บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การศึกษาค้นคว้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรามีมานานกว่า 50 ปี โดยเริ่มขึ้นหลังการค้นพบสารเพนิซิลินจากเชื้อรา *Penicillium notatum* ในปี คศ. 1929 (Wainwright, 1990) ต่อมาก็มีการค้นพบสารเซฟาโลสปอรินจากเชื้อ *Acremonium chrysogenum* (Elander and Lowe, 1992) และมีการนำอนุพันธ์ของยา 2 กลุ่มนี้มาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียอย่างกว้างขวาง ทำให้เกิดปัญหาการดื้อยา จึงมีความจำเป็นที่จะต้องค้นคว้าหายาตัวใหม่ๆ ตลอดเวลา ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ก็ยังให้ความสนใจในการศึกษาค้นคว้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อราอย่างต่อเนื่อง ดังเช่นการศึกษาของ Krohn และคณะ (1994) ศึกษาพบสารเมแทบอไลท์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากรา *Coniothyrium* sp. นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาพบสาร mycosporulone ซึ่งสกัดจากส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเอธิลอะซิเตทจากเชื้อ *Coniothyrium sporulosum* สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, penicillin-resistant *Staphylococcus aureus* โดยมีค่า minimum inhibitiory concentration (MIC) เท่ากับ 14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยังสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albicans*, *C. tropicalis* (ที่ดื้อและไวต่อยา amphotericin B), *C. parapsilopsis* และ *Cryptococcus neoformans* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกัน (Guiraud *et al.*, 1999) Wang และ Gloer (1995) ศึกษาพบว่าสารสกัดจาก *Sporomiella teretispora* สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis*, *S. aureus* และ *C. albicans* Pelaez และคณะ (1998) ศึกษาพบว่าราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชที่เจริญบนดินยิปซัมร้อยละ 24.06 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ได้ และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าเชื้อรา Sponga และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาหาเมแทบอไลท์จากราที่พบในทะเล พบว่าราจำนวนร้อยละ 1.2 สามารถยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecium*, ร้อยละ 0.6 สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และร้อยละ 2.2 สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

ในระยะหลังได้มีผู้สนใจศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดและราน้ำกันมากขึ้น โดย Lorenzen และ Anke (1998) ศึกษาพบว่าราในกลุ่ม Basidiomycetes เป็นแหล่งสำคัญของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ยังมีการศึกษาพบว่าสารจากเห็ดหอมที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เอธิลอะซิเตทและน้ำ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่

พบในช่องปาก เช่น *Streptococcus* sp. และ *Porphyromonas gingivalis* (Hirasawa *et al.*, 1999) Harrigan และคณะ (1995) ได้ศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากรา*Anguillospora longissima* และพบว่าสาร anguillosporal ซึ่งสกัดจากส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเอธิลอะซิเตท มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อรา นอกจากนี้ Pieckova และ Roeijmans (1999) ศึกษาพบว่าสารสกัดจากมวลชีวภาพและจากส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อจากเชื้อรา *Dichotomomyces cejpii* ซึ่งพบได้ตามผลไม้ ดิน น้ำกร่อย ดินตะกอนบริเวณน้ำจืดและน้ำเค็ม สามารถยับยั้งการเจริญของ *Enterobacter aerogenes* และ *E. cloacae*

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งในเขตร้อนชื้นที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และได้มีการประมาณการว่าจำนวนชนิดพันธุ์พืชและสัตว์ที่พบในประเทศไทยคิดเป็นประมาณร้อยละ 7 ของจำนวนพันธุ์พืชและสัตว์ที่พบในโลก อย่างไรก็ตามหากมีการพิจารณารวมไปถึงสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า หรือที่เราเรียกรวมๆกันว่า "จุลินทรีย์" จะพบจุลินทรีย์ที่ครอบคลุมตั้งแต่ ไวรัส แบคทีเรีย โปรโตซัว ยีสต์ รา และสาหร่าย มีอยู่ปริมาณที่สูงกว่าจำนวนพืชและสัตว์อยู่หลายเท่า โดยเป็นเชื้อที่เรารู้จักเพียงไม่ถึงร้อยละ 5 ที่คาดว่ามีอยู่ในประเทศไทย จากสถิติการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์โดยรวมพบว่า ในจำนวนเชื้อยีสต์ 60 กลุ่ม มีประมาณร้อยละ 30 ถูกนำไปใช้ประโยชน์ แบคทีเรีย 700 กลุ่ม มีประมาณร้อยละ 5 ถูกนำไปใช้ประโยชน์ และเชื้อราที่พบมากที่สุดถึง 5,100 กลุ่ม มีเพียงร้อยละ 0.5 เท่านั้นที่ได้รับการพัฒนาและนำไปใช้ประโยชน์ (มาลี, 2543)

ดังนั้นจึงมีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับสารต้านจุลินทรีย์จากเชื้อราและเห็ดกันมากขึ้น ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติได้ทำการศึกษาหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อรากลุ่มต่างๆ โดยทำการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย เชื้อรา ไวรัส วัณโรคและฤทธิ์ต้านมะเร็ง พบว่าสารสกัดจากราในวงศ์ Xylariaceae (ร้อยละ 11) และจากเชื้อราน้ำ (ร้อยละ 61) สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* (Jaturapat *et al.*, 1998) นอกจากนี้ Kittakoop และคณะ (1999) สามารถแยกสาร naphthoquinone 6 ชนิด จากราแมลง *Cordyceps unilateralis* ซึ่งมีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย *Plasmodium falciparum*

ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้มีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของราน้ำในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนงาช้าง จังหวัดสงขลา (Sakayaroj, 2000) และความหลากหลายทางชีวภาพของเห็ดในป่าบาลา จังหวัดนราธิวาส (เสาวลักษณ์ และคณะ, 2545) และทำการเพาะแยกเชื้อราบริสุทธิ์ไว้หลายสายพันธุ์ ซึ่งราน้ำและเห็ดเหล่านี้อาจมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารต้านจุลินทรีย์อยู่ การศึกษาหาสารเมแทบอไลท์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากราน้ำและเห็ดชนิดต่างๆ เหล่านี้ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจอาจทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ตัวใหม่และสามารถนำไปพัฒนาใช้ในวงการแพทย์หรือทางอุตสาหกรรมต่อไป

การตรวจเอกสาร

การศึกษาค้นคว้าหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดและราน้ำยังคงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ โดย Xu และคณะ (1992) ได้แยกรา *Stachybotrys* sp. จากน้ำกร่อย และสกัดสาร stachybotyrins A, B จากน้ำเลี้ยงเชื้อที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตท โดยมี stachybotyrins A เป็นส่วนประกอบหลักและมีสูตรโมเลกุล $C_{23}H_{31}NO_5$ สารสกัดทั้งสองสามารถยับยั้ง *B. subtilis* และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *Ascobolus furfuraceus* และ *Sordaria fimicola* แต่ไม่สามารถยับยั้ง *C. albicans* นอกจากนี้ Poch และ Gloer (1991) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากรา *Preussia aurantiaca* ที่แยกได้จากป่าโกงกาง โดยพบว่าสามารถยับยั้ง *B. subtilis* และ *S. aureus* เมื่อใช้สารที่มีความเข้มข้น 5 และ 50 ไมโครกรัมต่อแผ่น disc ตามลำดับ ซึ่งสารหลักที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ auranticin A มีสูตรโมเลกุล $C_{24}H_{24}O_8$ ในปีต่อมา Poch และ Gloer (1992) ก็ได้ศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากราน้ำ *Kirschsteiniothelia* sp. โดยศึกษาจากสารสกัดส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อและจากส่วนมวลชีวภาพ และพบว่าสารสกัดที่มีชื่อว่า Kirschsteinin มีสูตรโมเลกุล $C_{26}H_{20}O_{11}$ ซึ่งเป็น naphthoquinone dimer สามารถยับยั้ง *B. subtilis* และ *S. aureus* เมื่อใช้แผ่น disc ที่มีความเข้มข้น 1.0 และ 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น disc ตามลำดับ สารดังกล่าวสามารถสกัดได้จากทั้งส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อและจากส่วนมวลชีวภาพ

Oh และคณะ (1999a) ได้สกัดส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเอธิอะซิเตท จากราน้ำ *Massarina tunicata* และพบสารตัวใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเป็นสาร sesquiterpenoids และเรียกสารเหล่านี้ว่า massarinolins สารดังกล่าวมี 3 ชนิด ชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 สามารถยับยั้ง *B. subtilis* และมีสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{18}O_4$ และ $C_{15}H_{22}O_4$ ตามลำดับ นอกจากนี้สารชนิดที่ 1 ยังสามารถยับยั้ง *S. aureus* เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารเป็น 200 ไมโครกรัมต่อแผ่น disc สารดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ Oh และคณะ (1999b) ยังได้ศึกษาเพิ่มเติม โดยทำการสกัดสารจากส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเอธิลอะซิเตทของราน้ำ *Dendrospora tenella* และพบสาร tenellic acid 4 ชนิด ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ diphenyl ether สารทั้ง 4 ชนิดมีลักษณะคล้ายกับ penicillide, vermixocins และ purpactins ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่างรวมถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและความเป็นพิษต่อเซลล์ จากผลการทดลองพบว่าอนุพันธ์ทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้ง *B. subtilis* เมื่อใช้สารที่มีความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อแผ่น disc นอกจากนี้อนุพันธ์ที่ 3 และ 4 ยังสามารถยับยั้ง *S. aureus* แต่ไม่พบฤทธิ์ยับยั้ง *C. albicans* ในสารทั้ง 4 ชนิด

การศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดยังคงเป็นสิ่งที่น่าสนใจเช่นเดียวกัน โดย Domberger และคณะ (1986) ได้ตรวจหาสารเมแทบอไลท์จากรากลุ่ม Basidiomycetes และพบ

ว่าสารสกัดจากเห็ด *Agaricus xanthodermus* มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และมีการศึกษาพบสาร psalliotin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด สารดังกล่าวสกัดได้จากเห็ด *Psalliota xanthoderma* (Bose, 1995) Keller และคณะ (1996) ได้สกัดสารจากเห็ด *Fomitopsis pinicola* ด้วยไดคลอโรมีเธน และได้สารสเตียรอยด์ทั้งหมด 8 ชนิด เมื่อนำสารทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี TLC bioassay พบว่าสารประกอบที่แยกได้จำนวน 5 สาร สามารถยับยั้ง *B. subtilis* แต่เมื่อนำไปทดสอบด้วยวิธี agar dilution พบว่าสารดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ และได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากเห็ดหอม ซึ่งเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานในญี่ปุ่น โดย Hirasawa และคณะ (1999) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเห็ดหอมที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เอธิลอะซิเตท และน้ำมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่พบในช่องปาก เช่น *Streptococcus* sp. และ *Porphyromonas gingivalis*

เห็ดและประโยชน์ในทางยา

เห็ดเป็นอาหารที่มีผู้บริโภคกันมานานแล้ว เห็ดที่มีการเพาะเพื่อการบริโภค 6 อันดับแรก ได้แก่ เห็ดกระดุม (*Agaricus*), เห็ดหอม (*Lentinula*), เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus*), เห็ดหูหนู (*Auricularia*), เห็ดฟาง (*Volvariella*) และเห็ด *Flammulina* เห็ดและผลิตภัณฑ์ของเห็ดบางชนิดยังจัดเป็นอาหารเสริม บางชนิดมีสรรพคุณทางยา (ตาราง 1)

ตาราง 1 เห็ดที่มีการใช้เป็นยารักษาโรค (พวงเพชร, ม.ป.ป.)

