาบเอ็น-บิวทานอล	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

แอคติโนมัยซีทส์ จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีร้อยละ G+C ในดีเอนเอสูง (higher G+C) "แอคติโนมัยซีทส์" เดิมมาจากภาษากรีก คำว่า "aktis" แปลว่ารัศมี ซึ่งรวมกับคำว่า "mykes" ที่แปลว่าเชื้อรา เนื่องมาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏให้เห็นนั่นเอง

ในอดีตแอคติโนมัยซีทส์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มระหว่างแบคทีเรีย และรา แต่ปัจจุบันถูกจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียเนื่องจากเซลล์เป็นแบบไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Pendey และคณะ, 2002)

ในธรรมชาตินั้นมีเชื้อแอคติโนมัยซีทย์เจริญอยู่หลายชนิด โดยแหล่งที่พบเชื้อนั้นส่วนหนึ่งได้จากดินและมีการนำมาใช้ประโยชน์สำหรับการผลิตยาปฏิชีวนะเพื่อใช้ประโยชน์กับมนุษย์ อย่างไรก็ตามเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่ได้จากแหล่งน้ำนั้นยังไม่ค่อยเป็นที่รู้จักและยังมิได้มีผู้ทำการสำรวจมากนัก (D. Dhanasekaran และคณะ, 2005)

ประโยชน์ของแอคติโนมัยซีทส์ที่รู้จักกันดีคือ สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ จากข้อมูลพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจาก แอคติโนมัยซีทส์ (71.1%) เชื้อรา (18.2%) และแบคทีเรียชนิดอื่น (10.7%) โดยจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดเป็นเชื้อในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอคติโนมัยซีทส์ทั้งหมด

โดยปกตินั้นคนมักจะไม่ได้มุ่งความสนใจเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทางทะเล โดยทั่วไปมักคิดว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่บนบก การคัดแยกเชื้อจากแหล่งที่มาจากน้ำมักพบว่าเป็นเชื้อที่ถูกชะล้างลงไปและได้นำมาตั้งข้อสังเกตถึงการมีชีวิตรอดของเชื้อในสภาวะนั้น ๆ (Cross T., 1981) การคัดแยกเชื้อจากทะเลมักได้เชื้อจากบริเวณชายฝั่งหรือโขดหินในทะเลมากกว่า มีการสำรวจเพียงสองสามครั้งที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีอยู่ในมหาสมุทร (Zobell CE., 1946)

แอคติโนมัยซีทส์สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกระบวนการเมตาบอลิซึมที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ ซึ่งช่วงทศวรรษที่ผ่านมาแอคติโนมัยซีทส์กลายมาเป็นแหล่งของสารปฏิชีวนะที่สำคัญที่สุด ในช่วงปี ค.ศ. 1960 ถึง 1970 การค้นพบสารปฏิชีวนะจากแอคติโนมัยซีทส์มีมากถึงร้อยละ 75-80 ของการค้นพบสารปฏิชีวนะทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสกุล *Streptomyces* ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับสกุลอื่นๆ ในอันดับเดียวกัน (Coyne, 1999)

ปัจจุบันมีสารอนุพันธ์จากสารปฏิชีวนะเหล่านี้ประมาณ 130 -140 ชนิด ถูกใช้ในการเภสัชกรรม นอกจากนั้นประมาณ 15 -20 ชนิด ถูกนำมาใช้ในการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำมาทำยาปราบศัตรูพืช และยาป้องกันศัตรูพืช (Moncheva และคณะ, 2002) การค้นพบยาชนิดต่างๆ ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิดมีประวัติความเป็นมายาวนาน ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นสารทุติยภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(secondary metabolites) ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์และพืชซึ่งอาจได้จากการผ่าเหล่า(mutation) หรือจากวิวัฒนาการ หรือได้จากกระบวนการ detoxification การมีแหล่งจุลินทรีย์ที่ไม่จำกัดจะเพิ่มโอกาสในการค้นพบสารทุติยภูมิที่มีโครงสร้างหลากหลาย หรือสารทุติยภูมิชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ปัจจุบันมีการค้นพบสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายหลายชนิดจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่หายากหลายสกุล

เนื่องจากในปัจจุบันนี้เชื้อก่อโรคได้พัฒนาตัวให้สามารถทนต่อยาต้านจุลินทรีย์ได้มากขึ้น ทำให้การรักษาผู้ป่วยโรคติดเชื้อนั้นเป็นไปได้ยากเนื่องจากยาต้านจุลินทรีย์ชนิดเดิม ๆ ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันไม่สามารถยับยั้งหรือฆ่าจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีนัก อีกทั้งผู้ป่วยบางรายก็แพ้ต่อยาต้านจุลินทรีย์บางชนิดทำให้ทางเลือกในการใช้ยามีน้อยลง ดังนั้นการค้นหาจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่จากแหล่งอาศัยที่แปลกจึงเป็นความหวังสำคัญ ที่จะสามารถค้นพบจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีโครงสร้างแตกต่างไปจากเดิมได้ ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีโครงสร้างใหม่นี้อาจมีประโยชน์ในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารทุติยภูมิที่ได้มาจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์มีความสำคัญทางการแพทย์เป็นอย่างมาก เพราะสามารถสร้างสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีในการต่อต้านจุลินทรีย์ ไวรัสและมะเร็ง ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากดินและตะกอนดินในทะเลทางภาคใต้ โดยในการศึกษาครั้งนี้อาจจะพบเชื้อแอคติโนมัยซีทส์สายพันธุ์ใหม่และมีแนวโน้วในการสร้างสารปฏิชีวนะชนิดใหม่เนื่องจากทำการแยกจากดินตะกอนตัวอย่างในแหล่งที่ยังมีการสำรวจศึกษาน้อย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการคัดแยกเชื้อ คัดเลือกเชื้อและการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การพัฒนาเพื่อการผลิตยาต้านจุลินทรีย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตะกอนดินใต้ทะเล
2. เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้
3. เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. ทำการแยกและเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีความสามารถในการสร้างสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากตะกอนดินใต้ทะเลในแหล่งที่น่าสนใจ
2. ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือก
3. ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถแยกเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้
2. สามารถทราบถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของสารทุติยภูมิที่สกัดจากน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้

1.5 ขั้นตอนการทำโครงงานพิเศษ

1. การเก็บตัวอย่าง และการคัดแยกเชื้อ
    1.1 การเก็บตัวอย่าง
    1.2 การคัดแยกเชื้อ
2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ
3. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค
    2.1 การเลี้ยงเชื้อและสกัดสารทุติยภูมิ
    2.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ลักษณะและธรรมชาติของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์

แอคติโนมัยซีทส์เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในดินทั่วไป พบว่าจำนวนประชากรของเชื้อจุลินทรีย์ในดินร้อยละ10-50 คือ เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ตามกองปุ๋ยหมักหรือวัตถุเน่าเปื่อย ดินตะกอนใต้น้ำ ใต้ทะเลสาบ ทั้งในดินชั้นบนและดินชั้นล่างหรือแม้แต่ในส่วนลึกของหน้าดิน ปัจจัยที่มีผลต่อประชากรของแอคติโนมัยซีทส์ ได้แก่ ลักษณะทางกายภาพของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และความเป็นกรด-ด่างของดิน (Goodfellow และ Williams, 1983) แอคติโนมัยซีทส์เป็นเชื้อที่พบได้ส่วนใหญ่ในดิน ซึ่งมีมากกว่าล้านสายพันธุ์ที่สามารถพบได้ในดินที่อุดมสมบูรณ์ โดยเชื้อเหล่านี้สามารถมีชีวิตอยู่ได้จากการนำสารอาหารที่มีอยู่ในดินมาใช้ โดยปรกติเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จะไม่สร้างสปอร์และจะสร้างเพียงสภาวะแวดล้อมที่เอื้อประโยชน์ต่อการแตกและยื่นออกไปของเส้นใย สภาวะแวดล้อมดังกล่าว เช่น ความสัมพันธ์กับจุลินทรีย์ชนิดอื่น สารอาหารที่มีอยู่ อุณหภูมิ และความชื้น นอกเหนือจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์แล้วยังมีเชื้อชนิดอื่นอีกที่อยู่ในดิน ประกอบด้วย แบคทีเรีย รา และอาณาจักรของ protista โดยเชื้อทั้งหลายเหล่านี้มีประโยชน์ต่อความสมดุลย์ของระบบนิเวศน์ เนื่องจากในดินมีเชื้ออยู่หลายชนิดการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จึงจำเป็นต้องทำการกำจัดเชื้อตัวอื่นออก (Shiniji Miyadoh, 1997)

แอคติโนมัยซีทส์จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์เป็นแบบไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Prokaryotic cell) มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างราและแบคทีเรีย ดังนี้

ลักษณะของแอคติโนมัยซีทส์ที่คล้ายคลึงกับรา

1. เส้นใยของแอคติโนมัยซีทส์ชั้นสูงจะแตกสาขาคล้ายเส้นใยของเชื้อรา

2. แอคติโนมัยซีทส์หลายกลุ่มจะสร้างเส้นใยที่เจริญอยู่บนอากาศ (aerial mycelium) ซึ่งตรงปลายจะมีโคนิเดีย(conidia) คล้ายกับเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา

3. การเจริญของแอคติโนมัยซีทส์ ในอาหารเหลวไม่ค่อยจะปรากฏว่าทำให้เกิดสีขุ่น (turbidity) อันเนื่องมาจากการแขวนลอยของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว เช่น แบคทีเรีย แต่แอคติโนมัยซีทส์จะเจริญแบบกลุ่มก้อน

4. การเพิ่มจำนวนของแอคติโนมัยซีทส์จะคล้ายกับเชื้อรา (epically) ส่วนการเพิ่มจำนวนของพวกแบคทีเรียจะเป็นแบบทวีคูณ (exponential)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของแอคติโนมัยซีทส์ที่คล้ายคลึงกับแบคทีเรีย

1. มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันคือ จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.2 μm

2. ส่วนที่ขาดออกเป็นท่อน ๆ (fragment) จะมีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียในกลุ่ม Mycobacterium และ Coryneform ไม่ว่าจะเป็นรูปร่างการติดสีย้อมและลักษณะทางสรีระวิทยา

3. ถูกทำลายได้โดยแบคเทอริโอฝาจและสารปฏิชีวนะประเภทเดียวกันกับที่ทำลายแบคทีเรีย

4. เป็นเซลล์ชั้นต่ำที่ยังไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (prokaryotes)

5. ผนังเซลล์ไม่มีไคตินหรือเซลลูโลส แต่เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (polymer) ของน้ำตาลกรดอะมิโน ซึ่งคล้ายกับผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก (งามนิจ, 2537)

แอคติโนมัยซีทส์เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและอยู่ในอันดับ *Actinomycetales* พบอยู่ทั่วไปในแหล่งดิน แหล่งน้ำ ปุ๋ยหมัก พบได้ทั้งในเขตร้อนและเขตหนาวเจริญได้ในดินที่เป็นกลางหรือเป็นด่างมากกว่าในดินที่เป็นกรด เชื้อชนิดนี้ในธรรมชาติมีบทบาทสำคัญ คือ ทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สารหลายชนิดและมีความสำคัญทางการแพทย์และทางอุตสาหกรรม โดยสามารถนำมาผลิตสารที่มีประโยชน์หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ วิตามิน เอนไซม์ เป็นต้น เป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่ผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส สารฆ่าแมลง สารปราบวัชพืช รวมไปถึงสารต่อต้านมะเร็งและสารกดระบบภูมิคุ้มกัน (Goodfellow และคณะ, 1988)

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์จัดอยู่ในอาณาจักรของแบคทีเรีย อยู่ในวงศ์ Actinobacteria สามารถแบ่งได้เป็นเป็น 11 วงศ์ (families) คือ *Actinomycetaceae*; *Actinoplanaceae*; *Bifidobacteriaceae*; *Frankiaceae*; *Micromonosporaceae*; *Mycobacteriaceae*; *Nocardiaceae*; *Corynebacterineae*; *Micrococcineae*;*Propionibacterium*และ*Streptomycetaceae* (www.en.wikipedia.org/wiki/Actinomycetes) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถสร้างสายเซลล์ที่แตกกิ่งก้านได้ ในบางวงศ์สายเซลล์จะพัฒนาเป็นเส้นใยคล้ายเชื้อราแต่มีขนาดเล็กกว่าโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 0.5 - 2.0 ไมโครเมตร สามารถสร้างสายเซลล์ที่แตกกิ่งก้านได้และในบางวงศ์พบว่าสามารถสร้างสปอร์บนเส้นใยอากาศ (aerial hypha) ได้ สปอร์อาจมีลักษณะเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายที่มีจำนวนสปอร์ต่าง ๆ กัน สายของสปอร์อาจมีลักษณะตรง เป็นวงหรือขดเป็นเกลียวก็ได้ สายของสปอร์อาจจะเกิดเดี่ยว ๆ จากเส้นใยหรือเกิดเป็นกลุ่มจากจุดเดียวกันของเส้นใย (verticillate) และบางสกุลจะมีสปอร์เกิดอยู่ภายใน sporangium (Buchanan และ Gibbon, 1974)

การจัดจำแนกเชื้อแอคติโนแบคทีเรีย (Actinobacteria) ทำได้โดยใช้ 3 ลักษณะดังต่อไปนี้ ลักษณะแรก การจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานเคมี (Chemotaxonomy) เป็นการตรวจความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ เช่น peptidoglycan กรดไขมัน soprenoidquinone cytochrome และสัดส่วนของเบส (base compositon) ลักษณะที่สอง DNA-DNA reassociation เป็นการวัดความคล้ายคลึง (similarity) ระหว่างดีเอนเอสายเดี่ยวของสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงระดับสกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะที่สาม การหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA genesทั้งสามวิธีที่กล่าวมานั้น เมื่อใช้ร่วมกันจะทำให้การจัดจำแนกมีความถูกต้องแม่นยำ ซึ่งเรียกการใช้ทั้งสามวิธีร่วมกันนี้ว่า "polyphasic taxonomy"

<u>การจัดกลุ่มของแอคติโนมัยซีทส์</u> แบ่งเป็น 8 กลุ่ม ดังนี้

1. Nocardioform actinomycetes

มีลักษณะที่ต่างกันอย่างหลากหลาย substrate mycelium จะแตกหักออกเป็นท่อนสั้นๆ และบางสกุลสร้างเส้นใยเจริญบนอากาศ ที่ปลายมี arthrospore ประกอบด้วยสมาชิกสกุลต่างๆ ที่มี wall chemotypes แตกต่างกันหรือการมี mycolic acid เป็นองค์ประกอบที่ผนังเซลล์ หรือลักษณะอื่นๆ แบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อยดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 1 ผนังเซลล์มี mycolic acid เป็นองค์ประกอบ

กลุ่มย่อยที่ 2 *Pseudonorcardia* และสกุลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

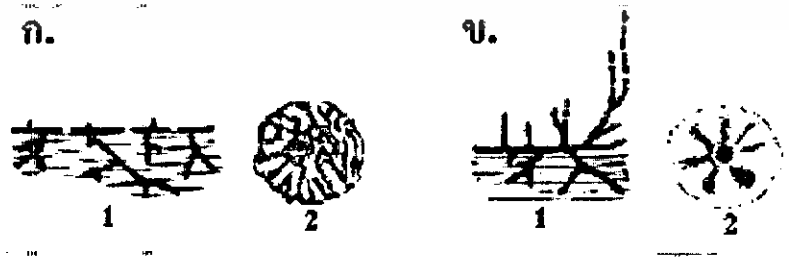
กลุ่มย่อยที่ 3 *Norcardioides* และ *Terrabacter*

กลุ่มย่อยที่ 4 *Promicromonospora* และสกุลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

ภาพที่ 1 ลักษณะเชื้อ Nocardioform actinomycetes

ก. *Norcardia* spp. ที่เส้นใยเจริญในอาหาร แตกหักเป็นท่อนสั้น ๆ และมีการสร้างเส้นใยอากาศอย่างจำกัด บนปลายเส้นใยจะมี arthrospore ต่อกันเป็นสาย

ข. *Rhodococcus* spp. ซึ่งเส้นใยเจริญในอาหารจะแตกหักเป็นท่อนสั้นๆ อย่างรวดเร็ว เซลล์ที่เกิดจากการแตกหักจะเปลี่ยนรูปร่างเป็นรูปกลมและโคโลนีประกอบด้วยกลุ่มของ coccoid cell



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีและเส้นใยของสกุล *Norcardia*

ก. มีเฉพาะเส้นใยเจริญในอาหาร (1) และโคโลนีคล้ายหนังสัตว์ (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. มีเส้นใยเจริญบนอากาศบนปลายเส้นใยจะมี arthrospore ต่อกันเป็นสายและเส้นใยเจริญในอาหาร

2. สกุลต่างๆ ที่สร้าง multiculocular sporangia

เส้นใยเจริญในอาหารจะแบ่งตามยาวและตามขวางหลายระนาบ จึงทำให้ได้สปอร์ค่อนข้างกลม เคลื่อนที่ได้ เช่น สกุล *Dermatophilus* หรือเคลื่อนที่ไม่ได้ เช่น สกุล *Frankia*

ภาพที่ 3 ลักษณะสกุล *Dermatophilus*

1. มีเฉพาะเส้นใยเจริญในอาหารและสปอร์เคลื่อนที่ได้
2. โคโลนีผิวเรียบคล้ายโคโลนีแบคทีเรียทั่วไป แต่แข็งกว่าเนื่องจากไม่สร้างเส้นใยเจริญบนอากาศ

3. *Actinoplanetes*

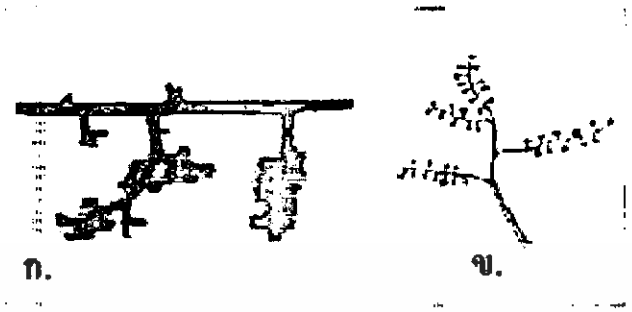
เส้นใยเจริญในอาหารไม่แตกหักเป็นท่อน ๆ อาจสร้างเส้นใยเจริญบนอากาศบ้างเล็กน้อยหรือไม่สร้าง และสร้างสปอร์เคลื่อนที่ภายใน sporangium หรือสร้างสปอร์ไม่เคลื่อนที่เดี่ยว ๆ เช่น สกุล *Micromonospora* หรืออาจสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสาย ผนังเซลล์มี meso-DAP และ glycine เป็นองค์ประกอบ และ whole cell hydrolysates มี arabinoseและ xylose เป็นองค์ประกอบ

ภาพที่ 4 ลักษณะสกุล *Actinoplanetes*

ก. *Actinoplanes* spp. สร้างอัปสปอร์รูปร่างกลม (globose sporangium) บนผิวของโคโลนีและปลดปล่อยสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (motile spore)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. *Dactylosporangium* spp. อัปสปอร์มีรูปร่างเป็นแท่ง (tabular sporangium) ภายในมีสปอร์เคลื่อนที่ได้และสร้าง aleuriospore บนเส้นใยเจริญในอาหารมีลักษณะกลม



ภาพที่ 5 ลักษณะสกุล *Micromonospora*

ก. *Micromonospora* สร้างสปอร์ 1 อันบนปลายเส้นใยเจริญในอาหาร

ข. ภาพขยายของเส้นใยเจริญในอาหาร

ภาพที่ 6 ลักษณะสกุล *Actinoplanes*

ก. ลักษณะเส้นใยเจริญในอาหารและเส้นใยเจริญบนอากาศของสกุล *Actinoplanes*

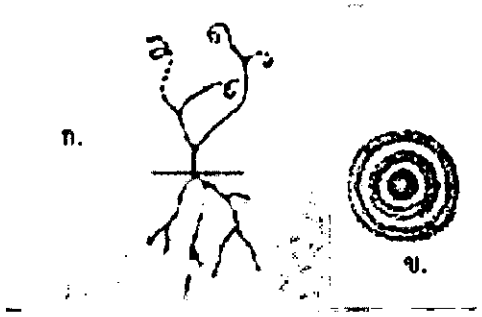
ข. สปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (motile spore)

ค. ลักษณะ sporangium และสปอร์เคลื่นที่ได้ของสกุล *Actinoplanes*

4. *Streptomycetes* และสกุลอื่น

สมาชิกมีลักษณะต่างกันอย่างหลากหลาย ผนังเซลล์มี L-DAP และ glycine เป็นองค์ประกอบสร้าง เส้นใยเจริญในอาหารและเส้นใยเจริญบนอากาศซึ่งที่ปลายมี conidia ต่อกันเป็นสายยาว ได้แก่ *Streptomyces* และ *Streptoverticillum* และสกุลที่ไม่สร้าง aerial mycelium หรือสร้างเล็กน้อย สร้างสปอร์หลายรูปแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 ลักษณะเชื้อ *Streptomyces* spp.

ก. *Streptomyces* spp. สร้างสปอร์บนเส้นใยเจริญบนอากาศเท่านั้น

ข. โคโลนีมีคล้ายขนสัตว์มีลักษณะไม่ต่อเนื่อง

5. *Maduromycetes*

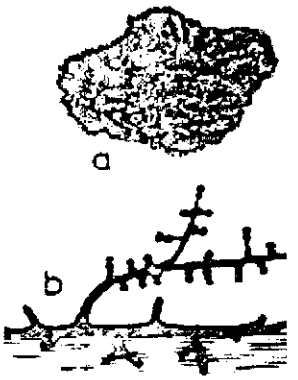
สร้างเส้นใยเจริญในอาหารที่ไม่แตกหักเป็นท่อน และสร้างเส้นใยเจริญบนอากาศซึ่งสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสาย ประกอบด้วย 2 สปอร์ *Microtetraspore* ประกอบด้วย 4 สปอร์ *Actinomadura* มีจำนวนสปอร์แตกต่างกันบนแต่ละสายสปอร์ สกุลที่สร้างสปอร์เคลื่อนที่ได้ใน sporangium ได้แก่ *Planobisspora* , *Planomonospora* , *Spirillospora* และสกุล *Streptosporangium* สร้างสปอร์ไม่เคลื่อนที่ใน sporangium ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP และ cell hydrolysate เป็น madurose

ภาพที่ 8 ลักษณะสกุล *Streptosporangium*

ก. ลักษณะเส้นใยเจริญในอาหารและเส้นใยเจริญบนอากาศของสกุล *Streptosporangium*

ข. ลักษณะ sporangium และสปอร์ไม่เคลื่อนที่ของสกุล *Streptosporangium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



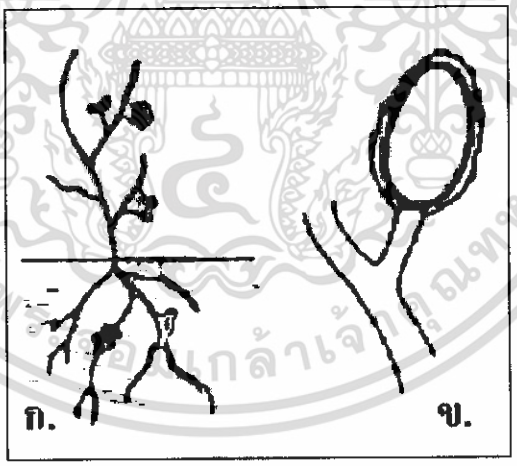
ภาพที่ 9 ลักษณะของเชื้อ *Microbispora*

a. โคโลนีของ *Microbispora*

b. *Microbispora* สร้างสปอร์ 2 อันบนปลายเส้นใยเจริญบนอากาศและไม่พบสปอร์ที่เส้นใยเจริญในอาหาร

6. *Thermoactinomyces* และสกุลอื่นๆ ที่คล้ายกัน

สร้างเส้นใยเจริญในอาหารที่ไม่แตกหักเป็นท่อนๆ สร้างเส้นใยเจริญบนอากาศ สกุลที่สร้างเอ็นโดสปอร์ 1 อัน บนทั้งเส้นใยเจริญในอาหารและเส้นใยเจริญบนอากาศเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง (thermophile) ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP ซึ่งไม่มีกรดอะมิโนและน้ำตาล



ภาพที่ 10 ลักษณะของเชื้อ *Thermoactinomyces*

ก. Thermomonospora สร้าง aleuriospora บนทั้งเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ ภาพขยายของ aleuriospora

7. *Thermoactinomyces*

ประกอบด้วยสกุลเดียวคือ *Thermoactinomyces* สร้างเส้นใยเจริญในอาหารที่ไม่แตกหักเป็นท่อนๆ สร้างเส้นใยเจริญบนอากาศ สกุลที่สร้างเอ็นโดสปอร์ 1 อัน บนทั้งเส้นใยเจริญในอาหารและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นใยเจริญบนอากาศ เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP ซึ่งไม่มีกรดอะมิโนและน้ำตาล

8 สกุลอื่นๆ

ประกอบด้วย 3 สกุลที่ไม่สามารถจัดไว้ในทั้ง 7 กลุ่ม ได้แก่ *Glycomyces* , *Kitasatosporangia* และ *Saccharothrix*

(www.ilti.kku.ac.th/ams/57/317316/pdf/317316/11isolation_and_identification_of_Actinomycetes.pdf #search=%22Microbispora%22)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Shirling และ Gottlieb. 1966, 1969 และ Buchanan และ Gibbons. 1974)

1. สีของกลุ่มสปอร์ที่เจริญเต็มที่แล้ว จำแนกเชื้อเป็น 7 กลุ่มตามสีของสปอร์ ซึ่งอยู่บนเส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารเมื่อเจริญเต็มที่แล้ว ได้แก่ สีขาว สีเทา สีเหลือง สีแดง สีน้ำเงิน สีเขียว และสีม่วง
2. สัณฐานวิทยาของสายสปอร์ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ
   2.1 Rectus Flexibillis (RF) สายสปอร์มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ
   2.2 Spiral (S) สายสปอร์มีลักษณะเป็นเกลียว แบ่งเป็น
      2.2.1 Rectinaculum Apertum ลักษณะของสายสปอร์เป็นรูปของวงกลมเปิดหรือขดเป็นวงซ้อนกันในลักษณะที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางกว้าง (5-10 ไมโครเมตร)
      2.2.2 Spira เป็นสายสปอร์แบบสั้นๆ ที่ขดเป็นวงซ้อนกันขนาดเล็ก (compact coils) หรืออาจมีขนาดยาวก็ได้
3. ลักษณะผิวสปอร์เมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์ จำแนกได้ 4 ลักษณะคือ ผิวเรียบ (smooth) ผิวขรุขระ (warty) ผิวเป็นหนาม (spiny) และผิวมีขน (hairy)

ลักษณะการเจริญและสรีรวิทยา (Shirling และ Gottlieb. 1966, 1969 และ Buchanan และ Gibbons. 1974)

1. การสร้าง melanoid pigment เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำ สีน้ำตาล น้ำตาลเข้ม หรือดำ เชื้อสามารถสร้างสีขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อประเภทสารอินทรีย์ที่มีโปรตีน หรืออนุพันธ์ของโปรตีนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย
2. การใช้แหล่งอาหารคาร์บอน สารประกอบคาร์บอน ได้แก่ D-glucose , D-xylose , L-arabinose , D-fructose , D-galactose , D-manitol , Inositol และ sucrose
3. การใช้แหล่งอาหารไนโตรเจน เช่น ศึกษาจากการรีดิวซ์ไนเตรต การย่อยโปรตีนในน้ำนม เป็นต้น
4. การสร้างสารประกอบเคมีที่จำเพาะ ได้แก่ ความสามารถในการสร้างวิตามิน เอนไซม์ และสารปฏิชีวนะ ซึ่งพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. สามารถผลิตสารประกอบเคมีที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะสารปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยซีทส์ที่จริงแล้วเป็นแบคทีเรียซึ่งเจริญเป็นกลุ่มเส้นใย มีเส้นใยยาวเรียวแตกกิ่งก้านอยู่ภายในดินทั้งหมด ยกเว้นสกุล *Actinomyces* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แอคติโนมัยซีทส์โดยมากจะพบในดินและเกี่ยวข้องกับ coryneform bacteria และ mycobacteria เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Schlegel, 1997) ส่วนมากจะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ผลิตสปอร์เดี่ยว คู่หรือสายโซ่ ที่เรียกว่า conidia ซึ่งอยู่บนเส้นใย มีเพียงส่วนน้อยที่อยู่ในสภาพของสปอร์ในโครงร่างพิเศษที่เรียกว่า sporangium

แอคติโนมัยซีทส์ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบอิสระ (saprophytes) เจริญบนอินทรีย์สารที่เน่าเปื่อยผุพัง บางชนิดเป็นพาหะนำโรคแก่มนุษย์ เช่น *Mycobacterium leprae* สาเหตุของโรคเรื้อน และ *M. tuberculosis* เป็นสาเหตุของวัณโรค แอคติโนมัยซีทส์อื่น ๆ เป็นพาหะนำโรคของสัตว์และพืช แต่แอคติโนมัยซีทส์ที่พบในดินไม่เป็นอันตราย บางชนิดมีประโยชน์ เช่น แอคติโนมัยซีทส์ในสกุล Frankia จะอยู่ร่วมกับพุ่มไม้และต้นไม้ใหญ่ช่วยในการตรึงไนโตรเจน