ชนิดของเห็ด	สรรพคุณ
เห็ดหูหนู (*Auricularia*)	รักษาโรคกระเพาะและริดสีดวง
เห็ดหูหนูขาว (*Tremella fusiform* Berk)	บำรุงปอดและไต
เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*)	ช่วยลดความดันโลหิตและช่วยการสมานแผล
เห็ดหอม (*Lentinula edodes*)	ช่วยป้องกันโรคกระดูกอ่อนและลดความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร
เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*)	รักษาโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น

เห็ดและราน้ำที่นำมาใช้ศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่

1. เห็ด

1.1 *Auricularia* sp. BL 22

จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota อันดับ Auriculariales วงศ์ Auriculariaceae มีชื่อสามัญคือ เห็ดหูหนู หรือเห็ดหูลัวะ ลักษณะดอกเห็ดมีลักษณะเป็นแผ่นใสคล้ายแผ่นวุ้น และยืดหยุ่นคล้ายยาง ขณะที่ยังสดอยู่จะมีลักษณะนิ่มคล้ายเจลลี่ (ภาพประกอบ 1) แต่เมื่อดอกเห็ดแห้งจะมีลักษณะแข็ง ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายถ้วยหรือใบหู ผิวด้านนอกของดอกเห็ดมีเส้นขนละเอียดอ่อนปกคลุม มีสีน้ำตาลเมื่อดอกเห็ดแห้งจะเปลี่ยนเป็นสีดำ สำหรับผิวด้านในจะเป็นที่อยู่ของสปอร์ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการแพร่พันธุ์ จะมีผิวเรียบมันเป็นเงา สีน้ำตาลอ่อน อาจมีรอยย่นเป็นจีบหรือหยักเป็นคลื่น เนื้อของเห็ดมีลักษณะบาง ดอกเห็ดมีความกว้างประมาณ 4-7 เซนติเมตร สปอร์มีสีขาว ขนาด 12-18 x 4-8 ไมโครเมตร เห็ดหูหนูจะขึ้นตามขอนไม้จำพวกไม้เนื้ออ่อนเกือบทุกชนิด และเป็นเห็ดที่รับประทานได้ (อนงค์, 2541; Christensen, 1965; Alexopoulos, 1996)

ภาพประกอบ 1 *Auricularia* sp. BL 22

โคโลนีบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) มีลักษณะฟูเล็กน้อย สายรามีสีขาว เมื่อเลี้ยงไว้เป็นเวลานานประมาณ 2 สัปดาห์ โคโลนีมีลักษณะเป็นเมือกเยิ้ม

มีรายงานพบสารที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง จาก Auriculariales โดยสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง (sarcoma 180) ในหนู (mice) (Ikekawa *et al.*, 1969) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาพบสาร

β-D-glucan ใน *A. judae* โดยสารดังกล่าวจัดเป็นสารต้านมะเร็งชนิดหนึ่ง (Misaki and Kakuta, 1995, quoted in Wasser and Weis, 1999) และยังพบสารที่สกัดจากเห็ด *A. auricula-judae* ซึ่งสามารถต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) สามารถลดโคเลสเตอรอล, ไตรกลีเซอไรด์และระดับไขมันในหนูทดลอง (Chen, 1989, quoted in Wasser and Weis, 1999) โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Cheung (1996) ซึ่งพบว่าเห็ดหูหนู (*A. auricula*) สามารถลดระดับโคเลสเตอรอล และสามารถลดระดับ LDL ในเลือดของหนูทดลองได้

1.2 *Cyathus striatus*

จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota อันดับ Nidulariales วงศ์ Nidulariaceae *C. striatus* มีชื่อสามัญคือ เห็ดรังนก หรือ bird's nest fungus เห็ดรังนกมีรูปร่างคล้ายถ้วยปากกว้างหรือปากแตร ขอบปากถ้วยมีความกว้างประมาณ 5-8 มิลลิเมตร สูงจากพื้นประมาณ 6-10 มิลลิเมตร ผิวด้านนอกของดอกมีสีน้ำตาลอ่อนปกคลุมด้วยเส้นขนหยาบสั้นๆ ผิวด้านในมีสีเทาหรือสีเทาอมน้ำตาลหรือสีดำ (ภาพประกอบ 2) สปอร์มีขนาดประมาณ 15-20x8-10 ไมโครเมตร เห็ดรังนกชอบขึ้นบนขอนไม้ผุ ชอบอยู่เป็นกลุ่มหรือกระจัดกระจายห่างๆ มักพบตามป่า เป็นเห็ดที่ไม่มีผู้ใดรับประทาน (วสันณ์, 2541; อนงค์, 2541; Christensen, 1965)

โคโลนีเริ่มแรกมีสีขาว โตช้ามาก จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน สายรามี clamp connection เห็นได้ชัดเจน