แอคติโนมัยซีทส์เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนสำหรับการเจริญ ฉะนั้นจะโตได้ไม่ดีในดินที่เปียกและไม่ทนต่อความแห้งแล้ง ยกเว้นสปอร์ เพราะ 30- 90 เปอร์เซ็นต์ของแอคติโนมัยซีทส์จะสามารถคืนสภาพได้หลังจากที่อยู่ในสภาวะที่แห้งแล้ง แอคติโนมัยซีทส์โตได้เล็กน้อยที่ 5 องศาเซลเซียส ในการคัดแยกเชื้อจะแยกได้จากดินที่มีความร้อนมากกว่าดินที่มีความเย็นเนื่องจากสปอร์ที่คืนสภาพได้พบในดินที่มีความร้อนมากกว่าดินที่มีความเย็น แต่ไม่ได้หมายความว่ามันจะชอบอุณหภูมิสูง อุณหภูมิเหมาะสม คือ 28-37 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดโตได้ที่ 55-65 องศาเซลเซียส ในกองปุ๋ยหมักซึ่งมีจำนวนถึง 10^5 Propagules/g จำนวนและชนิดของแอคติโนมัยซีทส์ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ภายในดิน เช่น อุณหภูมิของดินชนิดของดิน ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ปริมาณอินทรียสาร พืชที่อาศัยในดิน ความลึกของหน้าดินและปริมาณความชื้น แอคติโนมัยซีทส์จะพบน้อยในดินที่ชุ่มน้ำมีออกซิเจนต่ำ ดินจากป่าที่มีพีเอชต่ำจะมี *Streptomyces* เล็กน้อยและไม่ค่อยพบเชื้อในสกุลของ *Actinoplanes* และ *Streptosporangium* ในการเก็บตัวอย่างดินที่ดีนั้นควรเก็บจากผิวหน้าดินลึกลงไปประมาณ 4 เซนติเมตร ควรทำการวิเคราะห์ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง ถ้าเก็บไว้นานเกินไปจะทำให้ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ลดลง ดินควรเก็บไว้ในถุงโพลีเอธิลลีน (polyethylene) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หรือ ต่ำกว่านั้นถึงจะดีที่สุด (Labeota, 1990)

2.2 ปฏิกิริยาการสร้างและสลายสารขั้นปฐมภูมิ และสารขั้นทุติยภูมิ

กระบวนการเมทาบอลิซึมของสารขั้นปฐมภูมิเป็นกระบวนการที่จำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตทุกชนิดเนื่องจากเกี่ยวข้องกับ catabolic , amphibolic และ anaerobic pathway ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดการสังเคราะห์สารตัวกลาง (biosynthetic intermediates) พลังงานและการเปลี่ยนสารเริ่มต้น (precursore) ไปเป็นโมเลกุลใหญ่ที่จำเป็น เช่น กรดนิวคลิอิค (deoxyribonucleic acid และ ribonucleic acid) โปรตีน ไขมัน และพอลิแซ็กคาร์ไรด์ (Martin และ Demain, 1980) กระบวนการเมทาบอลิซึมของสารทุติยภูมิเป็นกระบวนการที่ไม่เกี่ยวข้องหรือจำเป็นสำหรับการเจริญของสิ่งมีชีวิตนั้น ถึงแม้จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยในการอยู่รอดก็ตาม (Bu 'Lock, 1951) ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของสารทุติยภูมิเรียกว่า Secondary metabolite หรือ Idiolitee (Walker, 1974)

สารทุติยภูมิจะมีส่วนประกอบเป็นอย่างไรจะขึ้นอยู่กับเอนไซม์ และปัจจัยของสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง เนื่องจากเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึมของสารทุติยภูมิมีความจำเพาะต่ำ (low specificity) ทำให้การสังเคราะห์เป็นไปได้หลายวิถี จึงทำให้ผลผลิตสุดท้ายมีหลายชนิด แต่สำหรับกระบวนการเมทาบอลิซึมของสารขั้นปฐมภูมิจะมีความจำเพาะมากและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องก็จะจำเพาะต่อซับสเตรทมากเช่นกันจึงเกิดผลผลิตเพียงชนิดเดียว ซึ่งถ้ามีความผิดพลาดในการสังเคราะห์ส่วนประกอบของเซลล์ที่มีความสำคัญเกิดขึ้นเซลล์มักจะตาย แต่สำหรับกระบวนการเมทาบอลิซึมของสารทุติยภูมิแล้วจะไม่มีความสำคัญต่อเซลล์ แต่ได้สารเมตาโบไลต์ที่เปลี่ยนไป (modified metabolite) ซึ่งยังคงรักษาคุณสมบัติทางชีวภาพ (biological activity) ของสารนั้นไว้ได้

2.3 สารปฏิชีวนะ

คำว่า Antibiotic เดิมมาจากคำว่า Antiobiosis ซึ่ง Voillemin ได้เป็นผู้นำมาใช้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1889 หมายถึง สภาพสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ขับสารบางอย่างออกมาทำลายการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ต่อมาในปี ค.ศ. 1940 Waksman และคณะได้พบ Actinomycin ที่ผลิตจากเชื้อแอคติโนมัย-ซีทส์และในปี ค.ศ. 1945 พบสาร Streptomycin จากเชื้อ *Streptomyces griseus* ซึ่งพบว่า สารนี้มีผลยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบ และแบคทีเรียติดสีทนกรด (Acid-fast bacteria) ในปี ค.ศ. 1945 Waksman เรียกสารที่สร้างจากจุลินทรีย์ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อว่า Antibiotic ซึ่งมีความหมายว่าสารเคมีชนิดหนึ่งที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น และมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ (Pelzar, 1986)

สารปฏิชีวนะเป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึม (metabolism) ของจุลินทรีย์บางชนิดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและ/หรือการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้โดยใช้เพียงความเข้มข้นต่ำ ๆ เท่านั้น (Waksman, 1961)

สารปฏิชีวนะเป็นสารเมตาโบไลท์ (metabolites) ที่ไม่ได้ผลิตขึ้นมาเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่ผลิตขึ้นมาเป็นพิเศษเพื่อใช้ในการอยู่รอดของจุลินทรีย์นั้น ๆ สารที่ผลิตขึ้นนี้จะเรียกว่า สารทุติยภูมิ ซึ่งผลิตขึ้นในช่วงหลังการเจริญเติบโตโดยวิถี (pathway) ต่าง ๆ เชื้อแอคติโนมัยซีทส์เป็นแหล่งของสารปฏิชีวนะตามธรรมชาติ โดยเชื้อแอคติโนมัยซีทส์มากกว่า 80 จีนัส ที่ค้นพบว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ ซึ่งในการผลิตต้องผ่านขั้นตอนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthesis) เช่น การผลิต streptomycin ต้องผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ถึง 30 ขั้นตอน เป็นต้น (Coyne, 1999) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารที่เป็นประโยชน์ชนิดอื่น ได้แก่ วิตามิน เอนไซม์ รงควัตถุ เป็นต้น แต่เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่ายเนื่องจากการกลายพันธุ์และสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งมีผลอย่างมากต่อความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารปฏิชีวนะจัดเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ซึ่งส่วนใหญ่มากกว่า 6,000 ชนิด ผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ เชื้อราและแบคทีเรียชนิดอื่น ร้อยละ 71.1 , 18.2 และ 10.7 ตามลำดับ เชื้อในแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดคือ *Streptomyces* โดยผลิตได้ร้อยละ 70 (ประมาณ 8,000 ชนิด) เชื้อ *Micromonospora* ผลิตได้ร้อยละ 5 (740 ชนิด) เชื้อ *Nocardia* ผลิตได้ร้อยละ 3.7 (156 ชนิด) นอกจากนี้ยังพบ *Bacillus* , *Micropolyspora* (Pelza, 1986) , *Streptoverticilium*, *Actinoplanes* , *Actinomadura* , *Streptosporangium* , *Saccharopolyspora* , *Dactylosporangium* , *Chiania* , *Nocardiopsis* , *Ampullariella* , *Amycolatopsis* , *Kitasatosporia* , *Pseudonocardia* , *Saccharothrix* , *Microtetraspor* , *Microcellobosporia* , *Streptoalloteichus* , *Actinosporangium* , *Kibdelosporangium* , *Actinosynnema* , *Planobispora* , *Microbispora* , *Planomonospora* และ *Saccharomonospora* (Berdy, 2005)

จุลินทรีย์แต่ละสกุลสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นจำนวนของสารปฏิชีวนะที่มาจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

Microbial group	Number of Antibiotics Produced
Fungi	
Phycomycetes	14
Ascomycetes	299
Penicillium	123
Aspergillus	115
Basidiomycetes	140
Imperfect Fungi	315
Bacteria	
Pseudomonas sp.	171
Enterobacteria	36
Micrococci	16
Lactobacilli	28
Bacilli	338
Miscellaneous bacteria	274

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ (ต่อ)

Microbial group	Number of Antibiotics Produced
Actinomycetes	
Mycobacterium sp.	4
Actinoplanes sp.	18
Streptomyces sp.	3,872
Micromonospora sp.	41
Thermoactinomyces sp.	17
Nocardia sp.	48
Other actinomycetes species	2,078

ที่มา : Coyne, 1999

เชื้อราและเซลล์ชั้นต่ำที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Prokaryotes cell) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ แต่จากตารางแสดงให้เห็นว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ได้มากจากเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ โดยจำนวนสารปฏิชีวนะที่ได้มาจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์สายพันธุ์ต่าง ๆ แสดงให้เห็นในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เชื้อแอคติโนมัยซีทส์สามารถผลิตได้ในแต่ละสายพันธุ์

Streptomycetaceae		***Thermomonosporaceae***	
Streptomyces	8000	*Aclinomadura*	345
Streptoverticillium	258	*Saccharothrix*	68
Kitasatosporia	37	*Microbispora*	54
Chainia	30	*Actinosynnema*	51
Microellobosporia	11	*Nocardiopsis*	41
Nocardioides	9	*Microtetraspora/Nonomuria*	26/21
		Thermomonospora	19
		Micropolyspora/Faenia	13/3
		Thermoactinomyces	14
		Thermopolyspora	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เชื้อแอคติโนมัยซีทส์สามารถผลิตได้ในแต่ละสายพันธุ์ (ต่อ)

Micromonosporaceae *(Actionplanetes)*		*Thermoactinopolyspora*	1
Micromonospora	740		
Actinplanes	248	***Mycobacteriacrae*** *(Actionbacteria)*	
Dactylosporangium	58	*Nocardia*	357
Ampullariella	9	*Mycobacterium*	57
Glycomyces	2	*Arthrobacter*	25
Catenuloplanes	3	*Brevibacterium*	17
Catellatospora	1	*Proactinomyces*	14
		Rhodococcus	13
Pseudonocardiaceae			
Saccharopolyspora	131	***Other*** **(unclassified) species**	
Amycalotopsis/Nocardia	120/357	*Actinosporabgium*	30
Kibdellosporangium	34	*Microellobosporia*	11
Pseusonocardia	27	*Frankia*	7
Amycolata	12	*Westerdykella*	6
Saccharomonospora	2	*Kitasatoa*	5
Actinopolyspora	1	*Synnenomyces*	4
		Sebekia	3
Streptosporangiaceae *(Maduromycetes)*		*Elaktomyces*	3
Streptosporangium	79	*Excelsospora*	3
Streptoalloteichus	48	*Waksmania*	3
Spirillospora	11	*Alkalomyces*	1
Planobispora	10	*Catellatospora*	1
Kutzneria	4	*Erythrosporangium*	1
Planomonospora	2	*Streptoplanospora*	1
		Microechinospora	1
		Salinospora	1

ที่มา : Berdy (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์นี้ถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติซึ่งให้ประโยชน์และมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลาย ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติพบอยู่ทุกหนทุกแห่งในชีวิตประจำวัน สารประกอบทุกชนิดที่เป็นสารตัวกลางที่มาจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตนั้นล้วนเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมากมายที่ใช้ในชีวิตประจำวันได้มาจากพืช สัตว์ เชื้อราและแบคทีเรีย เช่น ฝ้าย กาแฟ น้ำเชื่อมจากต้นเมเปิ้ล และน้ำตาลซึ่งเป็นตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืช ที่มาจากสัตว์ เช่น ขนแกะ หนังสัตว์ฟอกและงาช้าง จากยีสต์ เช่น เพนนิซิลิน และที่มาจากเชื้อรา เช่น เห็ดต่าง ๆ ที่นำมารับประทาน ส่วนสารปฏิชีวนะและอย่างอื่น ๆ ที่เกี่ยวกับยาส่วนใหญ่จะได้จากแบคทีเรีย

ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นสิ่งที่ทำมาจากกระบวนการในการเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่ได้รับ (catabolic) นำมาใช้ในการสร้างผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่าง ๆ และกระบวนการทางเคมีโดยเอนไซม์ในเซลล์ ซึ่งกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า metabolic pathway ในการจำแนกหมวดหมู่ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสามารถจำแนกคร่าว ๆ ได้ 2 หมวดหมู่ ได้แก่ สารปฐมภูมิและสารทุติยภูมิ

สารปฐมภูมิเป็นสารประกอบและผลิตภัณฑ์จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตโดยสิ่งมีชีวิตสร้างสารนี้ขึ้นมาเพื่อใช้ในการดำรงชีวิต เจริญเติบโต และใช้ในการสร้างสารอื่น ๆ ต่อไป ตัวอย่างเช่น เซลลูโลสในพืช

สารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้นเพื่อนำมาใช้สื่อสารหรือใช้ป้องกันตัวเองหรือใช้ในการผสมพันธุ์ เราสามารถจำแนกสารทุติยภูมิได้โดยใช้โครงสร้างทางเคมีหรือวิถีของการสร้างสารผลิตภัณฑ์ สารทุติยภูมิที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้นจะมีอยู่ด้วยกันประมาณ 2-3 ชนิด ได้แก่ terpenes, polyketide, phenol, iridols และ steroids Terpenes, polyketide และ nonribosomal peptides เป็นสาร 3 ชนิดในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำรวจพบได้ในปัจจุบันและถูกนำมาใช้เป็นยา

Terpenes เป็นสารชนิดหนึ่งของ hydrocarbon ที่มาจาก isoprene C_5H_8 terpenes นี้ถูกสร้างมาจาก 2 วิถีที่เป็นไปได้คือ Mevalonic acid pathway หรือ Mevalonic acid independent pathway ตัวอย่างของ terpenes ที่นำมาใช้เป็นยา เช่น ยาต้านมาลาเรีย และยาต้านมะเร็ง

Polyketide มีโมเลกุลที่นำมาใช้เป็นยาปฏิชีวนะ ยากดภูมิคุ้มกัน ตัวลดคลอเรสเทอรอล ยาต้านเชื้อราและยารักษามะเร็ง polyketide จะไม่ได้มีการจัดกลุ่มเข้าไว้ด้วยกันเพราะมีโครงสร้างพื้นฐานร่วมกันดังนั้นการจัดหมู่ของมันจึงใช้วิถีการผลิตสารของพวกมันเป็นตัวแบ่งกลุ่ม โดยวิถีที่เกิดขึ้นจะสามารถระบุได้จากความจำเพาะต่อคีโตนที่เป็นสารตัวกลาง ในวิถีของการสร้างสาร polyketide มีเอนไซม์ที่สำคัญ คือ Polyketide Synthases (PKS) ซึ่งสาร polyketide มีต้นกำเนิดมาจากโซ่ β- polyketone หรือสารอื่นที่ได้จากการเกิดการจับคู่หัวต่อหาง (head – to – tail) ของ acetate ซึ่งจะเรียกกระบวนการนี้ว่า Acylpolymalonate pathway ตัวอย่างของสารที่มาจาก polyketide เช่น กรดไขมัน acytylenes , waxes , prostaglandins , anthraquinones , flavonoids และ tatracyclines เป็นต้น และ polyketide ที่พบบ่อยในด้านการทำยาจะเป็น macrolide polyketide ซึ่ง macrolide นี้เป็นกลุ่มย่อยของ polyketide ที่มี lactone ring ขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
72580

Nonribosomal peptide จะสร้างในจุลินทรีย์ โดยใช้ NRPS (Nonribosomal Peptide Synthase) ชีวสังเคราะห์ของ nonribosomal peptide มีความคล้ายคลึงกับชีวสังเคราะห์ของ polyketide มาก โดยเริ่มจากเพปไทด์พัฒนาและเคลื่อนที่มารวมกันเป็นเส้นของผลิตภัณฑ์โดยผ่านปฏิกิริยาการใช้สารอาหาร (catabolic) และสุดท้ายเกิดการ cyclized ขึ้น สารที่ได้เช่น Vancomycin, Penicillin และ Bleomycin (Yehuda, 2005)

2.4 ยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial drugs) หมายถึง ยาที่มีฤทธิ์ทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ อันได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย ริกเกตเซีย เชื้อรา เชื้อปรสิต และโปรโตซัว ซึ่งมีทั้งสารสังเคราะห์ และสารที่ได้มาจากธรรมชาติ ยาใดที่ได้มาจากสารที่ผลิตโดยจุลชีพ (ได้แก่ เชื้อรา และแบคทีเรีย) มีฤทธิ์ฆ่า หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพชนิดอื่น มีชื่อเรียกเฉพาะว่า ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) ซึ่งรวมทั้งสารที่เกิดจากการกึ่งสังเคราะห์ (semisynthetic) ที่มีลักษณะคล้ายสารจากธรรมชาติด้วย ตัวอย่างเช่น ยากลุ่มเพนิซิลลิน ยากลุ่มเตตราไซคลิน ยากลุ่มแม็กโครไลด์ (อีริโทรไมซิน) ยากลุ่มควิโนโลน (นอร์ฟล็อกซาซิน) กลุ่มยาฆ่าเชื้อรา (คีโตโคนาโซล) เป็นต้น (www.thailabonline.com/drug/drug13.htm)

ยาปฏิชีวนะมาจากคำว่า antibiotic ในภาษาอังกฤษ แปลตรงตัวว่าสารต่อต้านการดำรงชีวิต โดยข้อเท็จจริงหมายถึงสารที่ผลิตตามธรรมชาติโดยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เรียกว่า จุลินทรีย์ประเภทหนึ่งแล้วมีอำนาจยับยั้งหรือทำลายชีวิตของจุลินทรีย์อีกประเภทหนึ่งอันเป็นลักษณะของการรักษาสมดุลระบบนิเวศน์ของสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ เช่น ยาปฏิชีวนะชื่อว่าเพนนิซิลลิน ผลิตโดยเชื้อราชนิดหนึ่งแล้วมีผลทำลายชีวิตของเชื้อแบคทีเรียอื่นที่อยู่ใกล้เคียง มนุษย์นำประโยชน์ตรงนี้มาประยุกต์เป็นยารักษาโรคติดเชื้อ ซึ่งคำว่าโรคติดเชื้อนี้แปลเอาความได้ว่า เป็นความเจ็บป่วยที่เกิดจากการรุกรานของเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย มนุษย์จะคัดแยกสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อต้นเหตุโรคมาปรุงแต่งเป็นรูปแบบยาเตรียมต่าง ๆ เช่น ยาเม็ด ยาแคปซูล ยาฉีด แล้วให้กับผู้ป่วยเมื่อเกิดโรคติดเชื้อที่คาดว่าหรือพิสูจน์ว่าเกิดจากเชื้อต้นเหตุดังกล่าว ยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้กันมักจะมีชื่อทั่วไปที่ลงท้ายด้วยคำว่ามัยซิน เช่น Erythromycin และ Gentamycin ลงท้ายด้วยคำว่าซิลลิน เช่น Penicillin และ Ampicillin ลงท้ายด้วยคำว่าซัยคลิน เช่น Tetracycline และ Doxycycline เป็นต้น แต่มียาปฏิชีวนะหลายตัวที่อยู่นอกเหนือกฎเกณฑ์นี้ เช่น Cholamphinicol, Polymycin และ Vancomycin เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีศัพท์อีกหลายคำที่เรามักจะได้ยิน ได้ฟังหรือพูดกัน เช่น ยาต้านจุลชีพ ยาต้านแบคทีเรีย ยาต้านเชื้อรา ยาต้านไวรัส ยาฆ่าเชื้อ ยาแก้อักเสบ ศัพท์เหล่านี้เป็นคำที่มาจากการมองยารักษาโรคติดเชื้อในแง่มุมที่ต่างกัน ยาต้านจุลชีพเป็น คำรวมที่หมายถึงยาต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อโรคซึ่งได้มาจากแหล่งต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นจากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ทางเคมีก็ตาม ยาต้านแบคทีเรีย ยาต้านเชื้อรา ยาต้านไวรัส หมายความถึงยาต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อต้นเหตุโรคส่วนใหญ่ซึ่งแยกเป็นประเภทต่าง ๆ ตามชื่อที่บ่งบอก

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาฆ่าเชื้อ หมายถึง ยาต่อต้านการดำรงชีวิตของเชื้อโรคที่ใช้นอกร่างกายและเป็นคำหนึ่งที่คนทั่วไปมักใช้เรียกแทนยารักษาโรคติดเชื้อ ยาแก้อักเสบเป็นอีกคำหนึ่งที่คนทั่วไปใช้เรียกแทนยาปฏิชีวนะซึ่งคำนี้สื่อความหมายที่ไม่ถูกต้อง เนื่องจากชื่อของโรคติดเชื้อส่วนใหญ่มักจะเรียกตามชื่อเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีการติดเชื้อแล้วตามด้วยคำว่าอักเสบ เช่น หลอดลมอักเสบ ปอดอักเสบ โพรงจมูกอักเสบ เป็นต้น ทำให้คนทั่วไปจึงเรียกยารักษาโรคติดเชื้อว่ายาแก้อักเสบ ทั้งที่โดยแท้จริงแล้วซึ่งยาปฏิชีวนะไม่มีผลแก้ไขตรงจุดการอักเสบนี้ ยาเพียงแต่ทำลายเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุอย่างหนึ่งของอาการอักเสบ โดยข้อเท็จจริงแล้วการอักเสบเป็นอาการบาดเจ็บที่เกิดจากความบอบช้ำของเนื้อเยื่ออันมีได้หลายสาเหตุ เช่น กล้ามเนื้ออักเสบจากการฉีกขาดของกล้ามเนื้อ ไขข้ออักเสบจากการสะสมของกรดยูริค เป็นต้น ดังนั้นคำว่ายาแก้อักเสบควรใช้กับยาที่รักษาอาการอักเสบดังกล่าวจริง ๆไม่ควรใช้กับยารักษาโรคติดเชื้อเพราะจะทำให้เข้าใจจุดประสงค์ของการใช้ยาผิดไปจากความเป็นจริง

อย่างไรก็ตาม แม้การเรียกชื่อจะต่างกันแต่ยาเหล่านี้มีวัตถุประสงค์ในการใช้เหมือนกัน คือ ทำลายหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคที่รุกรานให้ลดน้อยอยู่ในวิสัยที่กลไกป้องกันตนของมนุษย์ เช่น ภูมิต้านทาน สามารถกำจัดมันได้ และในบรรดาจุลินทรีย์ที่สามารถทำลายโดยการใช้ยาปฏิชีวนะนั้นได้แก่ แบคทีเรียส่วนใหญ่ เชื้อราหลายชนิดและไวรัสบางชนิด (www.gotoknow.org/blog/berm493620/49968)

ตามหลักแล้ว ยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agent) เป็นกลุ่มยาที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือทำลายจุลินทรีย์ สามารถนำมาใช้ใน 2 ลักษณะ คือ

1. เพื่อควบคุมจุลินทรีย์ภายนอกร่างกาย
   - Antiseptic
   - Disinfectant
2. เพื่อรักษาโรคติดเชื้อภายในร่างกาย
   - Antibacterial drugs/ antibiotics

ยาต้านจุลชีพที่ใช้ภายนอกร่างกาย

ยากลุ่มนี้จะมีกลไกการออกฤทธิ์ไม่เลือกสรร เช่น สามารถตกตะกอนโปรตีน ละลายไขมัน ฯลฯ ทำให้มีผลต่อเชื้อโรคประเภทต่าง ๆ รวมทั้งอาจมีผลต่อเซลล์ของโฮสต์ด้วย จึงมีการนำมาใช้ใน 2 ลักษณะ คือ

1. เพื่อทำลายเชื้อในสิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นพวกวัสดุ สิ่งของ เรียกว่า Disinfectant
2. พวกที่ใช้กับผิวกายหรือส่วนนอกร่างกายเรียกว่า Antiseptic ทั้งสองชนิดนี้มักเรียกรวมกันว่ายาฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อภายในร่างกาย

ยาในกลุ่มนี้จะมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เลือกสรรต่อเชื้อจุลชีพมากกว่าที่จะมีผลต่อโฮสต์ ยาในกลุ่มนี้จึงมีชื่อเรียกว่า antimicrobial chemotherapeutic agent ซึ่งเป็นที่เรียกกันสั้นๆ ว่ายาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพอาจได้จากเชื้อจุลชีพหรือได้จากการสังเคราะห์ ซึ่งเป้าหมายแรกเริ่มของการผลิตมาเพื่อใช้รักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เป็นหลัก มียาบางตัวที่อาจให้ผลต่อการรักษาเชื้อโปรโตซัว หรือในรายที่เกิดโรคจากเชื้อไวรัส ยาจะช่วยป้องกันการติดเชื้อแทรกซ้อนที่จะตามมาจากเชื้อแบคทีเรียได้ ดังนั้นความสำเร็จในการใช้ยาปฏิชีวนะรักษาโรค ก็ขึ้นอยู่กับการที่จะสามารถวินิจฉัยโรคให้ได้ใกล้เคียงตรงกับเป้าหมายที่สุด

ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึง สารประกอบที่สร้างขึ้นโดยจุลชีพชนิดใดชนิดหนึ่งซึ่งมีฤทธิ์สามารถยับยั้งหรือขัดขวางการเจริญเติบโต ของจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่ง หรือมีฤทธิ์ทำลาย จุลชีพกลุ่มนั้น ๆ

แหล่งที่มา ได้จากจุลชีพในกลุ่มต่อไปนี้

1. **Actinomycetales group** เช่น เชื้อ *Streptomyces* spp. เช่น ยา Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, Streptomycin และ Tetracycline เป็นต้น

2. **Aspergillales group.** เช่น ผลิตจากเชื้อรา *Penicillium* spp. ได้ยา Penicillin เป็นต้น

3. **Bacillaceae group** เช่น ผลิตจากแบคทีเรียชนิด *Bacillus* spp. ได้ยา Polymyxin และ Colistin เป็นต้น

www.natres.psu.ac.th/Department/AnimalScience/drug/PowerPoint/Antimicrobial_drugs/282,11, Slide 11

2.5 ประเภทของยาต้านจุลชีพ

2.5.1 แบ่งตามขอบเขตการออกฤทธิ์ของยา

2.5.1.1 ออกฤทธิ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ เชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีม่วงเนื่องจากผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ peptidoglycan เช่น Penicillins

2.5.1.2 ออกฤทธิ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ เชื้อแบคทีเรียย้อมติดสีแดงเนื่องจากผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ lipopolysaccharide เช่น Aminoglycosides

2.5.1.3 กลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์แคบ (Narrow spectrum) คือ ยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้งที่เป็นรูปกลมและรูปแท่ง เช่น Penicillin และ Vancomycin รวมทั้งยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย แกรมลบรูปแท่ง เช่น ยาในกลุ่ม Aminoglycosides

2.5.1.4 กลุ่มที่มีการออกฤทธิ์ปานกลาง (Intermediate spectrum) คือ ยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิด เช่น Cephalosporins บางตัว

2.5.1.5 กลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (Broad spectrum) คือ ยาที่มีผลออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมและแกรมลบรูปแท่ง เช่น Ampicillin และTetracycline

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 แบ่งตามคุณสมบัติของยา

2.5.2.1 Bactericidal : ยาออกฤทธิ์ต่อ ผนังเซลล์ เซลล์เมมเบรน DNA หรือยาที่ความเข้มข้นสูงทำให้มีฤทธิ์ฆ่าจุลชีพ (99.9% ของเซลแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงถูกฆ่าในเวลาที่กำหนด)

2.5.2.2 Bacteriostatic : ยาออกฤทธิ์ต่อขบวนการสร้างโปรตีนหรือยาที่ความเข้มข้นต่ำทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโต (reversibl echange) และจะต้องอาศัยกลไกในการต้านทานโรคของร่างกายมาช่วยในการกำจัดเชื้อร่วมด้วย

2.5.3 แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยา

2.5.3.1 กลุ่มที่มีฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังหุ้มเซลล์ ยากลุ่มนี้ประกอบด้วย Penicillin, Cephalosporin, Vancomycin, Bacitracin และ Cyclocerine ยากลุ่มนี้มีผลทำลายผนังหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแตกและตายทันที จึงจัดเป็นยากลุ่ม Bactericidal action

2.5.3.2 กลุ่มที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ยากลุ่มนี้มีผลทำให้ของเหลวภายในเซลล์ซึมผ่านออกนอกเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด ยากลุ่มนี้อาจจัดได้ว่าเป็นยาที่มีพิษต่อคนมากที่สุด เพราะเยื่อหุ้มเซลล์ของคนสามารถถูกทำลายโดยยากลุ่มนี้ได้เช่นกันแต่ด้วยคุณสมบัติที่แตกต่างบางประการจึงส่งผลให้ยาออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียได้ดีกว่าคน

2.5.3.3 กลุ่มที่มีผลขัดขวางการสร้างโปรตีน ยากลุ่มนี้มีผลยับยั้งการทำงานของไรโบโซมซึ่งเป็นกลจักรที่สำคัญของเซลล์ในการสร้างโปรตีน จึงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยตรง ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของภูมิต้านทานของร่างกายในการทำลายเชื้อที่เหลืออยู่ ยากลุ่มนี้แบ่งย่อยได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีผลต่อไรโบโซมชนิด 50S ได้แก่ Chloramphenicol, Clindamycin, Erythomycin และกลุ่มที่มีผลต่อไรโบโซมชนิด 30S ได้แก่ Tetracycline

2.5.3.4 กลุ่มที่มีผลทำให้ขบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียผิดปรกติ เกิดจากการที่ยาจับกับไรโบโซมชนิด 30S และทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่ผิดปรกติเป็นผลให้แบคทีเรียถูกทำลาย ยาจึงมีคุณสมบัติจัดเป็นยากลุ่ม Bactericidal action เช่น Streptomycin, Neomycin เป็นต้น

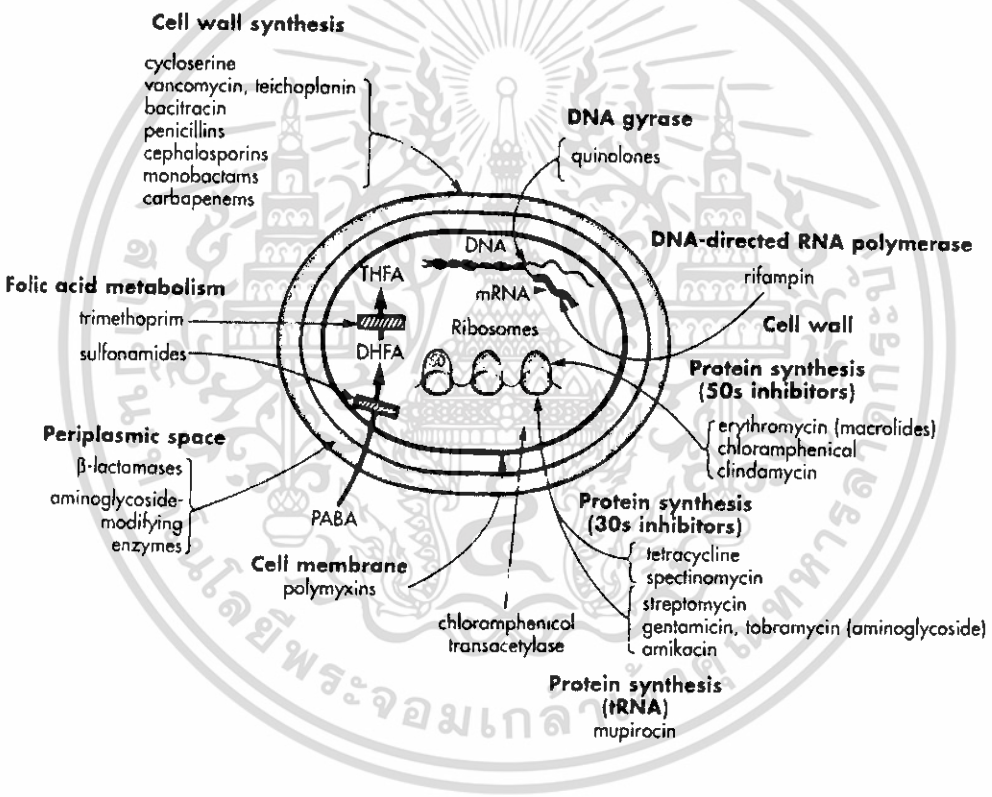
2.5.3.5 กลุ่มที่มีผลยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก ยากลุ่มนี้ทำให้เซลล์ไม่สามารถสร้าง DNA ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของแบคทีเรีย จึงมีฤทธิ์อยู่ในกลุ่ม Bacteriostatic action

2.5.3.6 กลุ่มที่ขัดขวางขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย ได้แก่ยาในกลุ่ม Sulphonamide และ Trimethoprim ซึ่งจะไปยับยั้งขบวนการเมตาบอลิซึมของกรดโฟลิค ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวต่อไปได้ ยาจึงออกฤทธิ์เป็น Bacteriostatic action

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปชนิดของกลุ่มยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์แบบ bactericidal และ bacteriostatic

Bactericidal	Bacteriostatic
Penicillins	Macrolides
Cephalosporins	Tetracyclines
Aminoglycosides	Sulfonamides & Trimethoprim
Quinolones	Chloramphenicol



ภาพที่ 11 แสดงตำแหน่งที่ยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ออกฤทธิ์ต่อเซลล์แบคทีเรีย

ที่มา : www.natres.psu.ac.th/Department/AnimalScience/drug/PowerPoint/Antimicrobial_drugs/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ชนิดของยาต้านจุลชีพ (แบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี) (กำพล, 2538)

2.6.1. กลุ่มยา Penicillins (bactericidal)

Penicillins เป็นยาปฏิชีวนะที่มีความสำคัญมากกลุ่มหนึ่ง สกัดมาจากเชื้อรา *Penicillium* ปัจจุบันสามารถผลิตและสังเคราะห์สารอนุพันธ์ได้เป็นจำนวนมาก กลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่มนี้ คือ ยาจะไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยเมื่อยาเข้าสู่เซลล์จะจับกับ Penicillin-binding proteins (PBPs) ในผนังเซลล์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Transpeptidase ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมโยงสาย petidoglycanในขบวนการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังแบ่งตัว ทำให้แบคทีเรียสร้างผนังเซลล์ไม่ได้ ยาจึงจัดอยู่ในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียโดยตรง ยากลุ่ม Penicillins มีผลต่อแบคทีเรียเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ เนื่องจากองค์ประกอบที่ต่างกันของผนังเซลล์ โดยทั่วไปเมื่อใช้ยากลุ่ม Penicillins เป็นระยะเวลานาน แบคทีเรียจะเกิดการดื้อยาซึ่งการดื้อยานี้จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นทีละน้อย กลไกของการดื้อยากลุ่ม Penicillins ได้แก่ การสร้างเอนไซม์เพนิซิลลินเนสขึ้นมาทำลายยา ซึ่งกลไกนี้เป็นกลไกที่สำคัญที่สุด กลไกอื่น ๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้ คือ การเปลี่ยนแปลงตัวจับของยาในเซลล์ซึ่งได้แก่ Penicillin-binding proteins ทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้หรืออาจเกิดการเปลี่ยนแปลง ผนังเซลล์ทำให้ยาไม่สามารถผ่านเข้าเซลล์ได้

2.6.2. กลุ่มยา Cephalosporins (bactericidal)

ยากลุ่ม Cephalosporins เป็นยากึ่งสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วย 4-membered ß-lactam ring เช่นเดียวกับกลุ่ม Penicillins ใช้รักษาโรคติดเชื้อในระบบต่าง ๆ ของร่างกายอย่างกว้างขวาง ทั้งรุนแรงและไม่รุนแรง ครอบคลุมยาในกลุ่ม Cephamycins ด้วย เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเชื้อและคุณสมบัติอื่นคล้ายคลึงกัน กลุ่มยา Cephalosporins จำแนกเป็น 4 รุ่น ตามฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ออกฤทธิ์เป็น bactericidal ต่อเชื้อแบคทีเรีย เหมือนยาในกลุ่ม Penicillins กล่าวคือ มีโครงสร้างคล้าย alanine residue จึงแย่งจับกับเอนไซม์ transpeptidase แทน alanine residue ของ peptidoglycan สายแรก ทำให้ยับยั้งการเกิด cross link กับ peptidogycan สายที่สอง ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เชื้อมีผนังเซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ เอนไซม์ที่ถูกยับยั้งโดยยาในกลุ่ม Penicillins และ Cephalosporins นี้อาจเรียกรวมๆ ว่า penicillin-binding proteins (PBPs) ยาในกลุ่ม Cephalosporins แต่ละรุ่น มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน แต่ทุกรุ่นไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Enterococcus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis* และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)

2.6.3. กลุ่มยา Macrolides (bactericidal)

เป็นกลุ่มยาที่มีผลยับยั้งการสร้างโปรตีน จึงมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย (bacteriostatic) ยากลุ่มนี้มีขอบเขตการออกฤทธิ์คล้ายกับเพนิซิลลินเหมาะสำหรับใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยมีประวัติแพ้ยาเพนิซิลลินมาก่อน ยากลุ่มนี้ที่ใช้กันมานานที่สุด ได้แก่ Erythromycin และในระยะหลังมียาที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่อีกหลายชนิด ซึ่งมีของเขตการออกฤทธิ์กว้างกว่าเดิม เช่น Roxithromycin และ Spiramycin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4. กลุ่มยา Tetracyclines (bacteriostatic)

เป็นยาที่ออกฤทธิ์กดการเจริญเติบโตของแลคทีเรียและมีขอบเขตในการออกฤทธิ์กว้าง ยาถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ดีโดยเฉพาะเวลาท้องว่าง แต่เนื่องจากยามีผลระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน จึงควรแนะนำให้ผู้ป่วยกินยาหลังอาหารมากกว่าที่จะให้ก่อนอาหาร แต่ไม่ควรกินยานี้ร่วมกับนมหรือยาลดกรด เพราะจะทำให้การดูดซึมของยาลดลงได้มาก

2.6.5. กลุ่มยา Aminoglycosides (bactericidal)

เป็นยากลุ่มที่ใช้ได้ผลดีสำหรับเชื้อแกรมลบรูปแท่ง ยกเว้นเชื้อ *Pseudomonas* และ *Bacteroides* และได้ผลดีในการรักษาเชื้อวัณโรค เชื้อทั่วไปจะมีความไวต่อยากลุ่มนี้น้อยที่สุด เพราะเป็นยาที่ใช้แพร่หลายติดต่อกันมาเป็นเวลานานจึงทำให้เกิดการดื้อยา คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของยาทั้งหมดในกลุ่มนี้คล้ายคลึงกัน ความแตกต่างจะอยู่ที่ความไวของยาต่อเชื้อและราคาเท่านั้น ในแง่การดื้อยาแบคทีเรียจะมีโอกาสดื้อยา Amikacin น้อยที่สุด เพราะในการดื้อยา Aminoglycosides สร้างเอนไซม์ขึ้นมาทำลายยาและในปัจจุบันพบว่ามีเอนไซม์หลายชนิดที่สามารถทำลายยาในกลุ่มนี้ โดยยาแต่ละชนิดอาจถูกทำลายโดยเอนไซม์ต่างชนิดกัน และ Amikacin ถูกทำลายโดยเอนไซม์น้อยชนิดที่สุดเมื่อเทียบกับยาอื่น ๆ ในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นแบคทีเรียจึงมีโอกาสดื้อต่อยา Amikacin ได้ยากที่สุดในกลุ่มนี้ ยากลุ่มนี้ถูกดูดซึมได้น้อยจากทางเดินอาหารและยาไม่สามารถซึมผ่านเข้าน้ำไขสันหลังได้ ยาจะถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะในสภาพที่ยังมีฤทธิ์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหลีกเลี่ยงการใช้ยานี้ในผู้ป่วยโรคไต

2.6.6. กลุ่มยา Sulfonamides และ กลุ่มยา Trimethoprim (bacteriostatic)

เป็นยาที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาโดยขบวนการทางเคมีจึงไม่จัดว่าเป็นยาปฏิชีวนะ เพราะไม่ได้สกัดจากเชื้อรา ยากลุ่มนี้เป็นยาต้านจุลชีพชนิดแรกที่นำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อในคน Sulfonamides ใช้ได้ผลดีเฉพาะการรักษาโรคติดเชื้อที่ไม่รุนแรงและไม่มีหนอง เพราะในกรณีที่เป็นฝีหนองฤทธิ์ของยากลุ่มนี้จะถูกยับยั้งโดยหนอง เนื่องจากยาออกฤทธิ์ได้ดีในสภาวะแวดล้อมที่เป็นด่าง ดังนั้นในภาวะที่เป็นกรด เช่น ในฝีหนอง ยาจะไม่ได้ผลในการรักษา ขณะเดียวกันยาจะซึมผ่านเข้าไปฆ่าแบคทีเรียได้ยากเพราะมีเนื้อเยื่อที่ตายแล้วและสารประเภท Fibrin ล้อมรอบบริเวณที่ติดเชื้ออยู่ เนื่องจากยานี้ได้ถูกใช้มานาน ประสิทธิภาพในการรักษาโรคจากเชื้อแกรมบวกจึงลดลงอย่างมาก ในแง่ของการดูดซึมยาจะถูกดูดซึมได้ดีมาก การกระจายของยาเป็นไปได้ดีทั่วร่างกายรวมทั้งน้ำไขสัน-หลัง ยาส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนแปลงให้หมดฤทธิ์โดยตับ และถูกขับถ่ายออกทางไต โรคที่ยังใช้ยาในกลุ่มนี้ได้ผล คือ โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ โดยเฉพาะจากเชื้อ *Escherichai coli* ใช้รักษาโรคริดสีดวงตา กามโรคพวกแผลริมอ่อน และฝีมะม่วงที่เกิดจากเชื้อ *Lymphogranuloma venerium* และใช้ระงับเชื้อในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังใช้ภายนอกในรูปของยาหยอดตาและยาเหน็บช่องคลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.7. กลุ่มอื่น ๆ: Chloramphenicol, Quinolones เป็นต้น

ยากลุ่ม Chloramphenicol เป็นยาต้านจุลชีพออกฤทธิ์กว้างและเป็นยาที่มีอันตราย ยานี้เหมาะที่จะใช้รักษาโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

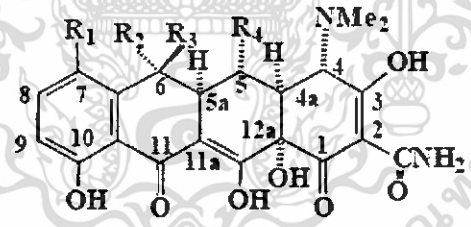
ยากลุ่ม Quinolones เป็นยาต้านจุลชีพกลุ่มใหม่ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยพัฒนาสูตรโครงสร้างจาก Nalidixic acid ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะซึ่งมีโอกาสดื้อยาได้ง่าย การเพิ่มอนุมูลฟลูออไรด์เข้าไปในโมเลกุลของ Quinolones ซึ่งมีอยู่ใน Nalidixic acid ทำให้ได้ยาซึ่งมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อทั้งแกรมบวกและแกรมลบ และเกิดปัญหาการดื้อยาได้ช้า

2.7 ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ผลิต

2.7.1 Tetracycline

เป็นยาในกลุ่มของ Tetracycline ใช้ได้ผลดีกับโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ *Mycoplasma pneumonia* ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการปอดบวมในผู้ใหญ่ เชื้อ *Vibrio Chlolera* , *Streptococcus* บางชนิด และเชื้อ *Trachoma* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคริดสีดวงตา นอกจากนี้ยังมีการนำ Tetracycline มาใช้ในการรักษาสิวและอาการท้องเดินของนักเดินทางที่เกิดจากเชื้อ *Escherichia coli*

เป็นยาที่จัดอยู่ในกลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง ผลิตได้จากเชื้อ *Streptomyces* กลไกของยาคือ ยาจะไปจับกับ A-site ที่ 30 S ทำให้ขัดขวางการเข้าจับของ tRNA เป็นผลให้เชื้อสังเคราะห์โปรตีนไม่ได้



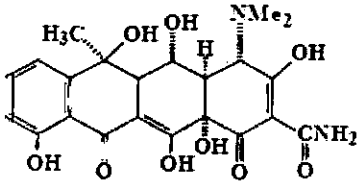
ภาพที่ 12 แสดงโครงสร้างของยา Tetracycline

ที่มา : www.makok.pharmacy.psu.ac.th/~tvimon/antibiotic-4-2005.pdf

2.7.2 Oxytetracycline

เป็นยาในกลุ่ม Tetracycline มีคุณสมบัติ กลไกการออกฤทธิ์ และขอบเขตในการใช้เหมือนกับยา Tetracycline แต่ต่างกันที่เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ได้แก่ การดูดซึม การกระจายตัวในร่างกาย เมตาบอลิสม และการขจัดออก ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เป็นผลพวงจากการที่สูตรโครงสร้างของยาที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



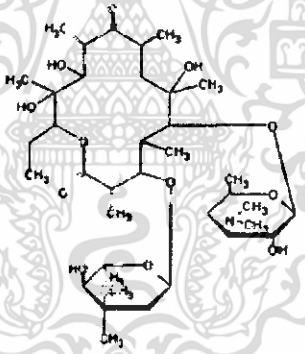
ภาพที่ 13 แสดงโครงสร้างของยา Oxytetracycline

ที่มา : www.makok.pharmacy.psu.ac.th/~tvimon/antibiotic-4-2005.pdf

2.7.3 Erythromycin

เป็นยาในกลุ่ม Macrolides ยานี้ถูกดูดซึมได้ดีที่ลำไส้เล็กแต่ตัวยาถูกทำลายได้จากกรดในกระเพาะทำให้การดูดซึมของยาลดลง ดังนั้นเพื่อที่จะให้ยานี้รับประทานได้จึงต้องเตรียมยาในรูปแคปซูลทนกรดหรือเตรียมในรูปของเกลือสเตียเรตหรือเอสโตเลต ยาถูกทำลายส่วนใหญ่โดยตับและสามารถซึมผ่านเข้าน้ำไขสันหลังได้ดีพอสมควร

Erythromycin ผลิตได้จากเชื้อ *Streptomyces* มีกลไกการออกฤทธิ์ คือ ยาจะเข้าจับบริเวณ 50S ribosomal subunit ทำให้ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อ



ภาพที่ 14 แสดงโครงสร้างของ Erythromycin A

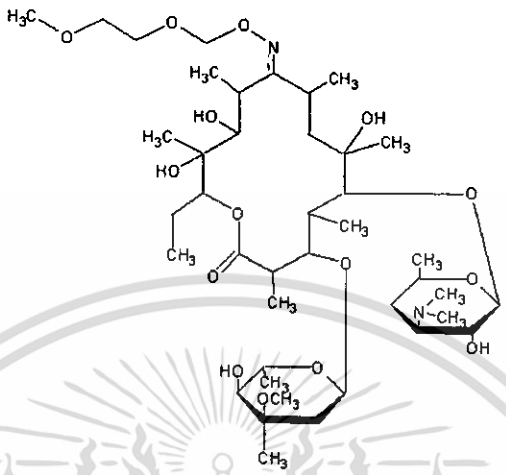
ที่มา : Yehuda, 2005

2.7.4 Roxithromycin

เป็นยาในกลุ่มของ Macrolicdes ยานี้มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินหายใจ ยาถูกเปลี่ยนแปลงโดยตับและมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ยาวกว่ายากลุ่ม Macrolides ตัวอื่น ๆ ใช้รักษาโรคไอกรน โรคติดเชื้อทางเดินหายใจ แผลริมอ่อน ฝีมะม่วง หนองในเทียม และซิฟิลิส ใช้แทน Penicillinในกรณีแพ้ Penicillin ในการรักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ ผิวหนัง หู ตา จมูก ใช้รักษาโรคติดเชื้อ *Staphylococcus* เช่น แผลอักเสบ ฝี ตุ่ม หนอง พุพอง หูอักเสบ ปอดอักเสบ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยานี้ผลิตได้จากเชื้อ *Streptomyces* มีกลไกการออกฤทธิ์ คือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยยาจะเข้าจับบริเวณ 50S ribosomal subunit ทำให้ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อ ยานี้จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดี

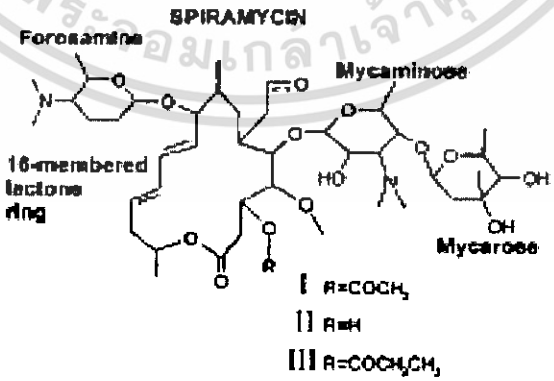


ภาพที่ 15 แสดงโครงสร้างของ Roxitromycin

ที่มา : www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Roxithromycin.png

2.7.5 Spiramycin

เป็นยากลุ่ม Macrolides ยานี้มีเฉพาะในรูปของยารับประทานเท่านั้น อาหารจะไม่มีผลต่อการดูดซึมของยา ยานี้ผลิตได้จากเชื้อ *Streptomyces* มีกลไกการออกฤทธิ์ คือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยยาจะเข้าจับบริเวณ 50S ribosomal subunit ทำให้ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของเชื้อ ยานี้จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมลบและแกรมบวก



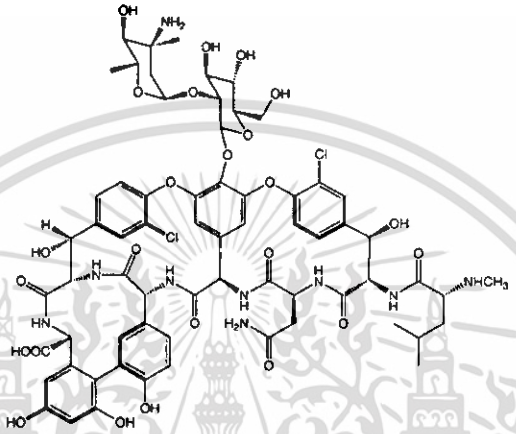
ภาพที่ 16 แสดงโครงสร้างของ Spiramycin

ที่มา : www.tuit.ut.ee/orb.aw/class=file/action=preview/id=143439/JMB2003.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.6 Vancomycin

เป็นยาที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เยื่อบุเซลล์ถูกทำลายและยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ยานี้มีผลต่อเชื้อแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่ แต่ไม่มีผลต่อเชื้อแกรมลบ เหมาะสำหรับใช้รักษาเชื้อ *Staphylococci* นอกจากนี้ยายังมีผลเสริมฤทธิ์กับ Aminoglycosides ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย การดูดซึมยาในทางเดินอาหารไม่ดีนัก เวลาฉีดเข้ากล้ามเนื้อจะทำให้ปวดมาก จึงเหมาะที่จะใช้ฉีดเข้าหลอดเลือดดำและควรปรับขนาดยาในผู้ป่วยโรคไต



ภาพที่ 17 แสดงโครงสร้างของ Vancomycin

ที่มา : www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Vancomycin.png

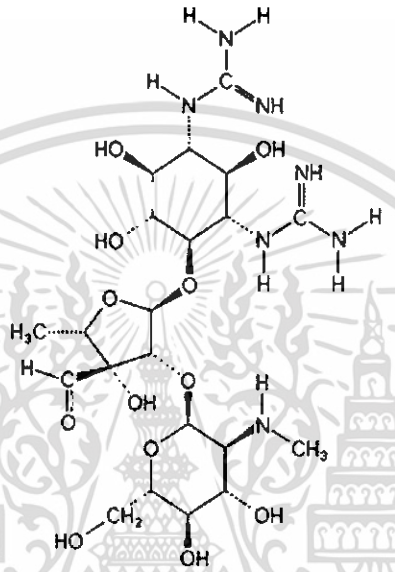
2.7.7 Streptomycin

Streptomycin sulfate มีลักษณะสีขาวไม่มีกลิ่นเป็นผง และเกิดปฏิกิริยากับความชื้นได้อย่างรวดเร็ว แต่จะไม่เกิดปฏิกิริยากับแสงและอากาศแต่จะสามารถละลายน้ำได้ดี และถ้าหากอยู่ในรูปสารละลายจะเป็นกรดเล็กน้อยหรือเป็นกลางละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์ แต่จะไม่สามารถละลายได้เลยในตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) หากว่าอยู่ในรูปสารละลายในน้ำสามารถทำการเก็บได้เลยที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยที่ไม่มีการสูญเสียคุณสมบัติต่างๆ ของสารไป แต่จะมีความเสถียรมากถ้าทำการเก็บที่ pH 4.5 ถึง 7.0 และจะมีการเสียสภาพได้เมื่อได้รับความร้อน และถ้าต้องการที่จะทำการฆ่าเชื้อ (Sterile) สามารถทำได้โดยการนำน้ำกลั่นที่ทำการฆ่าเชื้อแล้วมาผสมรวมกับ Streptomycin ซึ่งจะอยู่ในรูปที่เป็นผงที่ทำการฆ่าเชื้อ (Sterile) แล้ว โดยที่ตัวผง Streptomycin นั้นจะมีความปนเปื้อน (Impurities) ซึ่งเป็นสิ่งที่ยากในการกำจัดออกและแต่จะสามารถทำการกำจัดออกได้โดยการใส่แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) จะสามารถนำเอาความปนเปื้อน (Impurities) ออกมาได้ซึ่งจะทำให้ Streptomycin ที่ได้มีความเสถียรและสามารถทำการเก็บรักษาได้ง่าย

จุลินทรีย์ที่สามารถทำการผลิต Streptomycin ได้คือ *Streptomyces griseus* และยังสามารถทำการผลิตสารปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ ได้อีก เช่น Hydroxystreptomycin , Mannisidostreptomycin และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cyclohexmide แต่จะเป็นสารที่ไม่ค่อยได้รับความสนใจมาก และในทางการแพทย์โดยที่ Streptomycin A จะใช้เรียกแทน Streptomycin และ Streptomycin B ใช้เรียกแทน Mannisidostreptomycin โดยที่ Hydroxystreptomycin จะแตกต่างจาก Streptomycin ตรงที่จะมี Hydroxy group ตรงตำแหน่งของ hydrogen ตำแหน่งที่ 1 ของ Methyl group บนน้ำตาล Streptose Methyl group และ Mannisidostreptomycin จะมีหมู่ Mannose ที่เกาะกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bond) ตรงที่ Hydroxy group ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 4 และหมู่ n-methyl-L-glucosamine



ภาพที่ 18 แสดงโครงสร้างของ Streptomycin

ที่มา : www.alanwood.net/pesticides/streptomycin.html

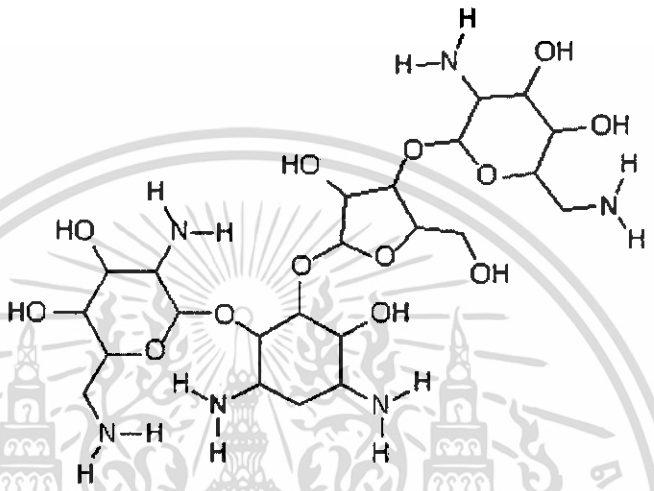
2.7.8 Neomycin

ในการค้นหายาปฏิชีวนะ (Antibiotics) ที่ไม่ก่อให้เกิดพิษหรือเป็นพิษน้อยกว่า Streptomycin นั้นได้มีการค้นพบ Neomycin ในปี ค.ศ. 1949 โดยค้นพบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถทำการผลิตได้คือ *Streptomyces fradiae* จากนั้นเป็นต้นมา Neomycin เริ่มมีความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ ในปัจจุบัน Neomycin เป็นสารปฏิชีวนะที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากในการทำการรักษาการติดเชื้อภายในทางเดินอาหาร (Gastrointestinal infection) การติดเชื้อที่เนื้อเยื่อต่างๆ (Dermatologic infections) และนอกจากนี้ยังใช้ในการผ่าตัดโดยจะช่วยในการลดการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal Flora) โดยที่ Neomycin จะมีผลต่อแบคทีเรียหลายชนิดและมีความเป็นพิษที่ต่ำและจะไม่ทำให้เกิดสภาวะภูมิคุ้มกันไวเกิน (Hypersensitivity) และจะถูกดูดซึมได้เพียงเล็กน้อยภายในทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงสามารถนำไปใช้ได้ง่ายโดยที่ไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงอื่น ๆ

Neomycin จะอยู่ในรูปของเกลือซัลเฟต โดยที่จะมีขาวหรือเป็นผลึกสีเหลืองที่มีลักษณะเป็นผงและสามารถละลายน้ำได้ดีเพราะเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น Hygroscopic สูง และสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยากับแสงได้อย่างรวดเร็ว แต่จะมีความเสถียรในช่วง pH ที่กว้างและสามารถนำไปทำการฆ่าเชื้อได้ และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของ Neomycin จะเป็น Free Base จุลินทรีย์ที่สามารถทำการผลิต Neomycin ได้คือ *Streptomyces fradiae* โดยที่ Neomycin จะอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน โดยที่จะมีสารที่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับ Neomycin คือ Neamine , Neomycin A , B และC นอกจากนี้ *Streptomyces fradiae* ยังสามารถทำการผลิตสารปฏิชีวนะอื่นๆ ได้อีกเช่น Fradicin ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรีย



ภาพที่ 19 แสดงโครงสร้างของ Neomycin

ที่มา : www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Neomycin.png

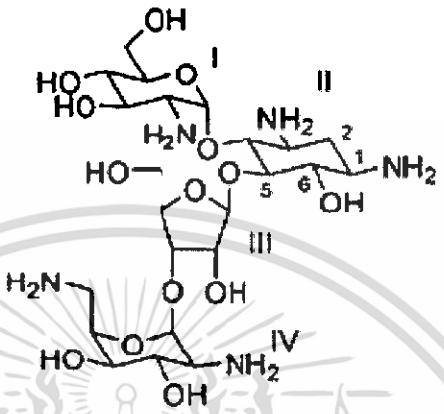
2.7.9 Paromomycin

มีการค้นพบ Paromomycin ในปี ค.ศ. 1956 โดยที่จะมีการผลิตได้โดย *Streptomyces* sp. PD 0499 โดยผลิตจาก *Streptomyces rimosus* โดยพบ *Streptomyces rimosus* จากการเก็บตัวอย่างในประเทศโคลัมเบีย อย่างไรก็ตาม Paromomycin มีความคล้ายคลึงกับ Neomycin และ Streptomycin ในเรื่องของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Antibiotic Activity) มากกว่า Oxytetracyclin ซึ่งผลิตได้โดย *Streptomyces rimosus* เช่นกัน