ภาพประกอบ 2 *Cyathus striatus*

มีรายงานพบว่าเห็ดรังนกสามารถสร้างสารปฏิชีวนะจากสายรา (Anke *et al.*, 1977, quoted in Gehrig *et al.*, 1998)

1.3 *Lentinus* sp. BL 29

จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota อันดับ Poriales วงศ์ Lentinaceae มีชื่อสามัญคือ เห็ดขอนขาว เห็ดขาวและเห็ดมะม่วง ดอกเห็ดมีลักษณะสีขาว บนหมวกเห็ดมีขนขึ้นเป็นกระจุก ดอกเห็ดมีความกว้างประมาณ 2-10 เซนติเมตร สปอร์มีสีขาว ขนาดประมาณ 5-6x1.7-2.5 ไมโครเมตร เห็ดขอนขาวมักขึ้นตามท่อนไม้ผุพังในช่วงฤดูฝนในทุกภาคของประเทศไทย เป็นเห็ดที่รับประทานได้ (เสาวลักษณ์ และคณะ, 2545)

มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งในหนูทดลอง โดยสารสกัดจาก เห็ดหอม (*Lentinus edodes*) ซึ่งเป็นเห็ดในสกุลเดียวกัน สารที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเป็นสาร polysaccharide ส่วนที่ละลายน้ำ มีชื่อว่า lentinan (Chihara *et al*, 1969; Chihara *et al*, 1970a,b) และพบว่าสาร lentinan สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง (sarcoma 180) ในหนูทดลองได้ สารสำคัญที่พบใน lentinan คือ β-D-glucan มีสูตรโมเลกุล $C_6H_{10}O_5$ (Sasaki and Takatsuka, 1976, quoted in Wasser and Weis, 1999) นอกจากนี้สาร lentinan ยังสามารถกระตุ้นการทำงานของ natural killer cells (NK-cell) T-cell และ B-cell (Hamuro and Chihara, 1985, quoted in Wasser and Weis, 1999)

Morita และ Kobayashi (1967) ได้แยกสาร lenthionine จากเห็ดหอม และสารดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิด เช่น *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* และ *Proteus vulgaris* นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton rubrum*, *C. albicans* และ *C. neoformans*

1.4 *Pycnoporus sanguineus*

จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota อันดับ Poriales วงศ์ Coriolaceae มีชื่อสามัญคือ red polypore ดอกเห็ดมีลักษณะเหมือนพัด มีสีส้มแดง (ภาพประกอบ 3) ขนาดกว้างประมาณ 6-8 เซนติเมตร หนาประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ผิวเรียบเป็นมัน สปอร์มีขนาด 4.5-6x2-3.5 ไมโครเมตร เห็ดชนิดนี้พบขึ้นตามกิ่งไม้และท่อนไม้ผุ (วสันณ์, 2541; Arora, 1986)

โคโลนีบนอาหาร PDA มีสีส้มอมน้ำตาล เจริญได้ดี สายรามี clamp connection

ภาพประกอบ 3 *Pycnoporus sanguineus*

มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจาก *P. sanguineus* โดย Smania และคณะ (1995) ได้สกัดสารส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วย *n*-hexane และ acetone พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย acetone บางส่วนสามารถยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *S.aureus* และ Groups A, B, C, G Streptococci ค่า MIC ต่ำสุดพบใน Streptococci โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.019-0.039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC อยู่ในช่วง 0.039-0.078 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.5 *Schizophyllum commune*

จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota อันดับ Schizophyllales วงศ์ Schizophylaceae มีชื่อสามัญคือ เห็ดแคลง เห็ดตีนตุ๊กแกและ common split gill เห็ดชนิดนี้เป็นเห็ดขนาดเล็ก ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด มีสีเทาอมขาว บางครั้งมีสีน้ำตาล มีขนปกคลุมทั่วดอก (ภาพประกอบ 4) สปอร์มีสีขาว ขนาด 3-4x1-5 ไมโครเมตร (Christensen, 1965; Arora, 1986) พบมากตามท่อนไม้ผุหรือบนลำต้นไม้ที่ตายแล้ว เห็ดแคลงเป็นที่นิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายในภาคใต้ (วสันณ์, 2541; อนงค์, 2541)