โครงสร้างทั่วไปของ Paromomycin ได้มีการรายงานจากการใช้เทคนิคทางโครมาโตรกราฟฟี เราจะพบว่า Paromomycin จะประกอบด้วยสองส่วนคือ Paromomycin I และ Paromomycin Π และสูตรโครงสร้างที่แน่นอนของ Paromomycin มีการค้นพบและได้รับการยืนยัน โดยการใช้เทคนิค Mass Spectrometric โครงสร้างของ Paromomycin จะมีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของ Neomycin B จะแตกต่างกันตรงที่ Paromomycin จะประกอบด้วย D-glucose แทน 6-Amino-6-Deoxy-D-Glucosamine ซึ่งจะพบใน Neomycin B โดยที่ความคล้ายกันของโครงสร้างนี้จะพบว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างสาร Paromomycin Π กับ Neomycin C โดยที่ Paromomycin มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้กว้าง และจะนิยมใช้ในการรักษาอาการเกี่ยวกับการติดเชื้อในทางเดินอาหาร (Gastrointestinal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

infection) ที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อโดยพวก *Salmonella* , *Shigella* และจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นๆ ที่อยู่ภายในทางเดินอาหารเช่น *Escherichia coli* อย่างไรก็ตามในการใช้ก็จะต้องระวังเนื่องจากในการใช้ Paromomycin กับการติดเชื้อในทางเดินอาหาร และจะพบได้ว่า Paromomycin นั้นสามารถละลายได้ดีในน้ำและมีความเสถียรต่อความร้อนและช่วงของพีเอชที่กว้าง



ภาพที่ 20 แสดงโครงสร้าง Paromomycin

ที่มา : www-ibmc.u-strasbg.fr/upr9002/westhof/PDF/2004_BFrancois_Angew.pdf

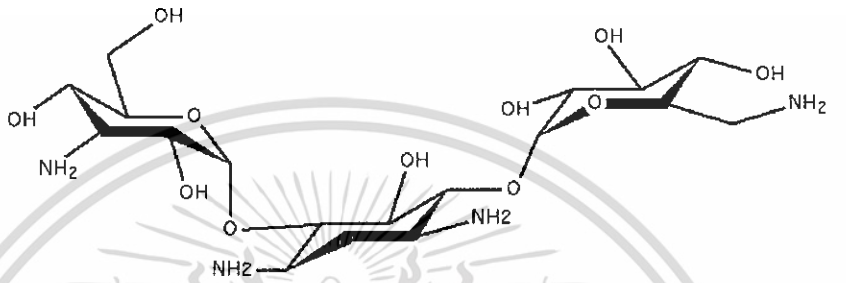
2.7.10 Kanamycins sulphate

Kanamycin สามารถทำการคัดแยกได้ในปี ค.ศ. 1957 โดยทำการคัดแยกออกมาจาก *Streptomyces kanamyceticus* โดยที่จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพกับแบคทีเรียพวก *Mycobacteria* และแบคทีเรียต่างๆ ภายในลำไส้ ซึ่ง Kanamycin มีการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียหลายชนิดจึงเป็นที่สนใจในการศึกษามากกว่าสารปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ ดังนั้นในเวลาอันสั้น Kanamycin จึงเป็นสารปฏิชีวนะที่มีความสำคัญและได้รับความนิยมอย่างมากในการใช้ในการรักษาต่างๆ

การวิจัยเกี่ยวกับกิจกรรมต่างๆ ของ Kanamycin นั้นจะมุ่งเน้นไปที่โครงสร้างของ Kanamycin ซึ่งจะทำการตรวจสอบออกมาโดยเทคนิคทางโครมาโตกราฟฟีและจากการตรวจสอบจะพบว่า *Streptomyces kanamyceticus* จะมีการสร้างสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันคือ Kanamycin A , B และ C และ Kanamycin บริสุทธิ์ที่พบในท้องตลาดนั้นจะเป็น Kanamycin A ซึ่งเป็นชนิดที่เป็นพิษน้อยที่สุด โดยที่ Kanamycin แต่ละชนิดจะแตกต่างกันตรงที่ชนิดของน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลที่จับอยู่กับ Glycosidic Oxygen ที่ตำแหน่งของคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของ Central Deoxystreptamine สารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับ Kanamycin คือ Neomycin และ Paromomycin โดยปกติแล้ว Kanamycin จะอยู่ในรูปของเกลือที่สามารถละลายน้ำได้ แต่เวลาที่ทำการใช้งานจะอยู่ในรูปของเกลือซัลเฟตซึ่งจะเป็นรูปที่ละลายน้ำได้ง่ายมากและจะมีความเสถียรต่อความร้อนและสารเคมีต่าง โดยที่ Kanamycin จะไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ทั้งกรดและเบส ภายในช่วง pH ที่ 2-11 โดยที่จะนิยมใช้ Kanamycin ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รักษาอาการติดเชื้อภายในลำไส้โดยเฉพาะการติดเชื้อที่มาจากแบคทีเรียแกรมลบต่างๆ เช่น *Klebsiella* , *Proteus* , *Serratia* และ *Enterobacter* ซึ่งจะเป็นเชื้อที่สามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้ดี และจะนิยมใช้ Kanamycin ในการเป็นสาร Antisrptic ก่อนทำการผ่าตัดต่างๆ แต่ Kanamycin จะดูดซึมได้น้อยมากภายในลำไส้ ในการใช้งานควรที่จะทำการฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อของผู้ป่วย แต่ถ้าในกรณีที่มีการติดเชื้อ ขั้นรุนแรงนั้นจะทำการฉีดเข้าเส้นเลือดดำ และจะไม่นิยมใช้ Kanamycin ในการรักษาวัณโรค เนื่องจากเชื้อ *Mycobacterium* นั้นสามารถทำการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะได้อย่างรวดเร็ว



ภาพที่ 21 แสดงโครงสร้างของ Kanamycin

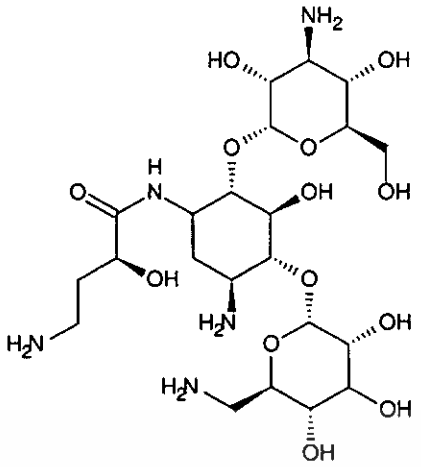
ที่มา : www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Kanamycin.png

2.7.11 Amikacin

Amikacin มีการใช้ครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น โดยจัดเป็นสารพวก Semisynthetic Aminoglycoside โดยที่จะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบโดยเฉพาะพวก *Bacilli* โดยที่โครงสร้างของ Amikacin นั้นแบบที่เป็น L-Amikacin จะสามารถทำงานได้ดีกว่าแบบที่เป็น D- Amikacin และนอกจากนี้ Amikacin ยังสามารถทำการต้านทานต่อเอนไซม์ต่างๆ ที่ผลิตโดยแบคทีเรียซึ่งแตกต่างจากสารปฏิชีวนะชนิดอื่นเช่น Gentamicin และ Tobramycin แต่ Amikacin ก็ยังไม่สามารถต้านทานต่อเอนไซม์ Aminotransferase และ Acetylates

จากการศึกษาในขั้นต้นจะพบว่า Amikacin นั้นจะมีความเป็นพิษที่น้อยกว่า Kanamycin และ Gentamicin อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วการใช้ Amikacin ในปริมาณมากนั้นมักจะใช้เพื่อเป็นการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแกรมลบพวก Bacilli นั้น Amikacin จะเป็นสารปฏิชีวนะที่ได้รับความนิยมในการใช้มากกว่าสารปฏิชีวนะพวก Aminoglycoside อื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 22 แสดงโครงสร้างของ Amikacin

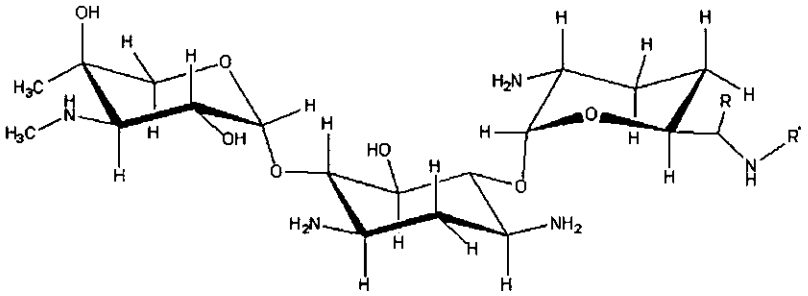
ที่มา : www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Amikacin.svg

2.7.12 Gentamicin

Gentamicin ทำการคัดแยกได้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1958 ซึ่งได้มีการผลิตเป็นการค้าโดยจะใช้แบคทีเรียพวก *Micromonospora purpurea* และ Gentamicin จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบและจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียพวก *Pseudomonas aeruginosa* และแบคทีเรียแกรมลบพวก *Bacilli* ได้ดีเป็นพิเศษ Gentamicin จะนิยมใช้ในการรักษาในอาการติดเชื้อทางผิวหนังต่างๆ โดยจะใช้ในลักษณะที่เป็นครีมหรือยาขี้ผึ้ง แต่อย่างไรก็ตาม Gentamicin นั้นยังมีความสามารถที่จำกัดเมื่อเทียบกับ Neomycin ในการใช้ในการรักษายกเว้นการรักษากับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยที่เราจะนิยมใช้ Gentamicin ในการรักษาอาการติดเชื้อที่เกิดในแผลต่างๆ และถ้าหากมีการติดเชื้อในกรณีที่ร้ายแรงนั้นเราจะทำการให้ Gentamicin ในรูปของเหลวโดยทำการผสม Gentamicin 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการรักษาการติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย แกรมลบ เช่น *Pseudomonas* , *Enterobacter* และ *Serratia* sp. สาเหตุที่นิยมใช้ Gentamicin เนื่องมาจากว่าแบคทีเรียเหล่านี้สามารถทำการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะชนิดก่อน ๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่หลากหลายชนิด (Broad Spectrum)

Gentamicin นั้นจะลักษณะเป็นผงสีขาวจนถึงผงสีเหลือง สามารถละลายได้ดีในน้ำแต่จะไม่สามารถละลายได้เลยในแอลกอฮอล์และเบนซีน และจะมีความเสถียรที่พีเอชที่กว้างและสามารถนำไปเข้าเครื่อง Autoclave ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



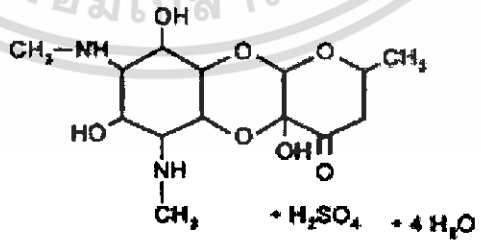
ภาพที่ 23 แสดงโครงสร้างของ Gentamicin

ที่มา : www-personal.umich.edu/~vlpec/Gent/gent.html

2.7.13 Spectinomycin

เป็นสารปฏิชีวนะพวก Aminocyclitol ทำการคัดแยกได้จากแบคทีเรียพวก *Streptomyces spectabilis* โดยที่ส่วนใหญ่แล้วจะเรียกว่า Actinospectocin โครงสร้างที่แน่นอนนั้นทำการพิสูจน์ออกมาโดย x-ray crystallograghy โดยที่จะอยู่ในรูปผลึกสีขาวซึ่งจะมีความเสถียรอย่างมากในสภาวะที่แห้งและสามารถละลายได้ดีในน้ำ สารละลายของ Spectinomycin เมื่อทำการเตรียมแล้วควรที่จะทำการใช้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากสามารถเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ได้อย่างช้าๆ และในการใช้นั้นควรที่จะฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อของผู้ป่วย

Spectinomycin นั้นเป็นสารปฏิชีวนะที่สามารถออกฤทธิ์ได้กับจุลินทรีย์หลายชนิด (Broad spectrum) โดยที่จะมีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยที่ Spectinomycin นั้นจะออกฤทธิ์โดยการไปจับกับ rRNA กับไรโบโซม ในขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีน แต่จะไม่มีผลต่อการอ่านลำดับเบส แต่ Spectinomycin นั้นจะได้รับความนิยมน้อยกว่าสารปฏิชีวนะอื่นๆ เนื่องจากเป็นสารที่มีราคาสูงแต่จะได้รับความนิยมในการนำไปรักษาในผู้ป่วยโรคหนองใน เนื่องจากผู้ป่วยบางรายจะแพ้ต่อยา Penincillin



ภาพที่ 24 แสดงโครงสร้างของ Spectinomycin

ที่มา : www.pfizerah.com/PAHimages/compliance_pdfs/US_EN_AD_compliance.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.14 Netilimicin

Netilimicin นั้นสามารถทำการผลิตได้จากการนำเอา Sisomicin มาทำการเกิดปฏิกิริยา Reductive Ethylation ซึ่งจะเป็นสารปฏิชีวนะพวก Aminoglycoside โดยที่ Sisomicin นั้นสามารถทำการผลิตได้จากแบคทีเรียพวก *Micromonospora inoyensis* โดยที่โครงสร้างของ Netilimicin และ Sisomicin นั้นจะมีความคล้ายคลึงกับ Gentamicin B และจากการทดสอบจะพบว่า Netilimicin นั้นสามารถยับยั้งต่อจุลินทรีย์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะพวก Gentamicin บางตัว เช่น *Escherichia coli* , *Enterobacter* , *Klebsiella* และ *Citrobacter* และนอกจากนั้นยังสามารถยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* , *Proteus* บางสายพันธุ์ได้ด้วย และยังมีจุลินทรีย์บางชนิดที่ถูกยับยั้งได้โดย Sisomicin โดยส่วนใหญ่แล้วจะเป็น จุลินทรีย์พวกที่ถูกยับยั้งได้โดย Gentamicin และกิจกรรมของ Netilimicin นั้นจะถูกยับยั้งได้โดยเอนไซม์พวก Adenylyate และ Phosphorylate แต่ Gentamicin และ Sisomicin นั้นจะไม่ถูกยับยั้งได้โดยเอนไซม์เหล่านี้โดยที่จะสังเกตได้จากที่โมเลกุลของ 1-Ethyl Group ใน Sisomicin นั้นจะไปทำการลดความจำเพาะของเอนไซม์เหล่านั้น

2.7.15 Tobramycin sulfate

มีการค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1976 สามารถทำการผลิตได้จาก *Streptomyces tenebrarius* คุณสมบัติที่สำคัญของ Tobramycin คือ จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะพวก Gentamicin ได้จะไม่สามารถต้านทานต่อ Tobramycin ได้ โครงสร้างของ Tobramycin นั้นจะมีความคล้ายคลึงกับโครงสร้างของ Kanamycin B

2.8 การเจริญและการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ

Bu'Lock และคณะ (1975) เริ่มใช้คำว่า trophophase สำหรับเรียกระยะการเจริญ (growth phase) และใช้ idiophase เรียกระยะที่มีการผลิต idiolites หรือสารทุติยภูมิ เช่น สารปฏิชีวนะ การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะนั้นเป็นลักษณะผันแปรของสิ่งมีชีวิตที่ผลิต และการสูญเสียความสามารถในการผลิตไม่ได้นำมาซึ่งการสูญเสียความสามารถในการเจริญ แต่การผลิตจะเกิดขึ้นภายหลังจากมีการเจริญเกิดขึ้น (Kanoksilpatham, 1981)

การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะจะเริ่มขึ้นในช่วงสุดท้ายของระยะการเจริญที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว (exponential phase) ของจุลินทรีย์ใน batch culture (Haavik, 1974a, 1974b; Malik และ Vining, 1970) ในกรณีที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีธาตุอาหารเป็นส่วนประกอบอยู่น้อย ทำให้จุลินทรีย์ที่เจริญช้าผลิตสารปฏิชีวนะได้เหมือนกัน และอัตราการเจริญ (growth rate) ของสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารปฏิชีวนะ ก็มีอิทธิพลบ้างเหมือนกันในรูปแบบ (pattern) ของการผลิตในสภาพธรรมชาติ การผลิตสารปฏิชีวนะอาจจะเป็นประโยชน์ต่อการอยู่รอด เนื่องจากมีอาหารจำกัดสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ (Gottlieb, 1976) การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะบางชนิด เช่น edeine; bactracin; gramicidin; tyrocidines และ polymyxins ซึ่งเกิดขึ้นในขณะที่มีการสร้าง endospore ในแบคทีเรียกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นท่อนและสารบางชนิดเกิดขึ้นในขณะที่มีการสร้างโคนิเดียในพวก *Streptomyces* (Halvorson และคณะ, 1972;

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Demain และ Pirct, 1979) ซึ่งสารเหล่านี้มีความจำเป็นสำหรับการสร้างสปอร์ หรือเกี่ยวกับการอยู่รอดในช่วงระยะที่มีการงอกของสปอร์ เหตุผลที่สอดคล้องกันอย่างเห็นได้ชัดคือ *Bacillus polymyxa* สายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ (asporogenic strains) จะไม่สามารถผลิต polymyxins และสารที่มีผลยับยั้งการสร้างสปอร์และจะยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะในสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ด้วยเหมือนกัน (Paulus, 1967)

2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารปฏิชีวนะ

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อ ได้แก่ ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ	สภาวะในการเพาะเลี้ยง
แหล่งคาร์บอน	พีเอช
แหล่งไนโตรเจน	อุณหภูมิ
อนินทรีย์ฟอสเฟต	ออกซิเจน
เกลืออนินทรีย์	อื่น ๆ
โลหะ (trace metals)	
สารตั้งต้น (precursors)	
สารชักนำ (inducers)	
สารยับยั้ง (inhibitors)	
อื่น ๆ	

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. แหล่งคาร์บอน (carbon source) โดยทั่วไปแล้วกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการการเจริญของจุลินทรีย์ และในขณะเดียวกันกลูโคสก็ทำให้เกิด carbon metabolite regulation ในการผลิตสารปฏิชีวนะหลายชนิด (Martin, 1980) นอกจากกลูโคสแล้วยังมีมอลโตส กลีเซอรอล และแป้งซึ่งมีรายงานว่าใช้ในการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น ในการผลิต Hikizimycin ใช้มอลโตส 3 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน (Uchida และคณะ, 1971) หรือเช่นการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces psammoticus* พบว่าการเติมกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 12.5 กรัม/ลิตร ช่วยให้เชื้อนี้สร้างสารปฏิชีวนะเพิ่มขึ้น 1.2 เท่า (P.Sujatha และคณะ, 2005)

2. แหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) การเปลี่ยนชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนและสัดส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่อแหล่งคาร์บอนที่มีอยู่อาจแสดงในรูปของสัดส่วน C/N ต่างมีผลต่อการ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตสารปฏิชีวนะ (Iwai และ Omura , 1982) จากรายงานของ Ghonaum และคณะ (1980) พบว่าโพแทสเซียมไนเตรต แอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมไนเตรตนั้นเป็นแหล่งของไนโตเจนที่ดีที่สุดสำหรับการผลิต magnamycin โดยเชื้อ *Streptomyces haletedii* หรือ เช่นการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces psammoticus* พบว่าการเติมแอมโมเนียมไนเตรทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 2.5 กรัม/ลิตร ช่วยให้เชื้อนี้สร้างสารปฏิชีวนะเพิ่มขึ้น 1.2 เท่า (P.Sujatha และคณะ, 2005)

3. อนินทรีย์ฟอสเฟต (inorganic phosphate) ถ้ามีอนินทรีย์ฟอสเฟตมากในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเร่งการใช้แหล่งอาหารคาร์บอน แหล่งอาหารไนโตรเจนและกระบวนการหายใจเป็นผลให้การเจริญดีแต่การผลิตสารปฏิชีวนะจะลดลง (Weinberg, 1973) โดยทั่วไปความเข้มข้นของฟอสเฟตประมาณ 0.3-300 มิลลิโมล ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะสนับสนุนการเจริญของเชื้อแต่ 10 มิลลิโมล เหมาะสมในการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ (Martin, 1977) แต่ถ้ามีความเข้มข้นฟอสเฟตในอาหารสูงพบว่านอกจากจะขัดขวางการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะแล้วยังมีผลยับยั้งการเจริญ (Liu และคณะ, 1977) เช่น การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces psammoticus* พบว่าการเติมไดโพแทสเซียมฟอสเฟตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 1.2 กรัม/ลิตร ช่วยให้เชื้อนี้สร้างสารปฏิชีวนะได้สูงสุดแต่เมื่อใส่ในปริมาณที่มากกว่านี้จะทำให้เชื้อสร้างสารปฏิชีวนะได้น้อยลง (P.Sujatha และคณะ, 2005)

ปริมาณของอนินทรีย์ฟอสเฟตมีอิทธิพลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะแต่ยังไม่ทราบกลไก (mechanism) ที่แน่ชัดเพียงแต่สันนิษฐานกันว่าเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของ ATP ภายในของเซลล์ เนื่องจากความเป็นจริงที่ว่าการผลิตสารปฏิชีวนะมักจะเริ่มต้นภายหลังจากที่มีการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตเกือบหมดไปจากอาหารเลี้ยงเชื้อ (Iwai และ Omure , 1982) และจากการศึกษาของ Martin และคณะ (1978) เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของ ATP ในระหว่างที่มีการควบคุมการผลิตสารปฏิชีวนะเกิดขึ้นในขณะที่มีฟอสเฟตอยู่ด้วยซึ่งเมื่อความเข้มข้นของอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงพบว่าความเข้มข้นของ ATP ภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นและจะเร่งเมทาบอลิสมของสารปฐมภูมิแต่จะยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะ และถ้าปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตน้อยลง ความเข้มข้นของ ATP ก็ลดลงด้วย แต่จะทำให้การผลิตสารปฏิชีวนะดำเนินต่อไปได้อีก

4. เกลืออนินทรีย์ (inorganic salts) สำหรับเกลืออนินทรีย์นิยมใช้กันทั่วไปเพื่อเริ่มการผลิตสารปฏิชีวนะ คือ โซเดียมคลอไรด์ (Rake และ Donovick, 1946)

5. โลหะ (trace metals) โลหะหลายชนิดจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตเนื่องจากเป็น Co-factor ในปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ ได้แก่ V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn และ Mo สำหรับ Mn, Fe และ Zn มักจะมีบทบาทในการผลิตสารทุติยภูมิ (Weinberg, 1962-1970) ซึ่งความต้องการโลหะนั้นอยู่ในปริมาณน้อยมาก และปริมาณโลหะที่ต้องการสำหรับการผลิตสารปฏิชีวนะและการเจริญของจุลินทรีย์จะต่างกัน โดยปกติแล้วความเข้มข้นของโลหะที่ต้องการสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ประมาณ 10^{-7} โมลาร์ของ Mn และ Zn และ 2×10^{-7} โมลาร์ของ Fe แต่ความต้องการสำหรับการผลิตสารปฏิชีวนะจะมากกว่าการเจริญ 10 ถึง 100 เท่า และถ้าเติมในปริมาณที่มากขึ้นจะยับยั้งการผลิต ช่วงความเข้มข้นของโลหะที่มีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิ เช่น การผลิตสารปฏิชีวนะจะแคบกว่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตสารปฐมภูมิ และความเข้มข้นของโลหะในระดับที่ต้องการสำหรับการผลิตสารปฏิชีวนะจะไม่มีผลยับยั้งการเจริญ (Iwai และ Omyra , 1982) เช่น การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces psammoticus* พบว่าการเติมสารละลายโลหะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ช่วยให้เชื้อนี้สร้างสารปฏิชีวนะเพิ่มขึ้น (P.Sujatha และคณะ, 2005)

6. สารตั้งต้น (precursors) ในการผลิต penicillin G ในปริมาณสูงโดย *Penicillium chrysogennum* จะเกิดขึ้นโดยการเติม phenyl acetate เป็นสารตั้งต้นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตเอนไซม์ ใช้ในการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ ในสิ่งมีชีวิตจะมีความจำเพาะต่อสับสเตรทต่ำ ด้วยเหตุนี้เมื่อเติม analogs เป็นสารตั้งต้น ในบางครั้งจะมีการใช้สารตั้งต้นนี้ทำให้เกิดผลผลิตชนิดใหม่

7. สารยับยั้ง (inhibitions) สารยับยั้ง สารปฏิชีวนะหลาย ๆ ชนิดที่เป็นสารยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ของสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารนั้น ๆ ได้ดังกล่าวมาแล้ว Kominek (1975) รายงานว่า การหลีกเลี่ยงการยับยั้งโดยผลผลิตสุดท้ายกระทำได้โดย continuous dialysis-extraction ดังที่ทดลองในการผลิต cycloheximide โดย *Streptomyces griseus* และสามารถเพิ่มผลผลิตได้ถึงสองเท่า

นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงผลของการเติม Chloramphenicol ที่มีผลต่อการเพิ่มการผลิตของ actinomycin (Katz และคณะ, 1965) และ polymyxine (Paulus, 1967) ซึ่งเป็น peptide antibiotics เนื่องจาก Chloramphenicol เป็นสารขัดขวางกระบวนการ Translation ทำให้ไม่มีการสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้น แต่สารนี้ไม่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ peptide antibiotics จึงทำให้มีการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะพวกนี้มากขึ้น

8. สารชักนำ (inducers) ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับสารชักนำยังไม่กว้างขวาง เนื่องจากกระทำได้ยาก แต่ก็มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับสารชักนำ ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับการผลิต Streptomycin โดย *Streptomyces griseus* พบว่า สายพันธุ์ที่ผลิต Streptomycin ได้ จะสามารถผลิต A-factor ได้ A-factor นี่เองที่สามารถชักนำหรือ กระตุ้นการสังเคราะห์ Streptomycin (Khokhlov และ Tovarova , 1979) ส่วน Methionine เป็นทั้งสารตั้งต้น และสารชักนำในการสังเคราะห์ cephalosporin โดย *Cephalosporium acremonium* (Drew และ Demain , 1975)

9. ปัจจัยอื่นๆในบางครั้งสารที่เติมลงไปเป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเปลี่ยน แปลง membrane permesbility ของจุลินทรีย์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะซึ่งทำให้การผลิตสารปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นหรือลดลงเนื่องจากเซลล์แตก (Iwai และ Omure , 1982 ; Ohno และคณะ, 1980)

สภาวะในการเพาะเลี้ยง

1.สภาพความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารก็มีความสำคัญ เนื่องจากจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของอาหาร ในระหว่างการทำให้อาหารปราศจากจุลินทรีย์โดยใช้ความร้อนภายใต้ความดันสูง ทำให้เกิดสารใหม่ซึ่งอาจมีผลต่อการเจริญและการสร้างเมตาโบไลท์ของจุลินทรีย์ที่นำมาเลี้ยง เช่น การเกิด aminocarbonyl reaction ของน้ำตาล และกรดอะมิโน เมื่อมีการให้ความร้อนสูงในสภาพเป็นด่าง ได้แก่ การสร้าง peicose จาก glucose (Nara และคณะ, 1966) การเกิดสารซึ่งเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

growth factors ของแบคทีเรียแลคติกจาก L-lysine และกลูโคส (Furnkawa และคณะ, 1968) เป็นต้น สภาพความเป็นกรดเป็นด่างของอาหาร มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารปฏิชีวนะ ดังนั้นในกระบวนการผลิตสารปฏิชีวนะจึงมักมีการเติมสารละลายบัฟเฟอร์ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต ไดโพรแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต หรือ โซเดียมไบคาร์บอเนต (Iwai และ Omura , 1982)

2. อุณหภูมิ โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะค่อนข้างจะคงที่ที่อุณหภูมิหนึ่งตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุด แต่อุณหภูมิที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตสารปฏิชีวนะจะผันแปรในช่วงกว้าง และอุณหภูมิที่พอเหมาะสำหรับการเจริญมักจะไม่ใช่อุณหภูมิเดียวกับอุณหภูมิที่ผลิต เช่น *Penicillium chrysogenum* จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่จะผลิตเพนนิซิลินได้ในปริมาณสูงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Owen และ Johnson , 1955)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตสารปฏิชีวนะของพวก Thermophilic actinomycetes เช่น *Thermoactinomyces* อยู่ในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส แต่พวก mesophilic *actinomyces* จะประมาณ 27 องศาเซลเซียส (Weinborg , 1973)

3.ปริมาณออกซิเจน จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะจำนวนมากต้องการออกซิเจนในการเจริญ แต่ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำนั้นมีปริมาณที่น้อยเกินไปจำเป็นต้องมีการให้อากาศ ในอาหารเหลวที่ใช้ในการผลิตสารปฏิชีวนะ (Brookere, 1969) นอกจากนั้นปริมาณออกซิเจนยังมีผลต่อชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น เชื้อ *Streptomyces levendulac* No.314 ที่สามารถผลิต Streptothrincin เป็นผลผลิตหลักเมื่อใช้อัตราการกวน 250 รอบต่อนาทีใน jar-fermentor และจะผลิต mimosamycin และ chlorocarcine เป็นผลผลิตย่อยขึ้นด้วยเมื่อมี dissolved oxygen ความเข้มข้นสูง เช่น เพิ่มอัตราการกวนเป็น 550 รอบต่อนาที (Aral และคณะ, 1976)

ส่วนรายงานของ Plichon และคณะ, 1976 พบว่าในการผลิต oxytetracycline ในถังหมักโดย *Streptomyces versoviansis* จะมีการผลิต Tetracycline เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณออกซิเจนที่ให้เพิ่มขึ้น

การเพิ่มปริมาณออกซิเจนในกระบวนการหมักของ *Cephalosporium acremonium* จะทำให้การผลิต penicillin N ลดลงแต่ cephalosporin C จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการเร่งการเกิดออกซิเดชันในการเปลี่ยน penicillin N ไปเป็น cephalosporin C (Stevens และคณะ, 1962)

4. ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ความดัน ผลของออกซิเดชัน-รีดักชัน และแสง เป็นต้น ในการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ โดยใช้อาหารแข็งและอาหารเหลว มักพบว่ามีการผลิตสารปฏิชีวนะบนอาหารแข็งแต่ไม่พบในอาหารเหลวซึ่งโดยแท้จริงแล้วจุลินทรีย์อาจจะผลิตสารปฏิชีวนะได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองสภาวะแต่การทำลายสารปฏิชีวนะบนอาหารแข็งเกิดขึ้นน้อยกว่าในอาหารเหลว เช่น Fumaramidmycin จะแพร่ไปได้ง่ายในอาหารวุ้น จึงหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับเอนไซม์ที่สามารถสลายสารปฏิชีวนะนั้นได้ (Muth และคณะ, 1975 ; Suhara และคณะ, 1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารปฏิชีวนะไม่สามารถผลิตได้คงที่ โดยจะเริ่มช้าเมื่อการเจริญช้าลงหรือหยุดชะงักและยังมีสาเหตุอื่น ๆ ที่ทำให้การผลิตสารปฏิชีวนะลดลง ตัวอย่างเช่น

1. แหล่งธาตุอาหารคาร์บอน เช่น กลูโคส ทำให้เกิดคาร์บอนเมตาโบไลท์เรคกูเลชั่น (carbon metabolite regulation) ในการผลิตสารปฏิชีวนะหลายชนิด

2. แหล่งธาตุอาหารไนโตรเจน การเปลี่ยนและความเข้มข้นของแหล่งอาหารไนโตรเจนมีผลอย่างมากในการผลิตสารปฏิชีวนะ

3. อนินทรีย์ฟอสเฟต ถ้ามีอนินทรีย์ฟอสเฟตมากในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเร่งการใช้แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนและขบวนการหายใจ เป็นผลให้การเจริญดีแต่การผลิตสารปฏิชีวนะจะลดลง

4. โลหะ เช่น สังกะสี เหล็ก แมงกานีส มักจะมีบทบาทในการผลิตสารปฐมภูมิซึ่งต้องการโลหะนั้นอยู่ในปริมาณน้อยมาก

ยังมีสภาวะอื่น ๆ อีกที่ส่งผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น ความเป็นกรดเป็นด่างในอาหาร ระดับอุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน (Alexander, 1999)

2.10 การควบคุมการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ

การควบคุมกระบวนการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จุลินทรีย์นั้นสามารถเกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ (Martin และ Demain , 1980)

2.10.1. การควบคุมที่จุดเริ่มต้นของการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะนั้นเกิดจากการแสดงออกของสารพันธุกรรม (gene) ที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์ที่อยู่บนโครโมโซมและพลาสมิด (Hopwood, 1978) และการแสดงออกของสารพันธุกรรมนี้มักจะไม่เกิดขึ้นในขณะที่เซลล์มีอัตราการเจริญสูง โดยไม่มีการสร้างเอนไซม์ antibiotic synthetase หรือถ้าหากมีการสร้างเอนไซม์ก็มักจะมีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เกิดขึ้นด้วย สำหรับการควบคุมที่จุดเริ่มขึ้นของการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ ได้แก่

2.10.1.1 Repression ของเอนไซม์ที่สังเคราะห์สารปฏิชีวนะเป็นการควบคุมการแสดงออกของสารพันธุกรรมโดยการขัดขวางการ Transcription ของ genetic information จาก deoxyribonucleic acid ไปยัง massenger ribonucleic acid หรือโดยการขัดขวางกระบวนการ translation ของข้อมูลจาก massenger ribonucleic acid ไปยัง antibiotic synthetase ทำให้ไม่เกิดการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ ในปี ค.ศ.1980 Martin และ Demain ได้พบว่าการสังเคราะห์ candioidin โดย *Streptomyces griseus* จะถูกกำหนดโดยปริมาณฟอสเฟต เนื่องจากฟอสเฟตสามารถยับยั้งการ Transcription ของ candioidin synthetase complex ในการผลิตสาร candioidin นั้นพบว่าจะเกิดสารนี้ขึ้นภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้ว 18 ชั่วโมง

2.10.1.2 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สังเคราะห์สารปฏิชีวนะ ในกรณีมีการสร้างเอนไซม์สำหรับการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะเกิดขึ้นแต่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ตัวอย่างเช่น การสังเคราะห์ ß-lactam antibiotics (penicillin Nและ cephalosporin C)โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cephalosperium aeremenium ซึ่งการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นภายหลังจากเจริญสิ้นสุดลงแล้ว (Kennel และ Demain , 1978) จากการศึกษาโดยใช้เซลล์ที่อยู่ในระยะฟักตัว (resting cells) ในขณะที่มี cycloheximide อยู่ด้วยเพื่อป้องกันการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ ผลปรากฏว่าในระยะ trophophase นั้นมีเอนไซม์ที่สังเคราะห์สารปฏิชีวนะ (ß-lactain forming enzyme) อยู่ภายในเซลล์ในปริมาณสูงมาก แต่การผลิตสารปฏิชีวนะเกิดขึ้นน้อยมากเนื่องจากมีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Kennel และ Demain , 1978)

2.10.1.3 การยับยั้งใน branched pathway ที่นำไปสู่ primary metabolite และสารปฏิชีวนะ วิถีของการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะบางชนิดเป็นวิถีที่แตกแขนง โดยมีวิถีเริ่มต้นแล้วแตกแขนงเป็นวิถีย่อยเพื่อสังเคราะห์สารปฐมภูมิในทางหนึ่ง และเพื่อสังเคราะห์สารทุติยภูมิในอีกทางหนึ่ง ซึ่งในบางครั้งผลผลิตสุดท้ายที่เป็นสารปฐมภูมิจะย้อนกลับมายับยั้งวิถีเริ่มต้น จึงเป็นการยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะซึ่งเป็น สารทุติยภูมิไปด้วย (Drew และDemain, 1977)

Mesureker และ Demain (1972) รายงานว่าไลซีนจะยับยั้งกระบวนการผลิต penicillin ของ *Penicillium chrysogenum* เนื่องจากวิถีทางการสังเคราะห์ penicillin นั้นแตกแขนงมาจากวิถีทางการสังเคราะห์ไลซีนที่ชั้น α-aminoadipic (หรือ adenyl-α-aminoadipic acid) Demain และ Masureker (1974) รายงานต่อไปอีกว่าไลซีนนั้นมีผลในการยับยั้งการทำงานของ homocitrate synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัวแรกในวิถีทางการสังเคราะห์ไลซีนโดย *Penicillinm chrysogenum*

2.10.2 ตัวควบคุมภายในเซลล์ (intracellular effectors) ในการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะจะมีการควบคุมกระบวนการสังเคราะห์แบบหนึ่ง ซึ่งเกิดขึ้นโดยสารโมเลกุลเล็ก ๆ ที่มีบทบาทเป็น co repressor ที่หยุดยั้งการสร้างเอนไซม์ หรือเป็นสารยับยั้ง ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ ดังนั้นต้องทำให้ co repressor หรือ inhibitor หมดไปก่อนจึงจะมีการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะเกิดขึ้น การควบคุมโดยตัวควบคุมภายในเซลล์ ได้แก่

2.10.2.1 การควบคุมโดยคาร์บอนคาตาโบไลท์ (carbon catabolite regulation) โดยทั่วไปกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ แต่กลูโคสก็มีผลขัดขวางการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะหลายชนิด (Martin และ Demain , 1980) ในการศึกษาเกี่ยวกับอาหารที่ใช้สำหรับการผลิตสารปฏิชีวนะ มักจะพบว่าพอลิแซ็กคาร์ไรด์หรือออลิโกแซ็กคาไรด์จะใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีกว่ากลูโคส (Soltero และ Jonhson , 1953) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสและแหล่งคาร์บอนอื่นที่จุลินทรีย์นำมาใช้ได้ช้ากว่าอยู่ด้วยกัน พบว่าจะมีการใช้กลูโคสเกิดขึ้นก่อนในขณะที่ไม่มีการผลิตสารปฏิชีวนะ จากนั้นจึงมีการใช้แหล่งคาร์บอนอีกชนิดหนึ่งสำหรับการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ (Audhya และ Russel, 1975 ; Gallo and Katz, 1972) การควบคุมโดยคาร์บอนคาตาโบไลท์ในจุลินทรีย์บางชนิด อาจเกิดขึ้นจากการใช้แหล่งคาร์บอนอื่นที่ใช้ได้รวดเร็วกว่ากลูโคส เช่น *Streptomyces niveue* ที่ผลิต novobiocin จะชอบใช้ซิเทรตมากกว่ากลูโคส และจะไม่มีการผลิต novobiocin ในระหว่างที่มีการใช้ซิเทรต ในการเจริญแต่ใน secondary phase ที่มีการใช้กลูโคสจะมีการผลิตเกิดขึ้น (Kominek, 1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกในการควบคุมโดยคาร์บอนคาตาโบไลท์เป็นไปได้ 2 กรณี คือ

2.10.2.1.1 Carbon catebolite repression ทำให้ไม่มีการสร้างเอนไซม์ในการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ เช่น การสังเคราะห์ actinomycin โดย *Streptomyces antibiotious* พบว่ากลูโคสทำให้เกิด catabolite repression ในการสร้าง phenoxazinone synthase ซึ่ง เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ phenoxazinonering ของ actinomycin (Gallo และ Katz, 1972) Satch และคณะ(1976) รายงานว่ากลูโคส ก็ทำให้เกิด catabolite repression ในการสร้าง N-acetylkanamycin amidohydrolase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ Kanamycin ของ *Streptomyces kanamycetcus* ด้วยเหมือนกัน

2.10.2.1.2 Carbon catabolite inhibition เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ เช่น ผลเนื่องจากกลูโคสในการยับยั้งการสังเคราะห์ indolmycin ของ *Streptomyces grissus* ATCC 12648 (Hurley และ Bialek, 1974)

2.10.2.2 การควบคุมโดยไนโตรเจนเมตาโบไลท์ (nitrogen metabolite regulation) แหล่งไนโตรเจนที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้อย่างรวดเร็วอาจจะเกี่ยวข้องกับการควบคุมการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ แอมโมเนียไอออนที่ได้จากไนโตรเจนเมแทบอลิซึมนั้น โดยปกติจะสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินความต้องการอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็จะมีผลควบคุมการทำงานของเอนไซม์หลาย ๆ ชนิดที่เกี่ยวข้องในไนโตรเจนเมแทบอลิซึมในลักษณะ ammonium repression เอนไซม์ดังกล่าวที่พบในแบคทีเรียและเชื้อรา ได้แก่ glutamine synthetase (Meerและคณะ, 1971 ; Hynee, 1974) niacidase (Privalและคณะ, 1973) และ asparaginase (Rosnick และ Magasanik, 1976) เป็นต้น ทำให้ไม่เกิดผลผลิตสุดท้ายจากไนโตรเจนเมแทบอลิซึมเซลล์จะนำไปใช้ต่อไป และการสังเคราะห์สารบางชนิดต้องการสับสเทรตจากไนโตรเจนเมแทบอลิซึมด้วย เช่น การสังเคราะห์ Cephalosporin ของ *Streptomyces clevuligerus* การสร้าง Cephalosporin ส่วนใหญ่ได้มาจากกรดอะมิโน 3 ชนิด ได้แก่ α-aminoadipic acid , cysteine และ valine (Whitneyและคณะ, 1972) กรดอะมิโนเหล่านี้เป็นผลผลิตสุดท้ายจากไนโตรเจนเมแทบอลิซึมที่อาจจะเป็น วิถีการสังเคราะห์ (biosynthetic pathway) หรือ วิถีการทำลาย (degradative pathway) และ วิถีเหล่านี้ก็มีการควบคุมได้โดยแอมโมเนีย ด้วยเหตุนี้จึงมีความเกี่ยวข้องกันระหว่างสารปฐมภูมิและสารทุติยภูมิ (Drew และ Demain, 1977) Aharonowitz และ Demain (1977) พบว่าแอมโมเนียมในปริมาณที่มากเกินความต้องการจะมีผลอย่างมากในการยับยั้งการสังเคราะห์ Cephalosporin โดย *Streptomyces clavuligerue* จึงอาจกล่าวได้ว่า การสังเคราะห์ cephalosporin นี้ มีการควบคุมโดยไนโตรเจนเมตาโบไลท์

2.10.2.3 การควบคุมโดยฟอสเฟต (phosphate regulation) โดยทั่วๆ ไปแล้วความเข้มข้นของฟอสเฟตในช่วง 0.3-300 มิลลิโมลาร์ จะสนับสนุนการเจริญของเซลล์ได้อย่างดี แต่ในช่วงความเข้มข้นเท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิโมลาร์ จะยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะหลาย ๆ ชนิด เช่น novobiocin (*Streptomyces niveus*) , oxytetracycline (*Streptomyces rimosus*) และ Streptomycin (*Streptomyces griseus*) เป็นต้น (Martin, 1977 ; Weinberg, 1973) การเติมฟอสเฟตไม่เพียงแต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขัดขวางกระบวนการผลิตสารปฏิชีวนะเท่านั้น แต่ภายหลังจากการเติมหลาย ๆ ชั่วโมง ยังเป็นเหตุให้เซลล์ที่กำลังผลิตสารปฏิชีวนะซึ่งอยู่ในลักษณะไม่เจริญต่ออีกแล้ว (nongrowing cells) กลับมาเจริญได้อีก ทำให้เกิด trophophase ขึ้นและไม่มีการผลิตสารปฏิชีวนะ (Liuและคณะ, 1975)

2.10.3 การควบคุมการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะโดยสารปฏิชีวนะซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้าย เป็นการควบคุมแบบย้อนกลับ (Feedback regulation) ทำให้กระบวนการสังเคราะห์สิ้นสุดลง สารปฏิชีวนะหลายชนิดสามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ของสิ่งที่ผลิต เมื่อมีความเข้มข้นของสารสูงในระดับหนึ่ง เช่น chloramphenicol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลยับยั้งการทำงานของ acrylamine synthetase ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์ chloramphenicol และในความเข้มข้นนี้ chloramphenicol จะไม่มีผลทั้งต่อการเจริญของเซลล์และเอนไซม์อื่นๆ ใน aromatic amino acid pathway (Jonee และ weetlake, 1974 ; Malik และ vining , 1972)

2.11 ความสามารถในการทนต่อสารปฏิชีวนะของสิ่งมีชีวิตที่ผลิต

ในจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจะถูกทำลายด้วยสารปฏิชีวนะที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในระยะที่มีการเจริญ จึงทำให้จุลินทรีย์มีการผลิตสารปฏิชีวนะหลังจากมีการเจริญแล้วเพราะระยะหลังจากการเจริญแล้วจุลินทรีย์จะทนทานต่อสารปฏิชีวนะที่จุลินทรีย์สร้างโดยกลไกต่าง ๆ และการทนทานต่อสารปฏิชีวนะที่สร้างนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และชนิดของสารปฏิชีวนะ ดังต่อไปนี้

2.11.1. Xenotoxic antibiotics เป็นสารที่ยับยั้งหรือฆ่าสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น antimycin ที่ผลิตจาก *Streptomyces antibioticus* ซึ่งเป็นพวกโพรคาริโอต แต่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยูคาริโอตโดยมีผลกับลูกโซ่การขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport chain) ที่ไมโทคอนเดรีย (Stater, 1973) หรือ ß-lactam และ polymyxin ที่ผลิตจากแบคทีเรียจะมีผลต่อการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อราโดยมีผลต่อ uridine diphophogglucosamine binding site ของ chitin syntase (Isono และคณะ, 1969) ดังนั้นสารเหล่านี้จะไม่มีผลกับพวกโพรคาริโอต สิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารประเภทนี้จึงไม่อ่อนแอต่อเมตาโบไลท์ของตัวเองและไม่จำเป็นต้องมีกลไกในการป้องกัน

2.11.2. Autotoxin antibiotics เป็นสารที่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิตที่ผลิตด้วย เช่น *Streptomyces grisers* ผลิต streptomycin และอ่อนแอต่อสารที่ผลิตขึ้นเอง สิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารพวกนี้จะมีวิธีในการป้องกันตัวเองโดยกลไก 3 แบบ

2.11.2.1 Modification ของสารปฏิชีวนะโดยเอนไซม์ที่สร้างจากสิ่งมีชีวิตที่ผลิตตัวอย่าง เช่น Streptomycin เป็นสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย *Streptomyces griseus* ซึ่งเป็น prokaryotes เมื่อสารนี้เกาะกับ 30s ribosome และขัดขวางการเกาะของ aminoacyl-t-RNA ที่หน่วย 30s ทำให้ peptide chain ขาดไปไม่มีกรดอะมิโนใหม่มาต่อ นอกจากนี้ Streptomycin ยังสามารถรวมกับ 70s ribosome ทำให้ ribosome ไม่สามารถแยกตัวออกเป็นหน่วยย่อยคือ 30s และ 50s ได้อีก นั่นคือมีผลขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนในสิ่งมีชีวิตพวกโพรคาริโอตหลายชนิดรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตด้วย แต่จุลินทรีย์ที่ผลิตสามารถป้องกันตัวเองได้ด้วย inactivation ของ Streptomycin โดยกระบวนการ phosphorylation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นเองและ เมื่อ phosphorylate streptomycin ถูกปล่อยออกนอกเซลล์แล้ว phosphatase จะตัดหมู่ฟอสเฟตออกไปทำให้สารนั้นมี activity เกิดขึ้นใหม่อีกครั้ง (Miller และ Walker , 1969 ; Nimi และคณะ, 1971; Cella และ Vining, 1975)

2.11.2.2 Alteration ของ target site สำหรับสารปฏิชีวนะในเซลล์สิ่งมีชีวิตที่ผลิต ตัวอย่างเช่น erythromycin เป็นสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย *Streptomyces erythreus* และมีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี erythromycin จะเกาะกับ 50s ribosome มีผลขัดขวางในกระบวนการ translocation สิ่งมีชีวิตที่ผลิตสามารถต้านทานเมตาโบไลท์ของตัวเองได้โดยเกิด alteration ที่ 23s rRNA โดยกระบวนการ methylation ทำให้ arythromycin ไม่สามารถเกาะกับ ribosome (Yang-Graham และ Weiablum , 1978)

2.11.2.3 การลดการยอมรับสารปฏิชีวนะเข้าสู่เซลล์ ภายหลังจากปล่อยออกนอกเซลล์แล้ว กลไกในการป้องกันตัวเองแบบนี้จะเกิดร่วมกับกลไกแบบอื่น ๆ ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจุลินทรีย์ที่ผลิต autotoxic antibiotics จะมีการเปลี่ยนแปลงของ permeability เกิดขึ้นเสมอ ตัวอย่างเช่น ใน *Streptomyces griseus* ที่ผลิต streptomycin ถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ แล้วเซลล์จะไม่ยอมรับสารนั้นเข้าสู่เซลล์อีก เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงของ permeability ในเซลล์ (Vining, 1979)

2.12 การแยกเพื่อคัดเลือกเชื้อ

การแยกเพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตัวอย่างดินให้ได้ผลดีขึ้น จะต้องกำจัดหรือจำกัดการเจริญของเชื้อรา และการกระจายของแบคทีเรียในอาหารที่ใช้แยก ซึ่งอาจทำได้โดยการควบคุมองค์ประกอบของอาหาร เติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือในตัวอย่างดินก่อนที่จะนำมาแยกเชื้อ (Porter, 1971) องค์ประกอบของอาหารที่ควบคุมเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยซีทส์เจริญได้ดีกว่าเชื้อชนิดอื่น ๆ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน เช่น แป้ง กลีเซอรอลและแหล่งไนโตรเจน เช่น casein asparagines และ arginine เป็นต้น (El-Nakeeb และ Lechavalier, 1963) พบว่าการแยก *Streptomyces* จากปุ๋ยหมักโดยใช้ starch casein agar ทำให้เชื้อเจริญได้ดี (Kuster และ William, 1964)

การป้องกันและลดจำนวนเชื้อรา ทำได้โดยเติมสารยับยั้งการเจริญบางอย่างลงไป เช่น sodium propionate 0.4 เปอร์เซ็นต์ (Crook และคณะ, 1950)

Lawrence (1956) ลดการปะปนของเชื้อราและแบคทีเรียในตัวอย่างดินก่อนจะนำไปแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์โดยการเติมสารฟีนอลที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 400 ลงในตัวอย่างดินนาน 10 นาที การนำสารละลายดินไปปั่นด้วยแรงเหวี่ยง 1,690 กรัม นาน 20 นาที จะทำให้จุลินทรีย์อื่น ๆ ตกตะกอนยกเว้น แอคติโนมัยซีทส์ (Rechacek, 1971) การเติม rose Bengal ในปริมาณ 350 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 ลิตร จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและการกระจายของเชื้อราได้เช่นเดียวกัน (Ottow, 1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13 ปัจจัยในการคัดเลือกสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารปฏิชีวนะและตรวจหาสารปฏิชีวนะ

การตรวจหาสารปฏิชีวนะ ได้กระทำกันอย่างกว้างขวางมาประมาณ 30 ปีแล้วและการค้นคว้าเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ ก็ยังคงดำเนินอยู่โดยมีการปรับปรุงวิธีการตรวจหาขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อให้การค้นคว้าเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและประสบความสำเร็จต้องอาศัยปัจจัย 3 ประการด้วยกัน ได้แก่ วิธีการตรวจหาสารปฏิชีวนะ การคัดเลือกสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะและวิธีการเลี้ยงสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารปฏิชีวนะ (Iwai และ Omura , 1982)

2.13.1. วิธีการตรวจหาสารปฏิชีวนะ มีสารปฏิชีวนะมากมายหลายชนิดที่มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย รา โปรโตซัว ปรสิต ไวรัส และเซลล์ที่เจริญผิดปกติ ซึ่งสารเหล่านี้ได้จากการค้นคว้าโดยวิธีการตรวจหาต่าง ๆ กัน เช่น การใช้เชื้อทดสอบซึ่งมีการเปลี่ยนแปลง เพื่อให้ได้สารที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นตามต้องการ (Umezawa, 1978 ; Laskin และ Lechevalier, 1973)

2.13.2. การคัดเลือกสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารปฏิชีวนะ เชื้อจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้เป็นส่วนใหญ่ วิธีการคัดเลือกจุลินทรีย์เหล่านี้ ที่นิยมใช้กันมาก ในระยะแรก ๆ คือ crowded plate techniques (Waksman, 1959) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง วิธีนี้ใช้คัดเลือกจุลินทรีย์ในดินที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นในดิน โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นและวิธีคัดเลือกเชื้อบนอาหารแข็งที่ใช้กันมากอีกวิธีหนึ่ง คือ cross streak plate (Waksman, 1959) ในวิธีนี้ทั้งเชื้อที่ผลิต และเชื้อที่ทดสอบจะเจริญบนอาหารชนิดเดียวกัน จึงจำเป็นต้องเลือกอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อทั้งสองประเภท Weinstein และคณะ (1964) พยายามคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการผลิตสารปฏิชีวนะ โดยสนใจจุลินทรีย์พวกแอคติโนมัยซีทส์ในสกุล *Micromonospors* ซึ่งมีผู้ศึกษาน้อยมากและพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ หลายชนิดจากแอคติโนมัยซีทส์ในสกุลนี้ได้แก่ gentamicin, everninomicin, halomicin และ megalomicin (Weinsteinและคณะ, 1964, 1965, 1968, 1969) การค้นพบนี้ทำให้การศึกษาเกี่ยวกับการค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่มุ่งไปทางด้านวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการแยกและคัดเลือก จุลินทรีย์พวกแอคติโนมัยซีทส์ในสกุลอื่น ๆ นอกจาก *Streptomyces* sp. มากขึ้น ในดินจะพบแอคติโนมัยซีทส์ในสกุลอื่นได้น้อยกว่า *Streptomyces* sp. (Nonomura และ Ohara, 1969) แอคติโนมัยซีทส์ในสกุลที่พบได้ยากนี้ สามารถผลิตสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ เช่น สกุล *Actinoplanes* (Parenti และ Coronelli, 1979) แต่มักจะมีความสามารถในการผลิตที่ต่ำและเจริญอย่างช้า ๆ ฉะนั้นในการคันคว้าและพัฒนาเกี่ยวกับจุลินทรีย์พวกนี้จึงเป็นไปได้ยาก (Iwai และ Omura, 1982)

2.13.3. วิธีการเลี้ยงสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารปฏิชีวนะ เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการและได้ในปริมาณสูง วิธีการนี้สามารถทำได้โดยการปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของอาหารหรือปรับปรุงสภาพของการเลี้ยง ซึ่งการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ นอกจากจะมีผลต่อปริมาณของสารที่ได้แล้ว ยังมีผลต่อส่วนประกอบ (Component) ของสารที่ได้ด้วย หรือการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้เชื้อมีความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะได้สูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.14 การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างสารปฏิชีวนะ

วิธีการคัดเลือกแบบต่าง ๆ ที่นำมาใช้แยกจุลินทรีย์ที่สร้างสารปฏิชีวนะทำได้ทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว วิธีการศึกษาที่ใช้กันมากในระยะแรก ๆ ก็คือ crowded plate techniques (Waskman, 1959) วิธีนี้ใช้ตรวจหาจุลินทรีย์ในดินที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ในดิน หลังจากที่บ่มเชื้อไม่เกิน 1 ถึง 2 วัน ซึ่งทำได้โดยการใส่สารละลายของตัวอย่างที่มีเชื้อเจริญอยู่ตามธรรมชาติ (natural substrare) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วตรวจหาจุลินทรีย์ที่ให้บริเวณยับยั้ง (inhibition zone) นอกจากนี้ยังได้พยายามแยกความแตกต่างระหว่างจุลินทรีย์ที่สร้างสารปฏิชีวนะและไม่สร้างสารปฏิชีวนะ ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบนั้นอาจทำได้โดยการพ่นทับลงไปบนผิวหน้าอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ (Stansly, 1974) หรือ water agar suspension ของเชื้อดังกล่าวทับลงบนผิวหน้า

Kelner (1948) ได้คิดวิธีทดสอบเพื่อตรวจหาเชื้อที่สร้างสารปฏิชีวนะซึ่งประกอบด้วยชั้นของวุ้น 4 ชั้น (four agar layer plate) ชั้นแรกประกอบด้วยอาหารที่ฆ่าเชื้อแล้ว 15 มิลลิลิตร ชั้นที่สองประกอบด้วย 0.5 มิลลิลิตรของอาหารเหลวซึ่งมีวุ้น 0.25 เปอร์เซ็นต์กับสารละลายดินที่จะให้เชื้อ 30-50 โคโลนีต่อจาน ชั้นที่สามประกอบด้วยชั้นของอาหารวุ้นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10-15 มิลลิลิตร และชั้นที่สี่จะใช้อาหารวุ้นที่มีสารละลายแบคทีเรีย 3 มิลลิลิตร เททับลงบนผิวหน้า

Lechavalier และ Corke (1953) คิดวิธีตรวจสอบหาเชื้อที่สร้างสารปฏิชีวยนะโดยการดัดแปลงมาจากวิธีการของ Lederberg' s replica plate method (Lederberg, 1952) ซึ่งทำได้โดยใส่ substrate ที่เชื้อเจริญอยู่ตามธรรมชาติลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเหมาะสมต่อการสร้างสารปฏิชีวนะทั้งหมด ทำซ้ำ 4 ครั้งหรือมากกว่า 1 ใน 4 แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น ส่วนที่เหลือเพาะด้วยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบตรวจหาเชื้อที่สร้างสารปฏิชีวนะ เลือกเก็บโคโลนีที่ต้องการไว้ในจานเลี้ยงเชื้อที่เก็บไว้ในตู้เย็น

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะจากธรรมชาติ นิยมคัดเลือกจากดินโดยทดลองให้แอคติโนซีทส์อยู่ในสภาวะการดำรงชีวิตแบบแข่งขันในดิน การผลิตสารปฏิชีวนะจะทำให้แอคติโนมัยซีทส์เข้าสู่การเจริญเติบโตในระยะการเติบโตคงที่ (stationary phase) หรือเข้าสู่ระยะการสร้างสปอร์ (sporulation) (Coyne, 1999) เมื่อได้สารปฏิชีวนะแล้วนำมาทดสอบคุณสมบัติของสาร เช่น การทำ disc diffusion test โดยการนำกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อก่อโรคถ่ายลงไปในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็งอยู่และก่อนที่จะนำไปบ่มให้นำแผ่นกระดาษทดสอบ (paper disc) ไปดูดซับสารปฏิชีวนะต่างชนิดกันแล้วนำไปวางไว้ยังจุดต่าง ๆ กันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สารปฏิชีวนะจะแพร่กระจายในแต่ละแผ่นกระดาษ ถ้าจุลินทรีย์ไวต่อสารปฏิชีวนะจะเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) รอบ ๆ แผ่นกระดาษ วิธีการนี้ไม่เหมาะกับแบคทีเรียที่เติบโตช้า ตัวอย่างเช่น *Mycobacterium tuberculosis* เพราะจะทำให้สารปฏิชีวนะแพร่ออกไปก่อนที่แบคทีเรียจะเจริญ เชื้อที่นำมาใช้ต้องเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเติบโตได้ภายในเวลาข้ามคืนจึงจะเหมาะสม (Singleton, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15 การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในอาหารเหลว

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่เจริญในอาหารเหลวเมื่อเลี้ยงแบบเขย่า ส่วนใหญ่มักมีการเจริญแบบที่เส้นใยอัดแน่นเป็นเม็ดกลม ๆ (pellet) โดยเฉพาะเชื้อ *Streptomyces* ซึ่งแม้จะเป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวกัน แต่อาจมีลักษณะ pellet ที่แตกต่างกันได้ขึ้นอยู่กับปริมาณการลงเชื้อเริ่มต้น pellet ที่เกิดขึ้นจะจำกัดการขนถ่ายมวลสารและทำให้เกิด solute gradient ขึ้นภายใน pellet เซลล์ที่อยู่ในส่วนกลางจะถูกจำกัดธาตุอาหารและเมื่อ pellet เพิ่มขนาดใหญ่ขึ้นการเจริญก็จะเกิดขึ้นเฉพาะส่วนพื้นผิวภายนอกเท่านั้น

ปัญหาการเกิด pellet นี้ เกิดขึ้นได้กับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่เป็นเส้นใย สำหรับเชื้อราบางชนิดอาจลดปัญหาการเกิด pellet โดยการเติมสารพวก polyanion ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ สารพวกนี้จะไปชักนำให้เกิด electrostatic repulsion ระหว่างสปอร์หรือเซลล์ ซึ่งจะทำให้เกิดการขัดขวางการเกาะกลุ่มกันของสปอร์ใน inoculum ซึ่งจะก่อให้เกิดการจับกันของเส้นใยในขณะที่เลี้ยงในอาหารเหลวด้วย สารพวก polyanion เช่น วุ้น Carbopol และ Junlon ที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณน้อย ๆจะช่วยทำให้เชื้อ *Streptomyces* มีการเจริญแบบแผ่กระจายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่นำมาใช้ในการทดลองคัดแยกจากตัวอย่างดินและตะกอนดินที่เก็บมาจาก เกาะห้า จ.พังงา, เกาะรอกใน จ.ตรัง เกาะปอและเกาะลันตา จ.กระบี่ ด้วยอาหาร Humic acid-Vitamin agar และอาหาร Starch casein agar บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน จากนั้นทำการแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Cross- streak บนอาหารแข็ง Yeast extract-Malt extract โดยที่เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้มี 20 ไอโซเลต ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ 20 ไอโซเลต

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลตที่แยกได้
เกาะลันตา จังหวัดกระบี่ (LT)	ดินตะกอนใต้ทะเล (LT 1)	LT 1-13, LT 1-14
	ดินตะกอนใต้ทะเล (LT 3)	LT 3-12, LT 3-17, LT 3-20, LT 3-21, LT 3-25
เกาะปอ จังหวัดกระบี่ (POR)	ดินตะกอนใต้ทะเล (POR 4)	POR 4-2, POR 4-3, POR 4-4, POR 4-5, POR 4-6, POR 4-7, POR 4-8
เกาะรอกใน จังหวัดตรัง (ROK)	ดินตะกอนใต้ทะเล (ROK 1)	ROK 1-2, ROK 1-4, ROK 1-16, ROK 1-17
เกาะห้า จังหวัดพังงา (HAR)	ดินตะกอนใต้ทะเล (HAR 1)	HAR 1-8
	ดินตะกอนใต้ทะเล (HAR 2)	HAR 2-12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้

จากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จำนวน 20 ไอโซเลต ที่แยกได้ สามารถจัดกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญได้เป็น 6 กลุ่มดังนี้

4.2.1 กลุ่มที่ 1

เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีเหลืองอ่อน ไม่พบรงควัตถุที่ละลายน้ำแพร่ซึมในอาหาร สปอร์มีลักษณะตรง เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต LT 3-12, LT 3-20 และ POR 4-8 ดังแสดงในตารางที่ 5 และภาพประกอบที่ 26, 27

ตารางที่ 5 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 1

ไอโซเลต	การเจริญ	สีของโคโลนีด้านบน	สีของโคโลนีด้านล่าง	รงควัตถุ	สปอร์
LT 3-12	ดี	เทาแกมเหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน	-	ตรง
LT 3-20	ดี	เทาแกมเหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน	-	ตรง
POR 4-8	ดี	เทา	เหลืองอ่อน	-	ตรง

ภาพที่ 26 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-12 **ภาพที่ 27** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

4.2.2 กลุ่มที่ 2

เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีเหลืองถึงสีน้ำตาลเข้ม พบรงควัตถุที่ละลายน้ำสีน้ำตาลแพร่ซึมในอาหาร สปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วย เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต LT 1-14, LT 3-17, LT 3-21, POR 4-3, POR 4-4 และ HAR 2-12 ดังแสดงในตารางที่ 6 และภาพประกอบที่ 28, 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 2

ไอโซเลต	การเจริญ	สีของโคโลนีด้านบน	สีของโคโลนีด้านล่าง	รงควัตถุ	สปอร์
LT 1-14	ดี	เทาเข้ม	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาล	ขดเป็นเกลียว
LT 3-17	ดี	เทาอมเหลือง	เหลือง	เหลือง	ขดเป็นเกลียว
LT 3-21	ดี	เทาอมเหลือง	เหลือง	เหลือง	ขดเป็นเกลียว
POR 4-3	ดี	เทาแกมน้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	ขดเป็นเกลียว
POR 4-4	ดี	เทาแกมน้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	ขดเป็นเกลียว
HAR 2-12	ดี	เทาแกมน้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	ขดเป็นเกลียว

ภาพที่ 28 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-21

ภาพที่ 29 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

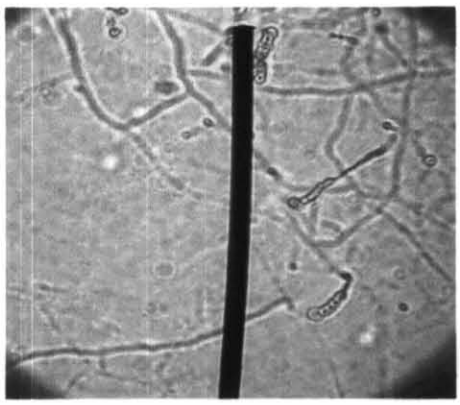
4.2.3 กลุ่มที่ 3

เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาแกมน้ำตาลและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีน้ำตาลเข้มถึงดำ พบรงควัตถุที่ละลายน้ำสีน้ำตาลอ่อนแพร่ซึมในอาหาร สปอร์มีลักษณะตรง เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วย เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต LT 1-13 และ POR 4-2 ดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพประกอบที่ 30,31

ตารางที่ 7 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 3

ไอโซเลต	การเจริญ	สีของโคโลนีด้านบน	สีของโคโลนีด้านล่าง	รงควัตถุ	สปอร์
LT 1-13	ดี	เทาแกมน้ำตาล	ดำแกมเขียว	น้ำตาลอ่อน	ตรง
POR 4-2	ดี	เทาแกมน้ำตาล	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลอ่อน	ตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



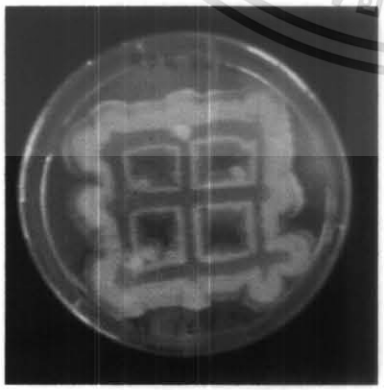
ภาพที่ 30 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-2 **ภาพที่ 31** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

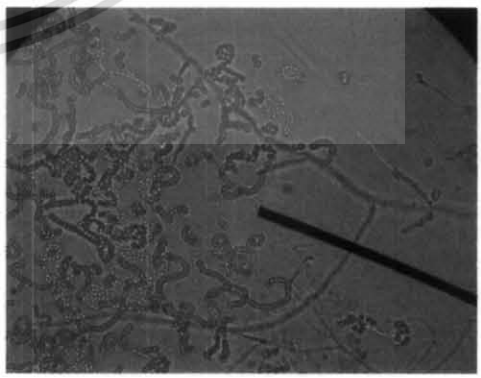
4.2.4 กลุ่มที่ 4

เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาอ่อนและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีชมพู ไม่พบรงควัตถุที่ละลายน้ำแพร่ซึมในอาหาร สปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต POR 4-7, ROK 1-4 และ ROK 1-17 ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพประกอบที่ 32 , 33

ตารางที่ 8 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 4

ไอโซเลต	การเจริญ	สีของโคโลนีด้านบน	สีของโคโลนีด้านล่าง	รงควัตถุ	สปอร์
POR 4-7	ดี	เทาอ่อน	ชมพู	-	ขดเป็นเกลียว
ROK 1-4	ดี	เทาอ่อน	ชมพู	-	ขดเป็นเกลียว
ROK 1-17	ดี	เทาอ่อน	ชมพู	-	ขดเป็นเกลียว





ภาพที่ 32 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-17 **ภาพที่ 33**แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.5 กลุ่มที่ 5

เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาอ่อนและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีเทาเข้ม ไม่พบรงควัตถุที่ละลายน้ำแพร่ซึมในอาหาร สปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต LT 3-25 และ HAR 1-8 ดังแสดงในตารางที่ 9 และภาพประกอบที่ 34, 35

ตารางที่ 9 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 5

ไอโซเลต	การเจริญ	สีของโคโลนีด้านบน	สีของโคโลนีด้านล่าง	รงควัตถุ	สปอร์
LT 3-25	ดี	เทาอ่อน	เทาเข้ม	-	ขดเป็นเกลียว
HAR 1-8	ดี	เทาอ่อน	เทาเข้ม	-	ขดเป็นเกลียว

ภาพที่ 34 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-25 **ภาพที่ 35** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

4.2.6 กลุ่มที่ 6

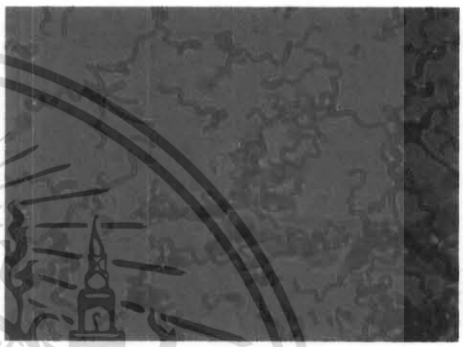
เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีน้ำตาลอ่อนอมเหลือง ไม่พบรงควัตถุที่ละลายน้ำแพร่ซึมในอาหาร สปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว เชื้อในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-2 และ ROK 1-16 ดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพประกอบที่ 36, 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 6

ไอโซเลต	การเจริญ	สีของโคโลนีด้านบน	สีของโคโลนีด้านล่าง	รงควัตถุ	สปอร์
POR 4-5	ดี	เทาอ่อน	น้ำตาลอ่อนอมเหลือง	-	ขดเป็นเกลียว
POR 4-6	ดี	เทาเข้ม	น้ำตาลอ่อนอมเหลือง	-	ขดเป็นเกลียว
ROK 1-2	ดี	เทาอ่อน	น้ำตาลอ่อนอมเหลือง	-	ขดเป็นเกลียว
ROK 1-16	ดี	เทาอ่อน	น้ำตาลอ่อนอมเหลือง	-	ขดเป็นเกลียว

ภาพที่ 36 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-5



ภาพที่ 37 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

4.3 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบของสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้

4.3.1 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบของสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซีเตท

จากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ทั้ง 20 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบเบื้องต้นพบว่ามี 18 ไอโซเลต ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยที่มีเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จำนวน 16 ไอโซเลตที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบที่ดี และมี 2 ไอโซเลต ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบค่อนข้างอ่อน ในจำนวนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่แยกได้ในครั้งนี้พบว่ามี 8 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa*, มี 11 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Micrococcus luteus*, มี 9 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, มี 7 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Bacillus subtilis* และมี 1 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Escherichia coli* จากการทดสอบครั้งนี้พบว่าไม่มีไอโซเลตใดที่ยับยั้ง *Candida albicans* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion

กลุ่มที่	รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (ม.ม.)					
		Ps. aeruginosa	*M. luteus*	*S. aureus*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
1	LT 3-12	-	15	-	-	-	-
	LT 3-20	-	10	9	8	9	-
	POR 4-8	-	15	13	8	8	-
2	LT 1-14	25	9	12	10	-	-
	LT 3-17	15	28	29	30	7.5	6.5
	LT 3-21	9	34	20	27	-	-
	POR 4-3	-	22	19	10	-	-
	POR 4-4	-	10	7	8	-	-
	HAR 2-12	-	27.5	13.5	15	-	-
3	LT 1-13	-	9	7.5	8.5	8	-
	POR 4-2	-	46	28	48	-	-
4	POR 4-7	12	20	10	13	11	-
	ROK 1-4	20.5	-	-	-	-	-
	ROK 1-17	-	-	-	-	-	-
5	LT 3-25	20	9	12.5	9	-	-
	HAR 1-8	-	-	7	-	-	-
6	POR 4-5	15	-	-	-	-	-
	POR 4-6	18	11.5	-	-	-	-
	ROK 1-2	14	-	-	9	-	-
	ROK 1-16	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

Ps. aeruginosa = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

M. luteus = *Micrococcus luteus* ATCC 9341

S. aureus = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

B. subtilis = *Bacillus subtilis* ATCC 6633

E. coli = *Escherichia coli* ATCC 25922

C. albicans = *Candida albicans* ATCC 10231

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบของสารสกัดหยาบในชั้นเอ็น-บิวทานอล

จากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ทั้ง 20 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบเบื้องต้นพบว่ามี 17 ไอโซเลต ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยที่มีเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จำนวน 16 ไอโซเลตที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบที่ดี และมี 1 ไอโซเลตที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบค่อนข้างอ่อน ในจำนวนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่แยกได้ในคราวนี้พบว่ามี 8 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa*, มี 5 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Micrococcus luteus*, มี 9 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, มี 4 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Bacillus subtilis* และมี 1 ไอโซเลต ที่ยับยั้ง *Escherichia coli* จากการทดสอบครั้งนี้พบว่าไม่มีไอโซเลตใดที่ยับยั้ง *Candida albicans* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion

กลุ่มที่	รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (ม.ม.)					
		Ps. aeruginosa	*M. luteus*	*S. aureus*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
1	LT 3-12	-	9	-	-	-	-
	LT 3-20	-	-	-	-	-	-
	POR 4-8	-	9	18.5	-	-	-
2	LT 1-14	-	-	-	-	-	-
	LT 3-17	16	30	20	24	7	-
	LT 3-21	15	27	19	7	-	-
	POR 4-3	-	17	7	20	-	-
	POR 4-4	-	-	12.5	7	-	-
	HAR 2-12	-	42.5	10	7	-	-
3	LT 1-13	-	-	-	-	-	-
	POR 4-2	10	29	18	20.5	-	-
4	POR 4-7	-	-	20	-	-	-
	ROK 1-4	15	8	7	-	-	-
	ROK 1-17	10	9	7	9	-	-
5	LT 3-25	-	-	-	11	-	-
	HAR 1-8	18.5	8	7	-	7	-
6	POR 4-5	-	-	14.5	-	-	-
	POR 4-6	-	9	16.5	-	13	-
	ROK 1-2	20	8	7	7	-	-
	ROK 1-16	22.5	9	7	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ

Ps. aeruginosa = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

M. luteus = *Micrococcus luteus* ATCC 9341

S. aureus = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

B. subtilis = *Bacillus subtilis* ATCC 6633

E. coli = *Escherichia coli* ATCC 25922

C. albicans = *Candida albicans* ATCC 10231

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทางทะเลที่คัดแยกได้นั้นสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยสารสกัดที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตตจะมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดในส่วนของเอ็น-บิวทานอล ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของกฤษณ์ และคณะ, 2548 ผลของงานวิจัยที่ได้นี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น หากจะพัฒนาต่อควรนำสารที่สกัดได้ไปทำการแยกสารให้บริสุทธิ์และศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารว่าเป็นสารชนิดใด ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารและทำการพิสูจน์สายพันธุ์เชื้อว่าเป็นสายพันธุ์ใดเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาและศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตัวอย่างดินและตะกอนดินใต้ทะเล สามารถทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ได้ทั้งหมด 20 ไอโซเลต และได้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อพบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่แยกได้นั้นสามารถเจริญได้ดีในอาหาร Yeast extract - Malt extract agar และสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) ในโทนสีเทา สร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) ในโทนสีเหลือง, สีน้ำตาล, สีเทา และสีชมพู ลักษณะของสปอร์ที่ดูจากกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยายของภาพ 1000 เท่า มีลักษณะขดเป็นเกลียวเป็นส่วนใหญ่และรองลงมาคือลักษณะตรง ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ออกเป็น 6 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีเหลืองอ่อน ไม่สร้างรงควัตถุและสปอร์มีลักษณะตรง

กลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีเหลืองถึงสีน้ำตาลเข้ม สร้างรงควัตถุสีน้ำตาลและสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว

กลุ่มที่ 3 เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาแกม-น้ำตาลและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีน้ำตาลเข้มถึงดำ สร้างรงควัตถุสีน้ำตาลอ่อนและสปอร์มีลักษณะตรง

กลุ่มที่ 4 เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาอ่อนและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีชมพู ไม่สร้างรงควัตถุและสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว

กลุ่มที่ 5 เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (acrial mycelium) สีเทาอ่อนและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีเทาเข้ม ไม่สร้างรงควัตถุและสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว

กลุ่มที่ 6 เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีเทาและสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) สีน้ำตาลอ่อนอมเหลือง ไม่สร้างรงควัตถุและสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว

ในการศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ทั้ง 20 ไอโซเลต ด้วยวิธี Agar disc diffusion โดยใช้จุลินทรีย์ทดสอบ คือ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้ทั้งในส่วนของเอทิลอะซีเตตและเอ็น-บิวทานอลนั้นให้ผลของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยพบว่า ร้อยละ 96 ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้งหมดมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ และร้อยละ 4 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งสารสกัดที่ได้นี้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และร้อยละ 4 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งสารสกัดที่ได้นี้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบและเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบทั้งสองส่วนที่สกัดได้ พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตตมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอ็น-บิวทานอล โดยสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซีเตตที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบของไอโซเลต POR 4-7 ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 5 ชนิด ส่วนสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอ็น-บิวทานอลที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือ ไอโซเลต LT 3-17 และ POR 4-2 ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 4 ชนิด จากข้อมูลที่ได้ศึกษามาทั้งหมดนี้จะเห็นได้ว่าดินและตะกอนดินใต้ทะเลเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติอีกแหล่งที่น่าสนใจที่ให้ความหลากหลายของเชื้อที่มีประสิทธิภาพสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี จึงเหมาะสำหรับการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ รวมถึงการศึกษาความหลากหลายและอนุกรมวิธานของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านวิทยาศาสตร์สาธารณสุขต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากตัวอย่างดินและตะกอนดินใต้ทะเลเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากทะเล ในการคัดแยกเชื้อและการทดสอบอื่น ๆ ในแต่ละขั้นจำเป็นต้องมีการควบคุมสภาวะให้มีความใกล้เคียงกับน้ำทะเลให้มากที่สุด ฉะนั้นอาหารต่าง ๆ ที่นำมาใช้ในการคัดแยกและการเพาะเลี้ยงเชื้อจึงต้องใช้น้ำทะเลเทียมและควบคุมให้มี pH 7.8-7.9 เพื่อให้เชื้อที่คัดแยกได้นั้นสามารถเจริญและมีชีวิตอยู่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กำพล ศรีวัฒนกุล, คู่มือการใช้ยาฉบับสมบูรณ์, พิมพ์ครั้งที่ 5 ปทุมธานี, สกายบุ๊คส์ 2549

กฤษณ์ สุทธิเสถียรทอง, ชมพูนุช จงสมจิตต และ วลีพร เหลืองอร่ามกุล ,2548, ฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์. กรุงเทพ ฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งามนิจ นนทโส. 2537. Systematic Bacteriology Laboratory. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Aharonowlz.y.and A.L.Demain.1977. Influence of norganic phosphate and organic duffers on cephalospor in production by streptpmyces clavuligerus. Arch. Microbiol.

Arai, T.;K. Takahashi; J. Ishiguro; and K.Yazywa. 1980. increased production of saframycin A and isolation of saframycins J. Antibiotics. 18:201-204

Audhya, T. K. and D. W. Rrssel. 1975. Enniantin production by *Fusarium sambucinum* primary , Secondary and unitary metabolise J. Gen. microbial. 86:327-332

Aharonowitz, Y. 1980. Nitrogen metabolite regulation of antibiotics biosynthesis. Ann. Rev. Micro. 34: 209-233

Alexander Martin. 1999. Microbial Ecology. Introduction to soil microbiology second edition. 36-50.

Barbacid, M. and D. Basquez. H^3 – anisomycin binding to eukaryotic ribosomes. K. Mol. Biol. 84: 603-623

Broodes, R. 1969. Dissolves oxygen control. Process. Biochem. 4: 27-32

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. Order Actinomycetales, Bergey's manual of determinative bacteria. Vol 4. USA.Williams an Wilkin, Balmore.

Bu' Lock, J. D.; D. Hamitlton; M. A. Hulme; A.J. Pwell; H.M. Smalley; D. Sheoherd; an G. No Smith. 1975. Metabolic development and secondary biosynthesis in Penicillium uritieae. Can. J. Microbial. 11: 765-778

Cella, R. and L.C.Vining. 1975. Resistance of Streptomycin a producing stain of *Streptomyces grises.* Can. J. Microbial. 21: 463-471

Coyne S. Mark. 1999. Filamentous Prokaryotes-Actinomyces. Soil Microbiology 101-108

Cross, T. and M. Goodfellow. 1973. Taxonomy and classification of the actinomycetes, pp. 254-261. *In* G. Sykes and F. A. Skiner. Actinomycetes: Characteristics and Practical Importance. Academic Press, London.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Davis, G.H.G. 1959. The classification of certain filamentous bacteria with respect to their chemical composition. K.Gen. Microbial. 21: 612-621.

Demain, A.L. and J. Pirct. 1979. Relationship between antibiotics biosynthesis and sporulation, pp. 183-188. *In* M. Lackner and K. Schreiber (eds.). Regulation of Secondary Product and Plant Hormone Metabolism. Pergamon Press, New York.

D. Dhanasekaran, G. Rajakumar, P. Sivamani, S. Selvamani, A. Panneerselvam & N. Thajuddin: Screening Of Salt Pans Actinomycetes For Antibacterial Agents: *The Internet Journal of Microbiology.* 2005; Volume 1, Number 2.

Drew, S. W. and A. L. Demain. 1975. Production of cephalosporin C by single and double sulfur auxotrophic mutants of *Cephalosparium acremonium*. Antimicrob. Agents Chmother. 8:5-10.

Drew, S.W. and A.L. Demain. 1977. Effect of primary metabolites on secondary metabolism. Ann. Rev. Microbial. 31:342-356.

Ehrilich, J.Q.R. Smith and D.a. Joslyn. 1947. Chloromycetin, a new antibiotic from a soil Actinomycetes. Science. 106:417.

Furukawa, H.;H. Matsuo; T. Deguchi; A. Shiga; and H. Samejima. 1968. Growth-promoting factors for Lactobacillus bifidus ver. pennsylvanicus produces by the amnocarbonyl reaction of – lysine and D-glucose. Agr Biol. Chem. 32:617-623.

Gaden, E.L., Jr. 1960. Microbiological process discussion Bioengineering and Fermentation. Appl. Microbial. 8: 123-131.

Gallo, M. and E. Katz. 1972. Regulation of secondary metabolite biosynthesis : Catabolite Repression of phenxazinone synthase and actinomycin foration by glucose J. bacterial. 109 (2): 659-667.

Goodfellow, M., S.T. Williams and M. Mordarski. 1988. Actinomyces in biotechnology. Academic Press Limited, London. 501 p.

Gottlieb, D. 1976. The production and role antibiotics in soil. J. Antibiotics. 29: 987-1000.

Gottieb, D. 1948. Some properties of an antibiotic obtained from a species of *Streptomyces*. J. Bacterial. 55: 409-417

Haavik, H.I. 1974a. Studies on the formation of bacitracin by *Bacillus licheniformis* : Effect of glucose. J. Gen. Microbial. 81: 383-390.

Haavik, H.I. 1974b. Studies on the formation of bacitracin by *Bacillus licheniformis* : Role of catabolite repression and organic acids. J. Gen. Microbial. 81: 321-326.

Halvorson, H. O.; R. Mansen; and Campbell (ed.). 1972. Sporulation antibiotic of *Bacillue spp.*, Spore V. Am. Society for microbiology

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hurley, L.H. and D. Bialek. 1974. Regulation of antibiotic production: Catabolite ingibition and the dualistic of glucose on indolmycin production. J. Antibiotics. 27: 49-55.

Hynes, M. J. 1974. Effect of ammonium, L-glutamate and L-glutamine on nitrogen catabolism in *Aspergillus nidulans*. J. Bacterial. 120: 1116-1123.

Isono, K.; K. Asahi; and S. Suzuki. 1969. Studies of polymycins, antifungal antibiotic XIII. The structure of polymyxins J. Am. Chem. Soc. 91: 7490-7505.

Iwai, Y.; J. Awaya; T. Kesado; H. Yamada; S. Omra; and I. Hata. 1973. Selective production of cerulenin by *Cephalosporium caerelens* KF-140. J. Ferment. Technol. 51: 575-581.

Iwai. Y. and S.Omura. 1982. Culture condition for screening of new antibiotic. J. Antibiotics. 35: 123-141.

Kanoksilpatham. W. 1981. Studies on antibiotic production by *Streptomyces* and especially a *Streptoverticillium* species. Bangkok: A thesis for Master Degree of Science (Microbiology), Mahidol University.

Kelner, A. 1948. A method for investigating large microbial populations for antibiotic activity. J. Bacterial. 56: 157-162.

Kendo. H; H. Sumomogi; T. Otani; and S. Nakamura. 1979. Neoenactin, A New antifungal antibiotic potentialing polyene antifungal antibiotics I, Fermentation, Extraction; Purification and Physico-chemical and Biological properties. J.Antibiotics. 31: 13-17

Kenel, Y. M. and A. L. Demain. 1978 . Effect of carbon sources on B-lactam antibiotic formation by *Cephalasporium acremonium*. Exp.Mycol. 2: 234-238.

Khoklov, A. S. and I. I. Tovavova. Autoregulator from *Streptomyces griseus*. in Luckner, M. and K. Schreiber (ed.) 1979. Regulation of Secondary product and Plant Hormone Metabolism. New York: Pergamon Press.

Kominek, L.A. 1972. Biosynthesis of novobiocin by *Streptomyces nivcus*. Antimicrob. Agents Chemother. 1: 123-134.

Labeda, D.P. and M.C. Shearer. 1990. Isolation of actinomycetes for biotechnological application, pp. 1-19. *In* D.P. Labeda. (ed.). Isolation of biotechnological organism from nature. McGraw-Hill, USA.

Laskin. A.I. and E.A. Leehevalier. 1973. Hanbook of Microbiology, Vol. III; Microbial products. Ohio; CRC Press, Inc.

Lechavalier, H.A. and C.T. Corke. 1953. The replica plate method for screening antibiotic Producing organisms. Appl. Microbial. 1: 110-112.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lederberg, J. and E.M. Lederberg. 1952 Replica plating and indirect sclection of bacterial Mutants. J. Bacteriol. 63: 339-406.

Lorian. V. 1980. Antibiotics in laboratory medicine. Baltimore :The William and Wilkins.

Lui, C.M.; L.E. McDaniel; and C.P. Schaffner. 1975. Factors affecting the production of Candicidin. Antimicrob. Agents Chemother. 7: 196-202.

Malik, V.S. and L.C. Vining. 1972. Effect of Chloramphenicol on its biosynthesis by *Streptomyces* sp. 3022a. Can. J. Microbial. 18: 137-143.

Marelle L. Yehuda. 2005. The Search for Novel Secondary Metabolite from Marine obligate Actinomycetes.

Martin, J.F. 1977. Control of antibiotic synthesis by phosphate Adv. Biochem. Eng. 6: 105-127.

Martin, J.F. and A.L. Demain. 1980. Control of antibiotic biosynthesis. Microbial. Reviews. 44(2): 230-251.

Martin, J.F.; P. Liras; and A.L. Damain. 1978. ATP and adenylate energy change during phosphate-mediated control of antibiotic synthesis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 83: 822-828.

Masurekar, P. and A.L. Demain. 1972. Lysine control of Penicillin biosynthesis. Can. J. Microbial. 18: 1045-1048.

Meers, J.L.; D.W. Tempest; and C.M. Brown. 1971. Glutamine (awide) :2-oxo-glutarate amino transferaseoxidoreductase (MADP); anzyme involved in the synthesis of glutamate by some bacteria. J. Gen. Microbial. 64: 187-194.

Miller, A.L. and J.F. Walker. 1969. Enzymatic phosphorylation of streptomycin by extract of streptomycin –producing strains of *Streptomyces*. J. Bacterial. 99: 401-405.

Meth, W.L. and C.H. Nash. 1975. Biosynthesis of mycophenolic acid: Purification and characterization of S-adenosyl-L-methionine demethymycophenolic acid 0-methyltmans-ferase. Antimicrob. Agents. Chemother. 8: 321-327.

Nara, T.; T. Komuro; M. Misawa; and Kinoshita.1966. formation of psicose from glucse in autoclaved and uniolated fermentation media. Agri. Biol. Chem.30: 1129-1132.

Nonomura, H. and Y. Ohara. 1969. Distribution of actinomycetes in soil. VI. A culture method Effective for both preferential isolation and enumeration of Microbiospora and *Streptosporangium* strains in soil. J.ferment. Technol. 47: 463-469.

Nimi, O.; G. Ito; S. Sueda; and R. Nomi. 1971. Phosphorylation of streptomycin at C-OH of streotidine society by an intracellularenenzyme of *Streptomyces grideus* . Agri. Biol. Chem.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nomomura, H. and Y. Ohara. 1969. Dlsuribution of actinomycetes in soil. Vl. A culture method effective for both preferential isolation and enumeration of Microbiospora and *Streptosporabgium* strains in soil. J. Ferment. Technol. 47: 463-469.

Ohon. H.: M. Yoshida. Y. Takahashi. ands. Omura. 1980. Improvement of the productivity of elasnin, a specific elastase inhibitor, by *Streptomyces noboritoensis* NM-2753. J. Antibiotics. 33: 474-479.

Okami, Y. and K. Hotta. 1988. Search and discovery of new antibiotics, pp. 36-58. *In* M. Goodfellow, S.T. Williams and M. Mordarski. (eds.). Actinomycetes in biotechnology. Academic Press, London.