โคโลนีบนอาหาร PDA มีสีน้ำตาลอ่อน สายรามี clamp connection

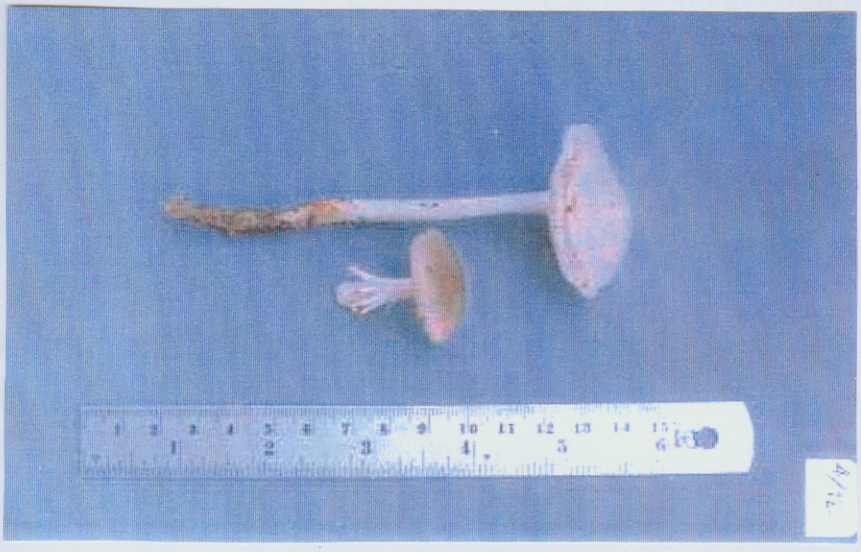
ภาพประกอบ 4 *Schizophyllum commune*

มีรายงานการศึกษาพบว่าเห็ดแคลงมีสารประกอบ schizopyllan (β-1, 3-glucan) เป็นจำนวนมาก ซึ่งมีรายงานว่าสามารถต่อต้านเซลล์มะเร็งได้ (Buswell and Chang, 1993, อ้างถึงใน วสันณ์, 2538) และสารสกัดจากเห็ดแคลงยังสามารถกระตุ้นการทำงานของมาโครฟาจในระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น (Wasser and Weis, 1999) นอกจากนี้สารสกัดจากเห็ดแคลงยังสามารถป้องกันการติดเชื้อ *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* และ *S.aureus* ในหนูทดลองได้ (Komatsu *et al.*, 1973, quoted in Wasser and Weis, 1999)

1.6 *Termitomyces cylindricus*

จัดอยู่ในไฟลัม Basidiomycota อันดับ Agaricales วงศ์ Amanitaceae มีชื่อสามัญคือ เห็ดโคน หรือเห็ดปลวก ดอกเห็ดมีสีขาวหรือสีน้ำตาลอ่อน หมวกเห็ดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0-4.5 เซนติเมตร ก้านดอกรูปทรงกระบอก ยาว 5-8 เซนติเมตร โคนก้านโป่งเล็กน้อย และเรียวยาว ฝังอยู่ในดิน (ภาพประกอบ 5) พิมพ์สปอร์สีเนื้อ สปอร์รูปรี ผิวเรียบขนาด 2.5-3x4.5-5 ไมโครเมตร

โคโลนีบนอาหาร PDA มีสีขาว



ภาพประกอบ 5 *Termitomyces cylindricus*

2. **ราในไฟลัม** Ascomycota

Xylaria sp. จัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota อันดับ Xylariales วงศ์ Xylariaceae ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายกระบอง ชูตั้งขึ้นอยู่บนก้าน อาจแยกเป็นกิ่ง มีลักษณะเหนียวมากจนแข็งคล้ายถ่าน มีสีเทาหรือสีน้ำตาลซึ่งมีลักษณะคล้ายผงแป้งเคลือบบนโคนิเดีย เมื่อเจริญเต็มที่จะมีสีดำ ascospore มีสีน้ำตาลเข้มบางครั้งมีสีดำ ลักษณะคล้ายกระสวยหรือรูปไข่ มีผิวเรียบ สำหรับโคนิเดียจะใสไม่มีสี (hyaline) *Xylaria* เป็นราที่เจริญบนไม้ (Christensen, 1965; Alexopoulos, 1996)

2.1 *X. allantoidea*

มีรูปร่างทรงกระบอก มีสีทอง สูง 9-11 เซนติเมตร กว้าง 2-2.5 เซนติเมตร (ภาพประกอบ 6) ภายในกลวง ascospore มีสีน้ำตาลอ่อน รูปรีคล้ายเมล็ดถั่ว ขนาด 3.5-4x15-16 ไมโครเมตร

โคโลนีบนอาหาร PDA มีสีน้ำตาล (คล้ายสีทอง) aerial hypha มีสีขาว

2.2 *Xylaria* sp. 2

รูปร่างเป็นแท่งผอมยาว มีสีดำ สูง 3-8 เซนติเมตร ส่วนนี้เป็นที่อยู่ของสปอร์ มีขนาดใหญ่กว่าส่วนก้านเล็กน้อย มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ยาว 1-3 มิลลิเมตร ส่วนปลายแหลมเล็ก ก้านมีขนสั้นๆ (ภาพประกอบ 7) ascospore รูปรี ผนังเรียบ ขนาด 4-5x10-11 ไมโครเมตร มี germ slit อยู่ที่ปลายด้านหน้าของสปอร์ ยาว 5 ไมโครเมตร

สายราเจริญได้ดีบนอาหาร PDA โคโลนีมีสีขาว

2.3 *Xylaria* sp. BL 25

รูปร่างกลมแข็งมีสีดำ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-1.5 เซนติเมตร (ภาพประกอบ 8) ascospore รูปรีขนาด7-8x20-21 ไมโครเมตร มี germ slit เป็นแนวยาวตลอดความยาวของ ascospore

สายราเจริญได้ดีบน PDA โคโลนีมีสีขาว

ภาพประกอบ 6 *Xylaria allantoidea*

ภาพประกอบ 7 *Xylaria* sp. 2

ภาพประกอบ 8 *Xylaria* sp. BL 25

มีรายงานว่าสารสกัดจาก *Xylaria* sp. BCC 1067 ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำให้บริสุทธิ์จะได้สารประกอบ 5 ชนิด และมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* โดยสารประกอบที่ 2 ((+)-phaseolinone) และ 3 ((+)-phomenone) สามารถยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ดีที่สุด (Isaka *et al.*, 2000) สารประกอบตัวที่ 5 ((E)-methyl 3-(4-methoxyphenoxy))มีโครงสร้างเหมือนกับสารที่พบใน *Xylaria obovata* ซึ่งเป็นสาร cytochalasins และเป็นสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ (Abate *et al.*, 1997)