Parenti, F. and C. Coronelli. 1979. Members of the genus Actionplanes and their antibiotics. Ann. Rev. Microbial. 33: 389-411.

Paulus, H. 1967. Polymyxins, pp. 254-267. *In* D. Gottlieb and P.D.Shaw (eds.). Antibiotic Vol. II. Springer- Verlag, Inc., New York.

Prival, M. J.: J. E. Brenchley; and Bo Magasonik. 1973. Glutamine synthetase and the regulation of histidase formation in Klehsiella acrogemes. J. Biol. Chem. 248: 4334-4344.

P. Sujatha. K.V.V.S.N. Bapi Raju, T. Ramana. 2005. Studies on a new marine streptomycetes BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiological Rescarch (2005) 119-126.

Reswnick A. D. and Megasanik. 1976. L-Asparaginse of Klebsiellaaerogence: Actibation of its biosynthesis by glutamine systhetase. J. soil. Chem. 251: 2722-2728.

Schlegel G. Hans. 1997. The system of Prokaryotes. General microbiology sixth edition 92-419.

Shimi, I.R.; A. Dewedar; and N. Abdallah. 1971. Yemenimycin A new antibiotic. J. Antibiotics. 24: 283-289.

Soltero, F.V. and M.J. Johnson. 1953. Effect of the Carbohydrate nutritionon penicillin production by *Penicillium chrysogenum* Q-176 Appl. Microbial. 1: 52-57.

Stasly, P.G. 1947. Abacterial spray apparatus useful in searching for antibiotic prlducing Microorganisms. J. Bacterial. 54: 443-445.

Stater, E.C. 1973. The mechanisms of action of the respiratory inhibitor actinomycin Biochem. Biophys Acta. 301: 129-154.

Stevens, C.M.; E.P. Abraham, F. Huang; and C.T. Sih.1962. Incorporution of molecule oxygen at C-17 of cephalosporin C during its biosynthesis. Perspect. Biol. Med. 5: 432.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Suhara. Y.; H.B. Maruyama; Y. Kotoh; Y. Miyasaka; K. Yokose; H. Shirai; K. Takano; P. Quitt; and P. Lanz. 1975. A new antibiotic fumaramidmyoin. II. Isolation, structure and synthesis. J. Antibiotics. 28: 648-655.

Tuffile, C.M. and F. Pinho. 1970. Determination of oxygen transfer coefficients in viscous streptomycetes fermentation. Biotechnol. Bioeng. 12: 849-871.

Umezawa, Ho 1967. Index of antibiotics from Actinomycetes, Vol. I. Tokyo: University of Tokyo Press.

Umezawa, Ho 1978. Index of Antibiotics from Actinomycetex. Vol. II. Tokyo; Japan Scientific Societies Press.

Vanek, Z., L. Dolezilova and Z.Rehacek. 1958. Formation of a mixture of antibiotic substances Including antibiotics of a polyene character by strains of actinomycetes freshly isolated from soil samples. J. Gen. Microbial. 18: 649-657.

Vining, L.C. 1979. Antibiotic tolerance in producer organisms. Adv. Appl. Microbial. 25: 147-148.

Waksman, S.A. 1959. The actinomycetes Vol. I: Nature, Occurrence and activities. The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 327 p.

Waksman, S.A. 1961. The role of Antibiotics in Nature. Perspet. Biol. Med. 4: 271-278.

Waksman, S.A. and Henricil. 1974. Streptomycetaceae, pp. 747-753. *In* R.E. Buchanan and N.E. Gibbons. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

Weinberg, E.D. 1962. Trace-metal control of specific biosynthetic process. Perspect. Biol. Med. 5: 432-445.

Weinberg, E.D. 1970. Biosynthesis of secondary metabolites: Role of trace metals. Adv. Microbial. Physiol. 4: 1-44.

Weinberg, E.D. 1973. Secondary metabolism : Control by temperature and inorganic phosphate. Dey. Ind. Microbial. 15: 70-81.

Weinberg, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden G.H. Wagman. 1964. Gentamicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. Antimicrob. Agents Chemother. 1963: 1-7.

Weinberg, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden G.H. Wagman. 1965. Everninomicin, a New antibiotic complex from *Micronospora carbenacea*. Antimicrob. Agents Chemother. 1964: 24-32.

Weinberg, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden G.H. Wagman. 1968. Halomicin, a New Nicromenospora produced antibiotic. Antimicrob. Agents Chemother. 1967: 435-441.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Weintein, M.J.; C.H. Wagman; J.A. Marquez; R.T. Testa; E.oden; and J.A. Naitz. 1969. Megalomicin, a new macrolide antibiotic complex produced by *Micromonospora.* J. Antibiotics. 22: 253-258.

Weintein, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden and G.H. Wagman. 1964. Gentacicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. Antimicrob. Agents Chemother. 1963: 1-7.

Whitney, J.G.; D.R. Brannon; J.A. Mabe; and K.J. Wickner. 1972. Incorporation of labed precursors into A 16886. B, a novel B-lactam antibiotic produced by *Streptomyces clavuligerus.* Antimicrob. Agents Chamother. 1: 247-251.

Yamaguchi, T. 1965. Comprison of the cell-wall composition of morphologically distinct Actinomycetes. J. of Bacterial. 89: 445-453.

www.pfizerah.com/PAHimages/compliance_pdfs/US_EN_AD_compliance.pdf

www-personal.umich.edu/~vlpec/Gent/gent.html

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Amikacin.svg

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Kanamycin.png

www-ibmc.u-strasbg.fr/upr9002/westhof/PDF/2004_BFrancois_Angew.pdf

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Neomycin.png

www.alanwood.net/pesticides/streptomycin.html

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Vancomycin.png

www.tuit.ut.ee/orb.aw/class=file/action=preview/id=143439/JMB2003.pdf

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Roxithromycin.png

www.makok.pharmacy.psu.ac.th/~tvimon/antibiotic-4-2005.pdf

www.makok.pharmacy.psu.ac.th/~tvimon/antibiotic-4-2005.pdf

www.natres.psu.ac.th/Department/AnimalScience/drug/PowerPoint/Antimicrobial_drugs/282,11, Slide 11

www.gotoknow.org/blog/berm493620/49968

www.thailabonline.com/drug/drug13.htm

www.ilti.kku.ac.th/ams/57/317316/pdf/317316/11isolation_and_identification_of_Actinomycetes.pdf #search=%22Microbispora%22

www.en.wikipedia.org/wiki/Actinomycetes

www.ecoli.bham.ac.uk/index/pics.html

www.sigmaaldrich.com/img/assets/4242/fl_analytiX_2_2002_new.pdf

www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2003/Bpf-en.html

www.denniskunkel.com/DK/DK/Bacteria/24686A.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

www.denniskunkel.com/DK/DK/Bacteria/251412F.html

www8.georgetown.edu/centers/cndls/applications/posterTool/data/users/

Class%20Microbe%20Key.doc

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร

Yeast extract-Malt Extract Agar (YM)

- Yeast Extract	4	กรัม
- Glucose	4	กรัม
- Malt Extract	1	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
- Agar	20	กรัม

Mueller Hinton Agar

- เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาตรที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef.infusion from	300	กรัม
Casamino Acids.Technical	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม
pH 7.3		

Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)

- เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาตรที่ใช้ 65 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

Enzymatic Digest of Casein	10	กรัม
Dextrose	40	กรัม
Agar	15	กรัม
pH 5.6		

<u>หมายเหตุ</u> ไวต่อแสง เมื่อใช้เสร็จต้องปิดฝาให้สนิท

Artificial sea water (น้ำทะเลเทียม) ที่มีความเค็ม 33 ppt.

เป็นเกลือสำเร็จรูปน้ำหนัก 1200 กรัม ,42 ออนซ์ สำหรับ 30 ลิตร ,8 ยูเอสแกลลอน

- โซเดียม	548.249	ไมโครโมลต่อลิตร
- คลอไรด์	598.324	ไมโครโมลต่อลิตร
- แมกนีเซียม	58.657	ไมโครโมลต่อลิตร
- ซัลเฟต	56.981	ไมโครโมลต่อลิตร
- แคลเซียม	18.952	ไมโครโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โปแตสเซียม	11.854	ไมโครโมลต่อลิตร
- ไบคาร์บอเนต	7.624	ไมโครโมลต่อลิตร
- คาร์บอเนต	5.285	ไมโครโมลต่อลิตร
- โบร์ไมด์	2.651	ไมโครโมลต่อลิตร
- สตรอนเตียม	0.865	ไมโครโมลต่อลิตร
- เหล็ก	0.815	ไมโครโมลต่อลิตร
- แบเรียม	0.685	ไมโครโมลต่อลิตร
- ลิเทียม	0.523	ไมโครโมลต่อลิตร
- โมลิบดีนัม	0.495	ไมโครโมลต่อลิตร
- แมงกานีส	0.458	ไมโครโมลต่อลิตร
- อะลูมิเนียม	0.321	ไมโครโมลต่อลิตร
- รูบิเดียม	0.114	ไมโครโมลต่อลิตร
- ไอโอดีน	0.024	ไมโครโมลต่อลิตร
- วานาเดียม	0.003	ไมโครโมลต่อลิตร
- ฟลูออไรด์	0.003	ไมโครโมลต่อลิตร
- สังกะสี	0.002	ไมโครโมลต่อลิตร
- โคบอลท์	0.001	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินเอ	5.268	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินบี	4.397	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินดี3	2.654	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินอี	1.621	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินเค	0.282	ไมโครโมลต่อลิตร
- ไบโอติน	0.114	ไมโครโมลต่อลิตร

Starch casein agar

- Soluble starch	1	กรัม
- Casein	0.1	กรัม
- Potassium phosphate (KH_2PO_4)	0.05	กรัม
- Magnesium sulphate ($MgSO_4$)	0.05	กรัม
- Agar	20	กรัม
- น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

- pH 7.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการ swab

1 นำเชื้อจุลินทรย์ก่อโรค (pathogen) จำนวน 1 ลูป ใส่ลงในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร

2 นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เชื้อผสมเข้ากัน นำไปเทียบความขุ่นกับ McFarland Standard No 0.5

3 นำไม้พันสำลีมาจุ่มลงในหลอดเชื้อก่อโรค ระวังอย่าให้สำลีชุ่มมากเกินไป แล้วนำไม้พันสำลีนั้นมาทาลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยทา 3 ทิศทาง

Agar Disc Diffusion Method

การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางชีววิทยา Agar Disc Diffusion Method เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสารชีวภาพโดยอาศัยหลักการแพร่ ซึ่งโดยทั่วไปนิยมใช้อาหารวุ้นผสมเชื้อทดสอบเทลงในจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง จากนั้นจึงนำกระดาษกรองรูปวงกลม (paper disc) ดูดซับสารที่ต้องการวิเคราะห์วางลงบนอาหารวุ้น หรือเจาะรูอาหารวุ้นเป็นรูปทรงกระบอก แล้วใส่สารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ลงไป สารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่ออกไปตามแนวรัศมีรอบๆ บริเวณที่วางแผ่นกระดาษหรือบริเวณที่เจาะรู ทำให้ยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญของเชื้อทดสอบได้ เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส (inhibition zone) หรือบริเวณการเจริญ (growth zone) ของเชื้อทดสอบจะแปรตามปริมาณของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (สมใจ, 2545)

วิธีการทำ Agar Disc Diffusion Method

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ เตรียมอาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และอาหาร Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) สำหรับยีสต์และรา

2. เตรียมสารละลายแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ โดยเตรียมให้สารละลายมีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5

3. ทำการทา (swab) เชื้อจุลินทรีย์แขวนลอยที่มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 ลงบนอาหารที่เตรียมไว้

4. นำสารสกัดที่ต้องการทดสอบมาทำการละลายด้วยตัวทำละลายที่สามารถละลายได้ โดยให้ความเข้มข้นเป็น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร เมื่อทำการละลายเรียบร้อยแล้วทำการหยดลงบนแผ่นทดสอบ (Disc)

5. เมื่อแผ่นทดสอบ(Disc) แห้งแล้วก็ทำการวางลงบนอาหารที่ทำการทา (swab) เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบไว้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์และรา ทำการบ่มไว้ 24 ชม.

7. ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น

การทำ McFarland standard No.0.5

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2$) ความเข้มข้น 0.048 โมลต่อลิตร (1.17% w/v $BaCl_2.H_2O$)

2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.18 โมลต่อลิตร (1% w/v)

3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 99.5 มิลลิลิตร

4. นำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องวัดความขุ่น ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กำพล ศรีวัฒนกุล, คู่มือการใช้ยาฉบับสมบูรณ์, พิมพ์ครั้งที่ 5 ปทุมธานี, สกายบุ๊คส์ 2549

กฤษณ์ สุทธิเสถียรทอง, ชมพูนุช จงสมจิตต และ วลีพร เหลืองอร่ามกุล ,2548, ฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์. กรุงเทพ ฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งามนิจ นนทโส. 2537. Systematic Bacteriology Laboratory. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Aharonowlz.y.and A.L.Demain.1977. Influence of norganic phosphate and organic duffers on cephalospor in production by streptpmyces clavuligerus. Arch. Microbiol.

Arai, T.;K. Takahashi; J. Ishiguro; and K.Yazywa. 1980. increased production of saframycin A and isolation of saframycins J. Antibiotics. 18:201-204

Audhya, T. K. and D. W. Rrssel. 1975. Enniantin production by *Fusarium sambucinum* primary , Secondary and unitary metabolise J. Gen. microbial. 86:327-332

Aharonowitz, Y. 1980. Nitrogen metabolite regulation of antibiotics biosynthesis. Ann. Rev. Micro. 34: 209-233

Alexander Martin. 1999. Microbial Ecology. Introduction to soil microbiology second edition. 36-50.

Barbacid, M. and D. Basquez. H^3 – anisomycin binding to eukaryotic ribosomes. K. Mol. Biol. 84: 603-623

Broodes, R. 1969. Dissolves oxygen control. Process. Biochem. 4: 27-32

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. Order Actinomycetales, Bergey's manual of determinative bacteria. Vol 4. USA.Williams an Wilkin, Balmore.

Bu' Lock, J. D.; D. Hamitlton; M. A. Hulme; A.J. Pwell; H.M. Smalley; D. Sheoherd; an G. No Smith. 1975. Metabolic development and secondary biosynthesis in Penicillium uritieae. Can. J. Microbial. 11: 765-778

Cella, R. and L.C.Vining. 1975. Resistance of Streptomycin a producing stain of *Streptomyces grises*. Can. J. Microbial. 21: 463-471

Coyne S. Mark. 1999. Filamentous Prokaryotes-Actinomyces. Soil Microbiology 101-108

Cross, T. and M. Goodfellow. 1973. Taxonomy and classification of the actinomycetes, pp. 254-261. *In* G. Sykes and F. A. Skiner. Actinomycetes: Characteristics and Practical Importance. Academic Press, London.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Davis, G.H.G. 1959. The classification of certain filamentous bacteria with respect to their chemical composition. K.Gen. Microbial. 21: 612-621.

Demain, A.L. and J. Pirct. 1979. Relationship between antibiotics biosynthesis and sporulation, pp. 183-188. *In* M. Lackner and K. Schreiber (eds.). Regulation of Secondary Product and Plant Hormone Metabolism. Pergamon Press, New York.

D. Dhanasekaran, G. Rajakumar, P. Sivamani, S. Selvamani, A. Panneerselvam & N. Thajuddin: Screening Of Salt Pans Actinomycetes For Antibacterial Agents: *The Internet Journal of Microbiology.* 2005; Volume 1, Number 2.

Drew, S. W. and A. L. Demain. 1975. Production of cephalosporin C by single and double sulfur auxotrophic mutants of *Cephalosparium acremonium*. Antimicrob. Agents Chmother. 8:5-10.

Drew, S.W. and A.L. Demain. 1977. Effect of primary metabolites on secondary metabolism. Ann. Rev. Microbial. 31:342-356.

Ehrilich, J.Q.R. Smith and D.a. Joslyn. 1947. Chloromycetin, a new antibiotic from a soil Actinomycetes. Science. 106:417.

Furukawa, H.;H. Matsuo; T. Deguchi; A. Shiga; and H. Samejima. 1968. Growth-promoting factors for Lactobacillus bifidus ver. pennsylvanicus produces by the amnocarbonyl reaction of – lysine and D-glucose. Agr Biol. Chem. 32:617-623.

Gaden, E.L., Jr. 1960. Microbiological process discussion Bioengineering and Fermentation. Appl. Microbial. 8: 123-131.

Gallo, M. and E. Katz. 1972. Regulation of secondary metabolite biosynthesis : Catabolite Repression of phenxazinone synthase and actinomycin foration by glucose J. bacterial. 109 (2): 659-667.

Goodfellow, M., S.T. Williams and M. Mordarski. 1988. Actinomyces in biotechnology. Academic Press Limited, London. 501 p.

Gottlieb, D. 1976. The production and role antibiotics in soil. J. Antibiotics. 29: 987-1000.

Gottieb, D. 1948. Some properties of an antibiotic obtained from a species of *Streptomyces*. J. Bacterial. 55: 409-417

Haavik, H.I. 1974a. Studies on the formation of bacitracin by *Bacillus licheniformis* : Effect of glucose. J. Gen. Microbial. 81: 383-390.

Haavik, H.I. 1974b. Studies on the formation of bacitracin by *Bacillus licheniformis* : Role of catabolite repression and organic acids. J. Gen. Microbial. 81: 321-326.

Halvorson, H. O.; R. Mansen; and Campbell (ed.). 1972. Sporulation antibiotic of *Bacillue spp.*, Spore V. Am. Society for microbiology

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hurley, L.H. and D. Bialek. 1974. Regulation of antibiotic production: Catabolite ingibition and the dualistic of glucose on indolmycin production. J. Antibiotics. 27: 49-55.

Hynes, M. J. 1974. Effect of ammonium, L-glutamate and L-glutamine on nitrogen catabolism in *Aspergillus nidulans*. J. Bacterial. 120: 1116-1123.

Isono, K.; K. Asahi; and S. Suzuki. 1969. Studies of polymycins, antifungal antibiotic XIII. The structure of polymyxins J. Am. Chem. Soc. 91: 7490-7505.

Iwai, Y.; J. Awaya; T. Kesado; H. Yamada; S. Omra; and I. Hata. 1973. Selective production of cerulenin by *Cephalosporium caerelens* KF-140. J. Ferment. Technol. 51: 575-581.

Iwai. Y. and S.Omura. 1982. Culture condition for screening of new antibiotic. J. Antibiotics. 35: 123-141.

Kanoksilpatham. W. 1981. Studies on antibiotic production by *Streptomyces* and especially a *Streptoverticillium* species. Bangkok: A thesis for Master Degree of Science (Microbiology), Mahidol University.

Kelner, A. 1948. A method for investigating large microbial populations for antibiotic activity. J. Bacterial. 56: 157-162.

Kendo. H; H. Sumomogi; T. Otani; and S. Nakamura. 1979. Neoenactin, A New antifungal antibiotic potentialing polyene antifungal antibiotics I, Fermentation, Extraction; Purification and Physico-chemical and Biological properties. J.Antibiotics. 31: 13-17

Kenel, Y. M. and A. L. Demain. 1978 . Effect of carbon sources on B-lactam antibiotic formation by *Cephalasporium acremonium*. Exp.Mycol. 2: 234-238.

Khoklov, A. S. and I. I. Tovavova. Autoregulator from *Streptomyces griseus*. in Luckner, M. and K. Schreiber (ed.) 1979. Regulation of Secondary product and Plant Hormone Metabolism. New York: Pergamon Press.

Kominek, L.A. 1972. Biosynthesis of novobiocin by *Streptomyces niveus*. Antimicrob. Agents Chemother. 1: 123-134.

Labeda, D.P. and M.C. Shearer. 1990. Isolation of actinomycetes for biotechnological application, pp. 1-19. *In* D.P. Labeda. (ed.). Isolation of biotechnological organism from nature. McGraw-Hill, USA.

Laskin. A.I. and E.A. Leehevalier. 1973. Hanbook of Microbiology, Vol. III; Microbial products. Ohio; CRC Press, Inc.

Lechavalier, H.A. and C.T. Corke. 1953. The replica plate method for screening antibiotic Producing organisms. Appl. Microbial. 1: 110-112.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lederberg, J. and E.M. Lederberg. 1952 Replica plating and indirect sclection of bacterial Mutants. J. Bacteriol. 63: 339-406.

Lorian. V. 1980. Antibiotics in laboratory medicine. Baltimore :The William and Wilkins.

Lui, C.M.; L.E. McDaniel; and C.P. Schaffner. 1975. Factors affecting the production of Candicidin. Antimicrob. Agents Chemother. 7: 196-202.

Malik, V.S. and L.C. Vining. 1972. Effect of Chloramphenicol on its biosynthesis by *Streptomyces* sp. 3022a. Can. J. Microbial. 18: 137-143.

Marelle L. Yehuda. 2005. The Search for Novel Secondary Metabolite from Marine obligate Actinomycetes.

Martin, J.F. 1977. Control of antibiotic synthesis by phosphate Adv. Biochem. Eng. 6: 105-127.

Martin, J.F. and A.L. Demain. 1980. Control of antibiotic biosynthesis. Microbial. Reviews. 44(2): 230-251.

Martin, J.F.; P. Liras; and A.L. Damain. 1978. ATP and adenylate energy change during phosphate-mediated control of antibiotic synthesis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 83: 822-828.

Masurekar, P. and A.L. Demain. 1972. Lysine control of Penicillin biosynthesis. Can. J. Microbial. 18: 1045-1048.

Meers, J.L.; D.W. Tempest; and C.M. Brown. 1971. Glutamine (awide) :2-oxo-glutarate amino transferaseoxidoreductase (MADP); anzyme involved in the synthesis of glutamate by some bacteria. J. Gen. Microbial. 64: 187-194.

Miller, A.L. and J.F. Walker. 1969. Enzymatic phosphorylation of streptomycin by extract of streptomycin --producing strains of *Streptomyces*. J. Bacterial. 99: 401-405.

Meth, W.L. and C.H. Nash. 1975. Biosynthesis of mycophenolic acid: Purification and characterization of S-adenosyl-L-methionine demethymycophenolic acid 0-methyltmans-ferase. Antimicrob. Agents. Chemother. 8: 321-327.

Nara, T.; T. Komuro; M. Misawa; and Kinoshita.1966. formation of psicose from glucse in autoclaved and uniolated fermentation media. Agri. Biol. Chem.30: 1129-1132.

Nonomura, H. and Y. Ohara. 1969. Distribution of actinomycetes in soil. VI. A culture method Effective for both preferential isolation and enumeration of Microbiospora and *Streptosporangium* strains in soil. J.ferment. Technol. 47: 463-469.

Nimi, O.; G. Ito; S. Sueda; and R. Nomi. 1971. Phosphorylation of streptomycin at C-OH of streotidine society by an intracellularenenzyme of *Streptomyces grideus* . Agri. Biol. Chem.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nomomura, H. and Y. Ohara. 1969. Dlsuribution of actinomycetes in soil. Vl. A culture method effective for both preferential isolation and enumeration of Microbiospora and *Streptosporabgium* strains in soil. J. Ferment. Technol. 47: 463-469.

Ohon. H.: M. Yoshida. Y. Takahashi. ands. Omura. 1980. Improvement of the productivity of elasnin, a specific elastase inhibitor, by *Streptomyces noboritoensis* NM-2753. J. Antibiotics. 33: 474-479.

Okami, Y. and K. Hotta. 1988. Search and discovery of new antibiotics, pp. 36-58. *In* M. Goodfellow, S.T. Williams and M. Mordarski. (eds.). Actinomycetes in biotechnology. Academic Press, London.

Parenti, F. and C. Coronelli. 1979. Members of the genus Actionplanes and their antibiotics. Ann. Rev. Microbial. 33: 389-411.

Paulus, H. 1967. Polymyxins, pp. 254-267. *In* D. Gottlieb and P.D.Shaw (eds.). Antibiotic Vol. II. Springer- Verlag, Inc., New York.

Prival, M. J.: J. E. Brenchley; and Bo Magasonik. 1973. Glutamine synthetase and the regulation of histidase formation in Klehsiella acrogemes. J. Biol. Chem. 248: 4334-4344.

P. Sujatha. K.V.V.S.N. Bapi Raju, T. Ramana. 2005. Studies on a new marine streptomycetes BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiological Rescarch (2005) 119-126.

Reswnick A. D. and Megasanik. 1976. L-Asparaginse of Klebsiellaaerogence: Actibation of its biosynthesis by glutamine systhetase. J. soil. Chem. 251: 2722-2728.

Schlegel G. Hans. 1997. The system of Prokaryotes. General microbiology sixth edition 92-419.

Shimi, I.R.; A. Dewedar; and N. Abdallah. 1971. Yemenimycin A new antibiotic. J. Antibiotics. 24: 283-289.

Soltero, F.V. and M.J. Johnson. 1953. Effect of the Carbohydrate nutritionon penicillin production by *Penicillium chrysogenum* Q-176 Appl. Microbial. 1: 52-57.

Stasly, P.G. 1947. Abacterial spray apparatus useful in searching for antibiotic prlducing Microorganisms. J. Bacterial. 54: 443-445.

Stater, E.C. 1973. The mechanisms of action of the respiratory inhibitor actinomycin Biochem. Biophys Acta. 301: 129-154.

Stevens, C.M.; E.P. Abraham, F. Huang; and C.T. Sih.1962. Incorporution of molecule oxygen at C-17 of cephalosporin C during its biosynthesis. Perspect. Biol. Med. 5: 432.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Suhara. Y.; H.B. Maruyama; Y. Kotoh; Y. Miyasaka; K. Yokose; H. Shirai; K. Takano; P. Quitt; and P. Lanz. 1975. A new antibiotic fumaramidmyoin. II. Isolation, structure and synthesis. J. Antibiotics. 28: 648-655.

Tuffile, C.M. and F. Pinho. 1970. Determination of oxygen transfer coefficients in viscous streptomycetes fermentation. Biotechnol. Bioeng. 12: 849-871.

Umezawa, Ho 1967. Index of antibiotics from Actinomycetes, Vol. I. Tokyo: University of Tokyo Press.

Umezawa, Ho 1978. Index of Antibiotics from Actinomycetex. Vol. II. Tokyo; Japan Scientific Societies Press.

Vanek, Z., L. Dolezilova and Z.Rehacek. 1958. Formation of a mixture of antibiotic substances Including antibiotics of a polyene character by strains of actinomycetes freshly isolated from soil samples. J. Gen. Microbial. 18: 649-657.

Vining, L.C. 1979. Antibiotic tolerance in producer organisms. Adv. Appl. Microbial. 25: 147-148.

Waksman, S.A. 1959. The actinomycetes Vol. I: Nature, Occurrence and activities. The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 327 p.

Waksman, S.A. 1961. The role of Antibiotics in Nature. Perspet. Biol. Med. 4: 271-278.

Waksman, S.A. and Henricil. 1974. Streptomycetaceae, pp. 747-753. *In* R.E. Buchanan and N.E. Gibbons. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

Weinberg, E.D. 1962. Trace-metal control of specific biosynthetic process. Perspect. Biol. Med. 5: 432-445.

Weinberg, E.D. 1970. Biosynthesis of secondary metabolites: Role of trace metals. Adv. Microbial. Physiol. 4: 1-44.

Weinberg, E.D. 1973. Secondary metabolism : Control by temperature and inorganic phosphate. Dey. Ind. Microbial. 15: 70-81.

Weinberg, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden G.H. Wagman. 1964. Gentamicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. Antimicrob. Agents Chemother. 1963: 1-7.

Weinberg, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden G.H. Wagman. 1965. Everninomicin, a New antibiotic complex from *Micronospora carbenacea*. Antimicrob. Agents Chemother. 1964: 24-32.

Weinberg, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden G.H. Wagman. 1968. Halomicin, a New Nicromenospora produced antibiotic. Antimicrob. Agents Chemother. 1967: 435-441.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Weintein, M.J.; C.H. Wagman; J.A. Marquez; R.T. Testa; E.oden; and J.A. Naitz. 1969. Megalomicin, a new macrolide antibiotic complex produced by *Micromonospora.* J. Antibiotics. 22: 253-258.

Weintein, M.J., G.M. Luedemann, E.M. Oden and G.H. Wagman. 1964. Gentacicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. Antimicrob. Agents Chemother. 1963: 1-7.

Whitney, J.G.; D.R. Brannon; J.A. Mabe; and K.J. Wickner. 1972. Incorporation of labed precursors into A 16886. B, a novel B-lactam antibiotic produced by *Streptomyces clavuligerus.* Antimicrob. Agents Chamother. 1: 247-251.