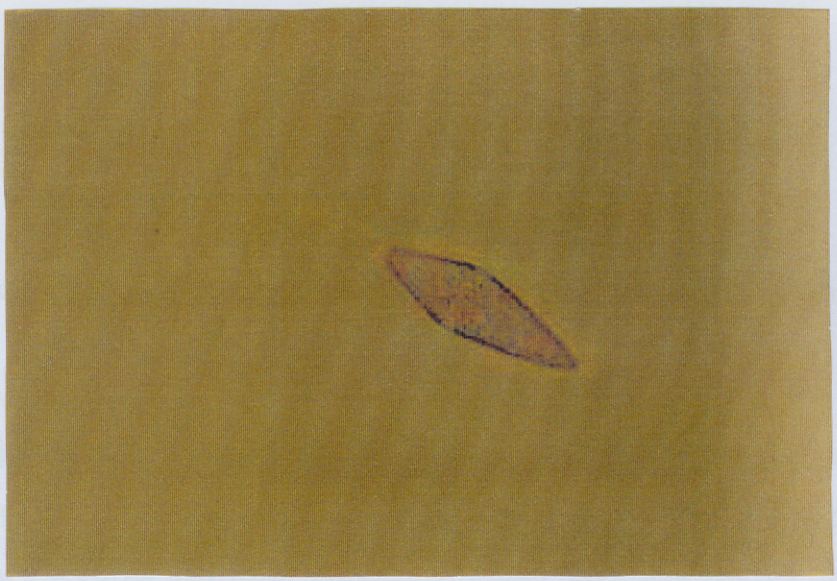
3. **ราน้ำ**

เชื้อราน้ำบริสุทธิ์นี้แยกได้โดย Sakayaroj (2000) เป็นรากลุ่ม Hyphomycetes หรือ Coelomycetes ที่เป็นระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของราในไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota

3.1 *Beltrania rhombica*

เป็น Dematiaceous hyphomycetes โคนิเดียมีเซลล์เดียว รูปร่างสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน มีสีน้ำตาล บริเวณตรงกลางโคนิเดีย (เส้นทแยงมุมด้านที่สั้น) จะมีลักษณะคล้ายแถบมีสีจาง โคนิเดียมี seta เป็นลักษณะใส 1 อัน (ภาพประกอบ 9)

โคโลนีบน PDA และ corn meal agar (CMA) มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนที่เป็น aerial mycelium มีสีเทา



ภาพประกอบ 9 โคนิเดียของ *Beltrania rhombica* ย้อมด้วย lactophenol cotton blue

3.2 *Codinaea* sp.

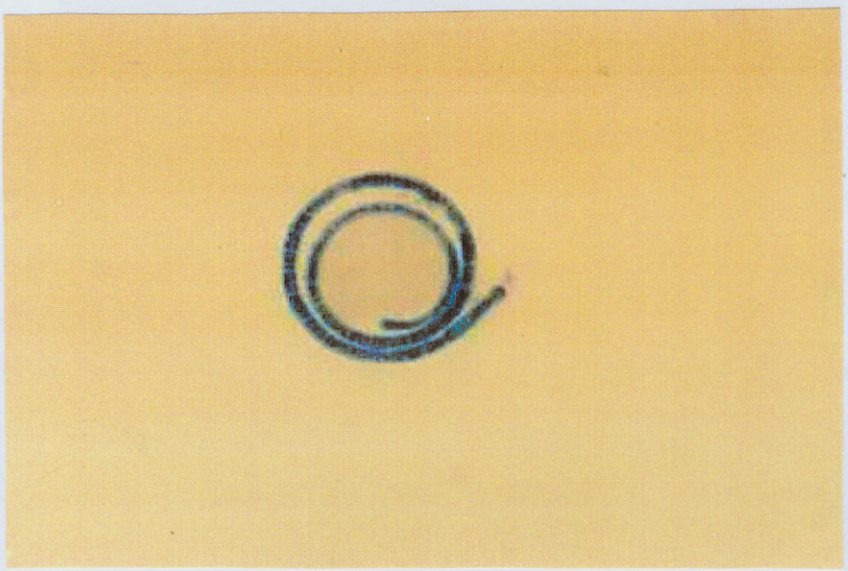
เป็น Dematiaceous hyphomycetes โคนิเดียมีลักษณะเป็นเมือก อยู่เดี่ยวๆ มีรูปร่างโค้งคล้ายเคียว มีผนังกั้น 0-3 อัน โคนิเดียมีผิวเรียบและไม่มีสี

โคโลนีบน PDA มีสีน้ำตาลเทา แผ่กระจายไปรอบๆ มีลักษณะเป็นขน

3.3 *Helicomyces* sp.

เป็น Hyphomycetes โคนิเดียมีลักษณะขดเป็นวง 3-5 รอบ(helicoid) มักขดไปในทางเดียวกัน เส้นผ่านศูนย์กลางของวงมีขนาดประมาณ 32-65 ไมโครเมตร ในเซลล์แต่ละเซลล์จะมีแวคิวโอลขนาดใหญ่ 1-2 อัน (ภาพประกอบ 10)

โคโลนีบน CMA มีสีน้ำตาลเข้ม สามารถสร้างโคนิเดียบน CMA

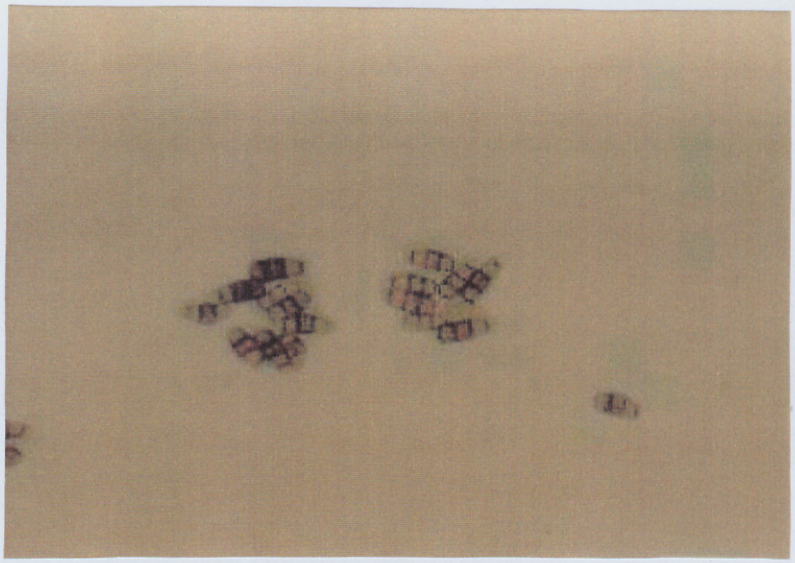


ภาพประกอบ 10 โคนิเดียของ *Helicomyces* sp. ย้อมด้วย lactophenol cotton blue

3.4 *Pestalotia* sp.

เป็นพวก Coelomycetes โคนิเดียมีลักษณะเป็นรูปกระสวย สีน้ำตาลเข้ม โคนิเดียมีผนังกั้น ภายในมีเซลล์ประมาณ 5-6 เซลล์ บริเวณรอยต่อของผนังกั้นจะหดเข้าเล็กน้อย โคนิเดียมีขนาดประมาณ 29-35x6-9 ไมโครเมตร มีเส้นรูปทรงกระบอก (appendages) 3-9 เส้น ออกจากโคนิเดีย (ภาพประกอบ 11)

สามารถสร้างโคนิเดียบน CMA และ PDA โคนิเดียถูกสร้างใน acervulus ที่มีลักษณะเป็นเมือกสีดำ สายรามีสีเทาปนขาว



ภาพประกอบ 11 โคนิเดียของ *Pestalotia* sp. ย้อมด้วย Lactophenol cotton blue

3.5 *Sporochisma* sp.

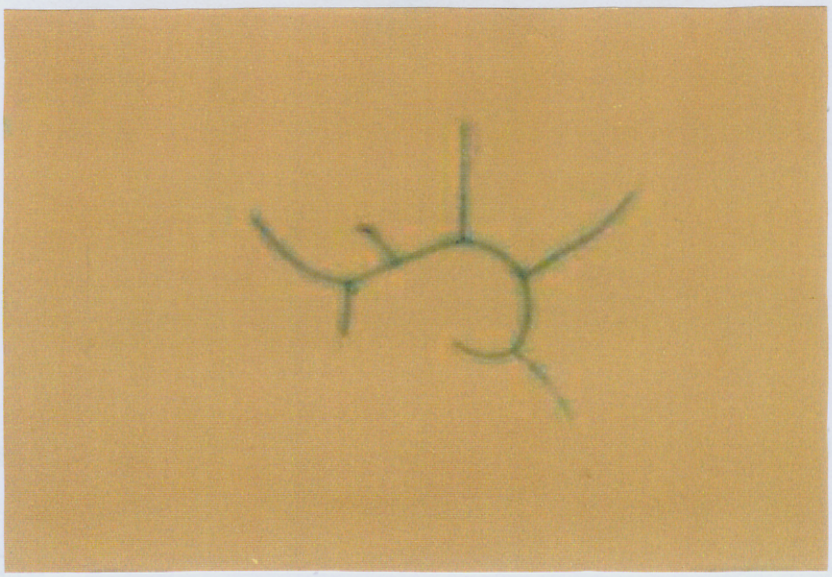
เป็น Dematiaceous hyphomycetes โคนิเดีย (phialoconidia) เป็นรูปทรงกระบอก มีสีน้ำตาลเข้ม โคนิเดียแยกชัดเจนจากโคนิดิโอฟอร์

โคโลนีบน PDA มีสีน้ำตาลเข้ม มี aerial mycelium น้อย

3.6 *Varicosporium macrosporum*

เป็น Hyphomycetes ลักษณะโคนิเดียเป็นแบบ branched shape โดยที่โคนิเดียไม่แยกอย่างชัดเจนจากโคนิดิโอฟอร์ บางครั้งตรงปลายของโคนิดิโอฟอร์จะแตกเป็นกิ่ง ซึ่งตรงปลายของโคนิดิโอฟอร์จะเป็นส่วนที่สร้างโคนิเดีย เชื้อราชนิดนี้มีลักษณะพิเศษคือ แต่ละโคนิเดียมจะมีการงอกของโคนิเดียออกทางข้างใดข้างหนึ่ง 2-3 กิ่ง แต่ละกิ่งจะสร้างผนังกั้นเซลล์ขึ้นมา และจะมีการแตกกิ่งอีกครั้ง โคนิเดียมีลักษณะใส มีความยาว 197-322 ไมโครเมตร กว้าง 2-2.5 ไมโครเมตร และมักโค้งงอไปด้านหลัง มีผนังกั้น 9-16 ช่อง (ภาพประกอบ 12)