Yamaguchi, T. 1965. Comprison of the cell-wall composition of morphologically distinct Actinomycetes. J. of Bacterial. 89: 445-453.

www.pfizerah.com/PAHimages/compliance_pdfs/US_EN_AD_compliance.pdf

www-personal.umich.edu/~vlpec/Gent/gent.html

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Amikacin.svg

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Kanamycin.png

www-ibmc.u-strasbg.fr/upr9002/westhof/PDF/2004_BFrancois_Angew.pdf

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Neomycin.png

www.alanwood.net/pesticides/streptomycin.html

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Vancomycin.png

www.tuit.ut.ee/orb.aw/class=file/action=preview/id=143439/JMB2003.pdf

www.en.wikipedia.org/wiki/Image:Roxithromycin.png

www.makok.pharmacy.psu.ac.th/~tvimon/antibiotic-4-2005.pdf

www.makok.pharmacy.psu.ac.th/~tvimon/antibiotic-4-2005.pdf

www.natres.psu.ac.th/Department/AnimalScience/drug/PowerPoint/Antimicrobial_drugs/282,11, Slide 11

www.gotoknow.org/blog/berm493620/49968

www.thailabonline.com/drug/drug13.htm

www.ilti.kku.ac.th/ams/57/317316/pdf/317316/11isolation_and_identification_of_Actinomycetes.pdf #search=%22Microbispora%22

www.en.wikipedia.org/wiki/Actinomycetes

www.ecoli.bham.ac.uk/index/pics.html

www.sigmaaldrich.com/img/assets/4242/fl_analytiX_2_2002_new.pdf

www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2003/Bpf-en.html

www.denniskunkel.com/DK/DK/Bacteria/24686A.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

www.denniskunkel.com/DK/DK/Bacteria/251412F.html

www8.georgetown.edu/centers/cndls/applications/posterTool/data/users/

Class%20Microbe%20Key.doc

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร

Yeast extract-Malt Extract Agar (YM)

- Yeast Extract	4	กรัม
- Glucose	4	กรัม
- Malt Extract	1	กรัม
- น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
- Agar	20	กรัม

Mueller Hinton Agar

- เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาตรที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef.infusion from	300	กรัม
Casamino Acids.Technical	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม
pH 7.3		

Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)

- เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาตรที่ใช้ 65 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

Enzymatic Digest of Casein	10	กรัม
Dextrose	40	กรัม
Agar	15	กรัม
pH 5.6		

<u>หมายเหตุ</u> ไวต่อแสง เมื่อใช้เสร็จต้องปิดฝาให้สนิท

Artificial sea water (น้ำทะเลเทียม) ที่มีความเค็ม 33 ppt.

เป็นเกลือสำเร็จรูปน้ำหนัก 1200 กรัม ,42 ออนซ์ สำหรับ 30 ลิตร ,8 ยูเอสแกลลอน

- โซเดียม	548.249	ไมโครโมลต่อลิตร
- คลอไรด์	598.324	ไมโครโมลต่อลิตร
- แมกนีเซียม	58.657	ไมโครโมลต่อลิตร
- ซัลเฟต	56.981	ไมโครโมลต่อลิตร
- แคลเซียม	18.952	ไมโครโมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โปแตสเซียม	11.854	ไมโครโมลต่อลิตร
- ไบคาร์บอเนต	7.624	ไมโครโมลต่อลิตร
- คาร์บอเนต	5.285	ไมโครโมลต่อลิตร
- โบร์โมต์	2.651	ไมโครโมลต่อลิตร
- สตรอนเตียม	0.865	ไมโครโมลต่อลิตร
- เหล็ก	0.815	ไมโครโมลต่อลิตร
- แบเรียม	0.685	ไมโครโมลต่อลิตร
- ลิเทียม	0.523	ไมโครโมลต่อลิตร
- โมลิบดีนัม	0.495	ไมโครโมลต่อลิตร
- แมงกานีส	0.458	ไมโครโมลต่อลิตร
- อะลูมิเนียม	0.321	ไมโครโมลต่อลิตร
- รูบิเดียม	0.114	ไมโครโมลต่อลิตร
- ไอโอดีน	0.024	ไมโครโมลต่อลิตร
- วานาเดียม	0.003	ไมโครโมลต่อลิตร
- ฟลูออไรด์	0.003	ไมโครโมลต่อลิตร
- สังกะสี	0.002	ไมโครโมลต่อลิตร
- โคบอลท์	0.001	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินเอ	5.268	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินบี	4.397	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินดี3	2.654	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินอี	1.621	ไมโครโมลต่อลิตร
- วิตามินเค	0.282	ไมโครโมลต่อลิตร
- ไบโอติน	0.114	ไมโครโมลต่อลิตร

Starch casein agar

- Soluble starch	1	กรัม
- Casein	0.1	กรัม
- Potassium phosphate (KH_2PO_4)	0.05	กรัม
- Magnesium sulphate ($MgSO_4$)	0.05	กรัม
- Agar	20	กรัม
- น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
- pH 7.3		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการ swab

1 นำเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) จำนวน 1 ลูป ใส่ลงในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร

2 นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เชื้อผสมเข้ากัน นำไปเทียบความขุ่นกับ McFarland Standard No 0.5

3 นำไม้พันสำลีมาจุ่มลงในหลอดเชื้อก่อโรค ระวังอย่าให้สำลีชุ่มมากเกินไป แล้วนำไม้พันสำลีนั้นมาทาลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยทา 3 ทิศทาง

Agar Disc Diffusion Method

การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางชีววิทยา Agar Disc Diffusion Method เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสารชีวภาพโดยอาศัยหลักการแพร่ ซึ่งโดยทั่วไปนิยมใช้อาหารวุ้นผสมเชื้อทดสอบเทลงในจานเพาะเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง จากนั้นจึงนำกระดาษกรองรูปวงกลม (paper disc) ดูดซับสารที่ต้องการวิเคราะห์วางลงบนอาหารวุ้น หรือเจาะรูอาหารวุ้นเป็นรูปทรงกระบอก แล้วใส่สารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ลงไป สารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่ออกไปตามแนวรัศมีรอบๆ บริเวณที่วางแผ่นกระดาษหรือบริเวณที่เจาะรู ทำให้ยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญของเชื้อทดสอบได้ เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส (inhibition zone) หรือบริเวณการเจริญ (growth zone) ของเชื้อทดสอบจะแปรตามปริมาณของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (สมใจ, 2545)

วิธีการทำ Agar Disc Diffusion Method

1.เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ เตรียมอาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และอาหาร Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) สำหรับยีสต์และรา

2.เตรียมสารละลายแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ โดยเตรียมให้สารละลายมีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5

3.ทำการทา (swab) เชื้อจุลินทรีย์แขวนลอยที่มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.5 ลงบนอาหารที่เตรียมไว้

4.นำสารสกัดที่ต้องการทดสอบมาทำการละลายด้วยตัวทำละลายที่สามารถละลายได้ โดยให้ความเข้มข้นเป็น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร เมื่อทำการละลายเรียบร้อยแล้วทำการหยดลงบนแผ่นทดสอบ (Disc)

5.เมื่อแผ่นทดสอบ(Disc) แห้งแล้วก็ทำการวางลงบนอาหารที่ทำการทา (swab) เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบไว้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์และรา ทำการบ่มไว้ 24 ชม.

7. ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น

การทำ McFarland standard No.0.5

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2$) ความเข้มข้น 0.048 โมลต่อลิตร (1.17% w/v $BaCl_2.H_2O$)

2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.18 โมลต่อลิตร (1% w/v)

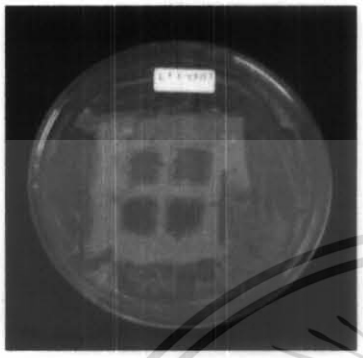
3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 99.5 มิลลิลิตร

4. นำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องวัดความขุ่น ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

แสดงภาพการเจริญและลักษณะสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้

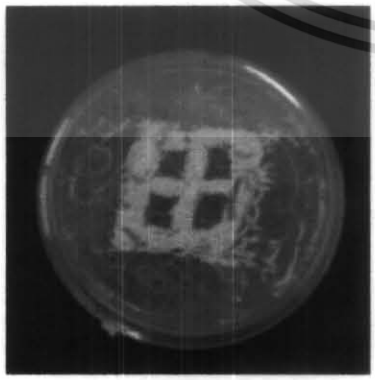


ภาพที่ 38 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 1-13

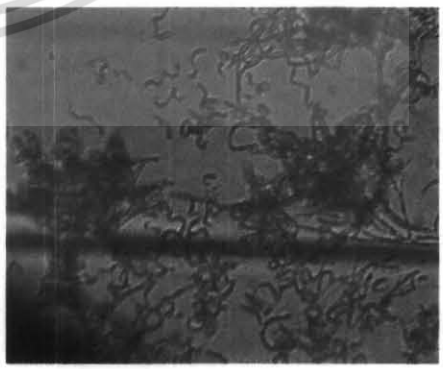
ภาพที่ 39 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

ภาพที่ 40 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 1-14

ภาพที่ 41 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า



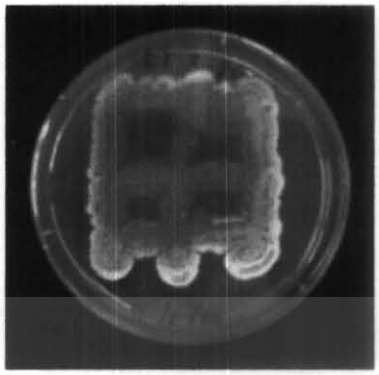
ภาพที่ 42 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-17

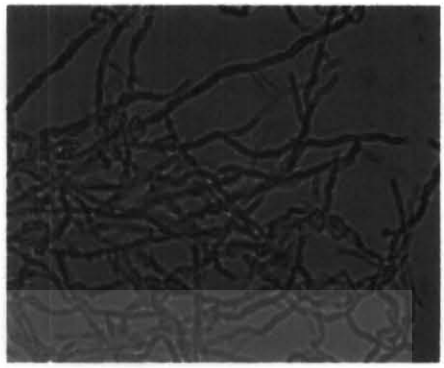


ภาพที่ 43 แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

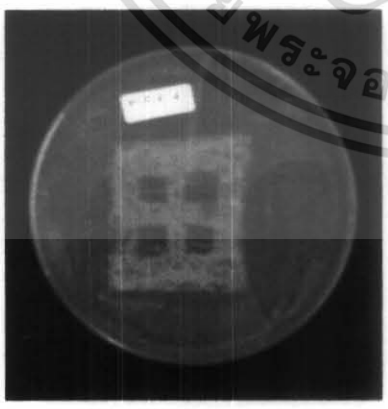
แสดงภาพการเจริญและลักษณะสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ (ต่อ)

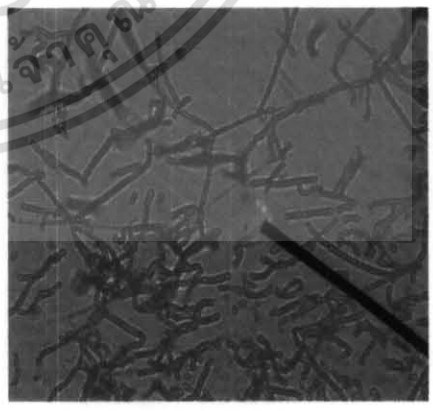




ภาพที่ 44 แสดงการเจริญของไอโซเลต LT 3-20 **ภาพที่ 45** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

ภาพที่ 46 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-3 **ภาพที่ 47** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

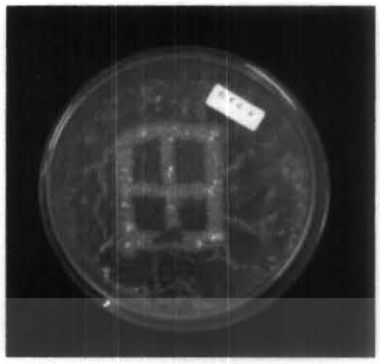


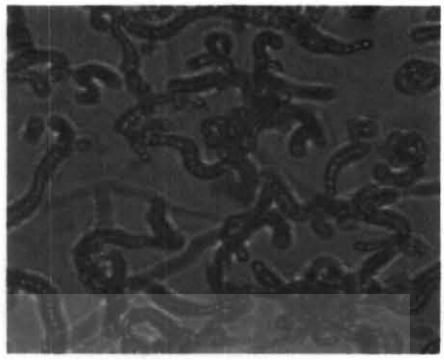


ภาพที่ 48 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-4 **ภาพที่ 49** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

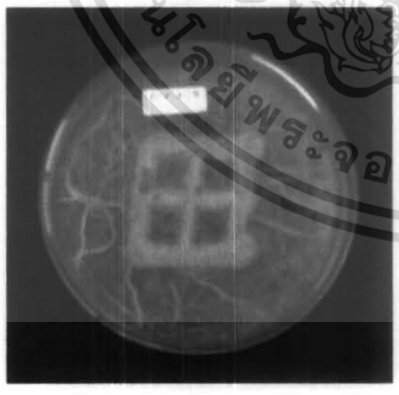
แสดงภาพการเจริญและลักษณะสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ (ต่อ)





ภาพที่ 50 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-6 **ภาพที่ 51** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

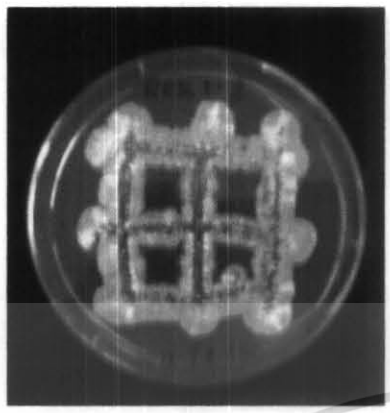
ภาพที่ 52 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-7 **ภาพที่ 53** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า



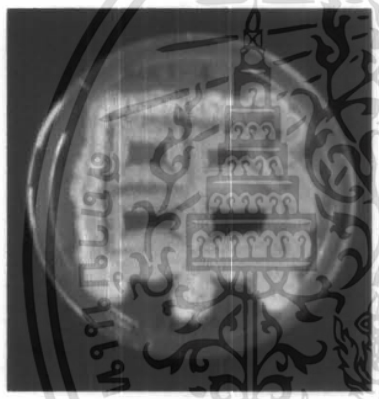
ภาพที่ 54 แสดงการเจริญของไอโซเลต POR 4-8 **ภาพที่ 55** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

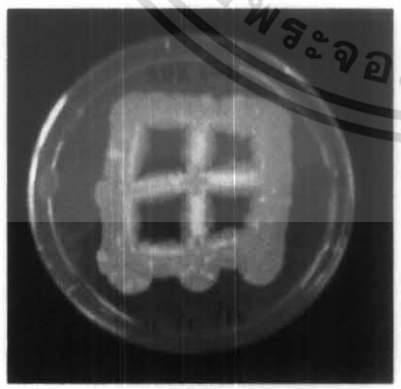
แสดงภาพการเจริญและลักษณะสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ (ต่อ)

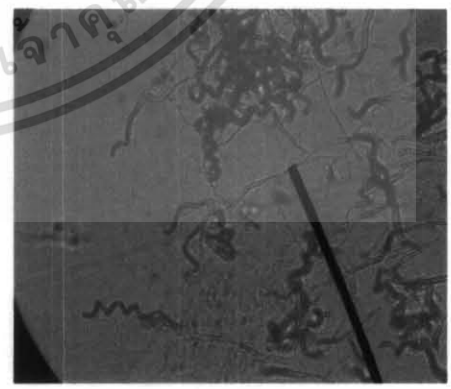


ภาพที่ 56 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-2 **ภาพที่ 57** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า



ภาพที่ 58 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-4 **ภาพที่ 59** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

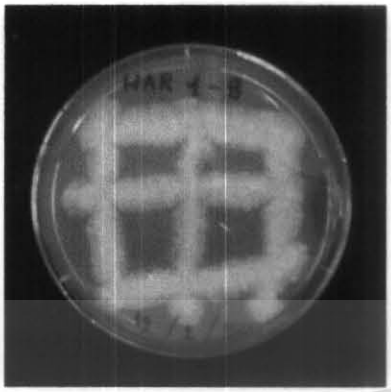


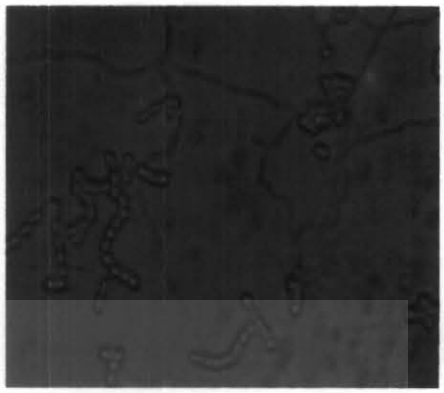


ภาพที่ 60 แสดงการเจริญของไอโซเลต ROK 1-16**ภาพที่ 61** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงภาพการเจริญและลักษณะสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ (ต่อ)



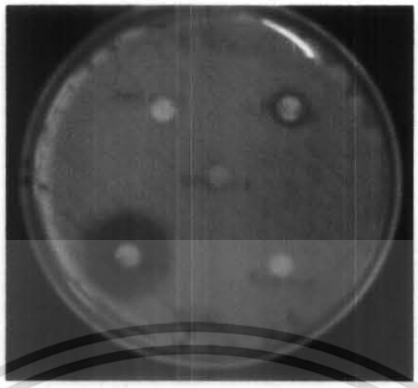


ภาพที่ 62 แสดงการเจริญของไอโซเลต HAR 1-8 **ภาพที่ 63** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

ภาพที่ 64 แสดงการเจริญของไอโซเลต HAR 2-12 **ภาพที่ 65** แสดงลักษณะสปอร์ที่กำลังขยาย1000เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงภาพตัวอย่างผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ ผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซีเตต

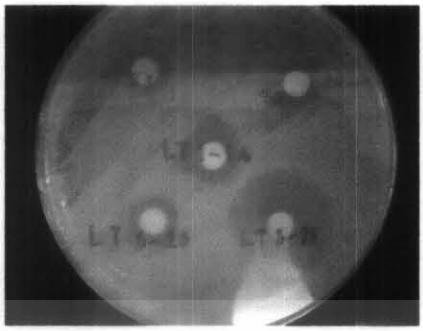


ภาพที่ 66 แสดงผลการทดสอบของไอโซเลต POR 4-3, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9341

ภาพที่ 67 แสดงผลการทดสอบของไอโซเลต POR 4-3, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

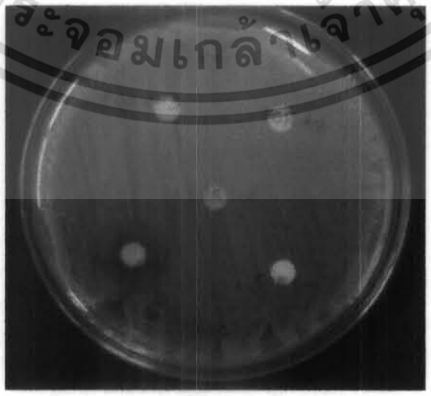
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซีเตต (ต่อ)



ภาพที่ 68 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 1-14, LT 3-25 และ LT 3-21 กับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

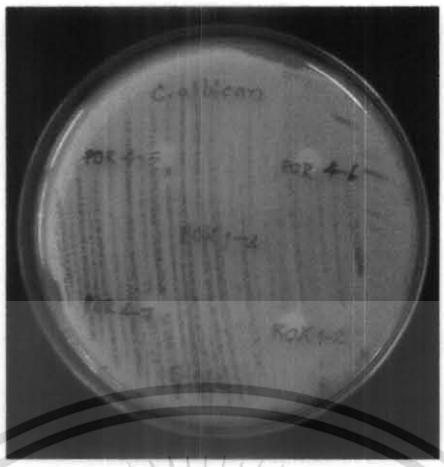
ภาพที่ 69 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633



ภาพที่ 70 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซีเตต (ต่อ)



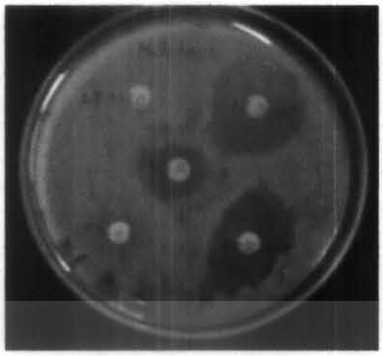
ภาพที่ 71 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-5, POR 4-6, ROK 1-4, POR 4-7 และ ROK 1-2 กับเชื้อ *Candida albican* ATCC 10231

ผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอ็น-บิวทานอล

ภาพที่ 72 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-17, LT 1-13 และ LT 3-12 กับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

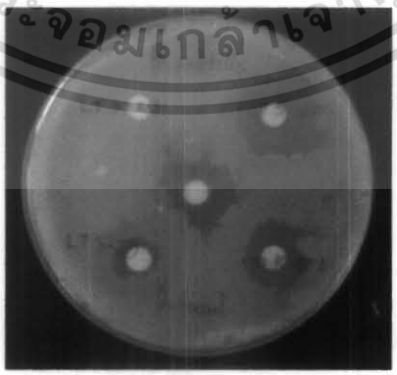
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอ็น-บิวทานอล (ต่อ)



ภาพที่ 73 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-20, LT 3-21, POR 4-3, LT 3-25 และ POR 4-2 กับเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 9341

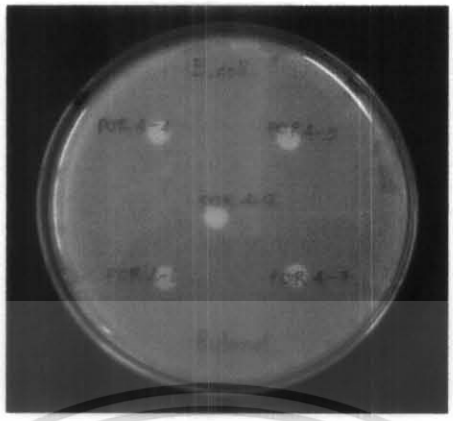
ภาพที่ 74 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-20, LT 3-21, POR 4-3, LT 3-25 และ POR 4-2 กับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



ภาพที่ 75 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต LT 3-20, LT 3-21, POR 4-3, LT 3-25 และ POR 4-2 กับเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอ็น-บิวทานอล (ต่อ)



ภาพที่ 76 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต POR 4-4, POR 4-5, POR 4-8, POR 4-6 และ POR 4-7 กับเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922

ภาพที่ 77 แสดงผลการทดลองของไอโซเลต ROK 1-2, ROK 1-4, HAR 1-8, ROK 1-17 และ ROK 1-16 กับเชื้อ *Candida albican* ATCC 10231

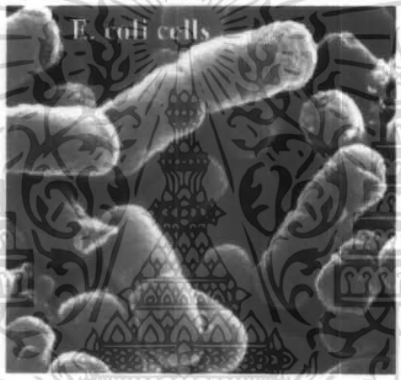
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

เชื้อที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

Escherichia coli

รูปร่างเป็นท่อนตรง เจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจน และไร้ออกซิเจนปกติเชื้อ *E. coli* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบมากในลำไส้ของคนและสัตว์ แต่มีเชื้อ *E. coli* บางซีโรไทป์ (serotype) ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ในคนและในสัตว์ โดยการปนเปื้อนในเชื้อในอาหารและน้ำดื่ม ปวดท้องอย่างรุนแรง ต่อมาถ่ายเป็นเลือดปน หรือเลือดสด บางรายไม่ถ่ายเป็นเลือด อาจอาเจียน ไม่มีไข้ หรือมีไข้เล็กน้อย ไม่มีมูกปน ระยะฟักตัวของโรค 3-5 วัน ในส่วนที่เรียกว่า Submucosal edema มีการหดตัวอย่างรุนแรง ลำไส้ขดงอ และมีเลือดคั่ง

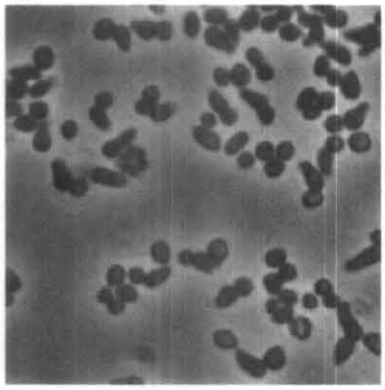


ภาพที่ 78 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*
ที่มา : www.ecoli.bham.ac.uk/index/pics.html

Pseudomonas aeruginosa

เป็นเชื้อก่อโรคประเภทฉวยโอกาส โดยจะเข้าทำให้เกิดโรคขณะร่างกายอ่อนแอ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ต้องการอากาศในการหายใจ มีลักษณะเป็นท่อนอยู่ใน Family ของ *Pseudomonas* โดยถิ่นที่อยู่นั้นพบได้ทั่วไปทั้งในดินและน้ำ นอกจากนั้นยังพบตามผิวของพืชและสัตว์บางชนิดด้วย สามารถชักนำให้ก่อโรคในพืชได้ด้วยและยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ, การติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ, โรคผิวหนัง, การติดเชื้อในอวัยวะภายในพบในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็ง, ผู้ป่วยที่เกิดจากแผลไฟไหม้ หากมีการติดเชื้อจะมีอัตราการตายถึง 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

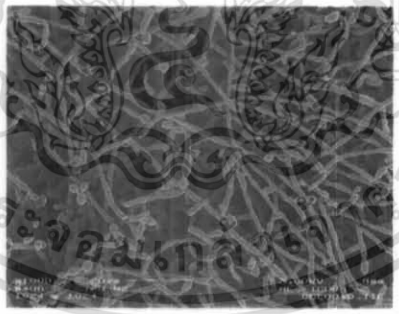


ภาพที่ 79 แสดงลักษณะของ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : www.sigmaaldrich.com/img/assets/4242/fl_analytiX_2_2002_new.pdf

Candida albicans

เป็นยีสต์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-20 ไมโครเมตร มีการสร้างเส้นสายเทียม (Pseudohyphae) ขณะทำการแบ่งเซลล์โดยปกติจะมีลักษณะเซลล์เป็นวงรีเป็นเซลล์เดี่ยวมีการขยายพันธุ์โดยการแตกหน่อ แต่เมื่ออยู่ในอุณหภูมิของร่างกายมนุษย์จะมีการสร้างเส้นสาย (Hypha) ออกมา โดย *Candida albicans* เป็นสาเหตุของการเกิดโรค Candidiasis โดยพบในร่างกายมนุษย์ปกติด้วยแต่จะไม่แสดงอาการของโรค แต่เมื่อร่างกายอ่อนแอเชื้อจะแสดงอาการออกมาในลักษณะของเชื้อฉวยโอกาส การติดเชื้อจะติดเชื้อที่ผิวหนัง, เยื่อเมือกหรืออาจติดในกระแสเลือดได้



ภาพที่ 80 แสดงลักษณะของ *Candida albicans*

ที่มา : www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2003/Bpf-en.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus subtilis

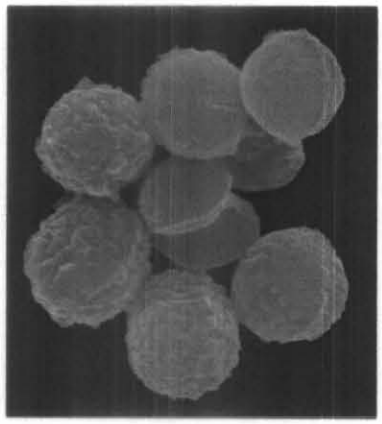
เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ Catalase สามารถพบได้ทั่วไปในดินอยู่ในจีนัส bacillus สามารถสร้าง Endospore โดยจะทนสภาวะที่ไม่เหมาะสมมากๆ ได้ *Bacillus subtilis* เป็นพวกที่ต้องการอากาศอย่างแท้จริง *Bacillus subtilis* เป็นเชื้อที่ไม่ทำอันตรายต่อมนุษย์โดยตรง แต่จะเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นเหตุให้เกิดอาหารเป็นพิษ โดยสปอร์สามารถอยู่รอดได้ในอาหารที่ให้ความร้อนสูงและยังทำให้เกิดเมือกในขนมปัง

ภาพที่ 81. แสดงลักษณะของ *Bacillus subtilis*
ที่มา : http://www.denniskunkel.com/DK/DK/Bacteria/24686A.html

Micrococcus luteus

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีลักษณะกลมเป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สารอยู่ใน Family ของ *Micrococcaceae* ลักษณะถิ่นที่อยู่พบได้ทั่วไปในดิน, ฝุ่นละออง, น้ำ และอากาศ นอกจากนี้ยังคงเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นบนผิวหนังของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยพบในมนุษย์บริเวณปาก, เยื่อเมือก, ทางเดินหายใจ นอกจากนี้ *Micrococcus luteus* พบจากการติดเชื้อจากการรักษาในโรงพยาบาลด้วย *Micrococcus luteus* สามารถทนต่อความแห้งและปริมาณความเข้มข้นของเกลือที่สูงได้เป็นอย่างดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 82 แสดงลักษณะของ *Micrococcus luteus*

ที่มา : www.denniskunkel.com/DK/DK/Bacteria/251412F.html

Staphylococcus aureus

เชื้อนี้สร้าง entrotoxin ที่ผนังของลำไส้ เชื้อมีลักษณะแกรมลบและแกรมบวกอยู่เป็นกลุ่มหรือสายสั้นๆ ส่วนมากเป็นเอนไซม์แอกคูเลส เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ บางพวกทนเกลือได้สูง สามารถเจริญได้ในอาหารไปรตีน แต่อาหารยังคงมีลักษณะคล้ายของเดิมมี 6 ชนิด การเจริญและสร้างสารพิษขึ้นอยู่กับอาหาร อุณหภูมิ4-46 องศาเซลเซียส เจริญและสร้างสารพิษได้ pH 4.8-8.0 เจริญได้ที่สร้างทนความร้อนได้ดี ความร้อนที่อุณหภูมิพาสเจอไรซ์ (72 องศาเซลเซียส 15 นาที) และ Ultrahigh temperature (143.3 องศา-เซลเซียส 9 นาที) นั้นสารพิษยังทนได้ เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ ในคนเชื้อนี้สามารถก่อโรคได้หลายชนิด เช่น รูขุมขนอักเสบ ฝีหนองบริเวณผิวหนัง การติดเชื้อหลังการผ่าตัด กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ สมองอักเสบ ปอดบวม นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารพิษ (toxin) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน (Quinn et al., 1994) ส่วนในทางสัตวแพทย์เชื้อนี้จัดอยู่ในกลุ่ม contagious mastitic pathogen ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมทั้งแบบที่แสดงอาการ (clinical mastitis) และไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis)

ภาพที่ 83 แสดงลักษณะของ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : www8.georgetown.edu/centers/cndls/applications/posterTool/data/users/Class%20Microbe%20Key.doc

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้