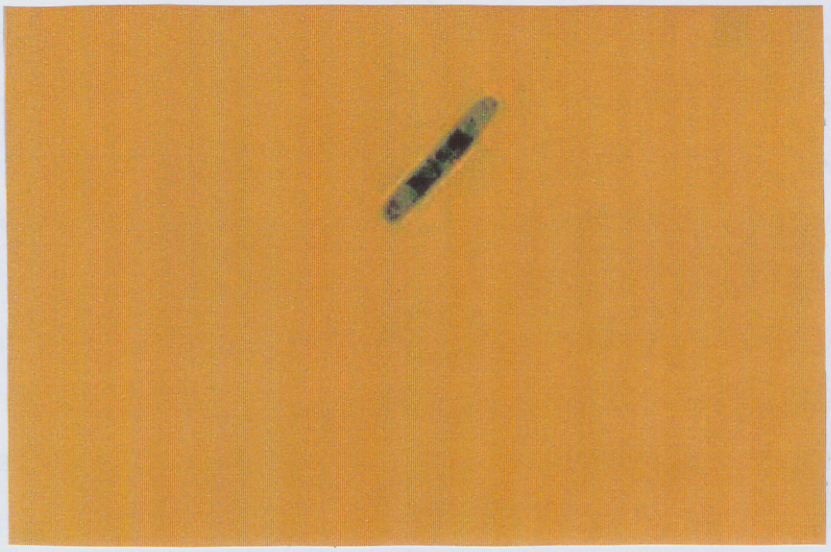
โคโลนีบน CMA มีสีขาว เส้นใยอัดกันแน่น ไม่ค่อยมี aerial mycelium โคโลนีอายุ 4 สัปดาห์ เปลี่ยนเป็นสีชมพู และผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะ powdery เป็นเชื้อราที่มีการดำรงชีวิตแบบ saprophyte ในน้ำหรือในดิน (Barnett and Hunter, 1998)



ภาพประกอบ 12 โคนิเดียของ *Varicosporium macrosporum* ย้อมด้วย lactophenol cotton blue

3.7 *Volutella* sp. (จำนวน 5 isolates)

เป็น Hyphomycetes โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือเป็นวงรี มีเซลล์เดี่ยว ลักษณะใสไม่มีสี มีความยาว 5-10 ไมโครเมตร (ภาพประกอบ 13) โคนิดิโอฟอร์มีลักษณะเป็นแบบ sporodochia บน CMA และ PDA เจริญรวดเร็ว สร้างโคนิเดียอยู่เป็นกลุ่ม สีชมพู มีเมือกหุ้ม มีการดำรงชีวิตทั้งแบบ parasite และ saprophyte (Barnett and Hunter, 1998)



ภาพประกอบ 13 โคนิเดียของ *Volutella* sp. ย้อมด้วย lactophenol cotton blue

3.8 T002/4

เป็นราน้ำที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ โคโลนีบน PDA มีสีเทา โคโลนีแผ่และมีลักษณะฟู เจริญเติบโตรวดเร็ว สร้าง arthroconidia มีลักษณะทรงกระบอก ตรงกลางเซลล์เว้าเข้าหากันเล็กน้อย ตรงปลายโคนิเดียมีลักษณะมน มีผนังหนา

จุลินทรีย์

1. แบคทีเรีย

1.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus จัดอยู่ในวงศ์ Micrococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-1.2 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา ที่ pH ระหว่าง 4.8-7.4 และเจริญได้ดีทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เชื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โคโลนีมีสีเหลือง ลักษณะกลม นูน มันทึบแสง ขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของเกลือแกง (NaCl) ร้อยละ 7.5-10 สามารถทนต่อสภาวะต่างๆ ได้ดี และสามารถมีชีวิตอยู่ตามหนองหรือตามเสมหะแห้งๆ ได้นานเป็นเดือน มักพบเชื้อตามผิวหนังและเยื่อบุเมือกโดยเฉพาะ

ในรูจมูก หรือบริเวณลำคอส่วน oropharynx หรือ nasopharynx และพบว่าร้อยละ 30 ของผู้ที่มีสุขภาพดีเป็นพาหะของเชื้อดังกล่าวโดยพบเชื้อในรูจมูก (Archer, 1998)

S. aureus เป็นเชื้อที่สามารถบุกรุกและแพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกาย ตลอดจนเป็นเชื้อที่สามารถสร้างสารพิษและเอนไซม์ต่างๆ ที่เป็นพิษต่อร่างกาย เช่น hemolysin, enterotoxin, toxic shock syndrome toxin และ coagulase เป็นต้น จึงทำให้ *S. aureus* เป็นเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคในอวัยวะต่างๆ และเนื้อเยื่อเกือบทุกส่วนของร่างกาย ที่พบบ่อยคือ ทำให้เกิดโรคฝีหนอง เช่น ฝีตามรูขุมขน (folliculitis) ฝีฝักบัว (carbuncle) ตากุ้งยิง กล้ามเนื้ออักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ toxic shock syndrome และ scalded skin syndrome เป็นต้น และยังทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ (โสภณ, 2524; นรีกุล และคณะ, 2526; Prescott *et al.*, 1993; Mahon and Manuselis, 1995; Brooks *et al.*, 1998) ในผู้ที่มีภาวะสุขภาพไม่ดีจะทำให้มีการติดเชื้อง่ายขึ้น เช่น ในผู้ป่วยที่ฉีดยาเสพติดเข้าเส้นเลือด (Mathew *et al.*, 1995) *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ที่สำคัญ และในช่วงปี 1880s พบว่าเป็นเชื้อสำคัญที่ก่อให้เกิดการอักเสบและเป็นหนองในแผล (Ogston, 1883, quoted in Archer, 1998) และการติดเชื้อ *S. aureus* ในกระแสเลือดทำให้อัตราการตายของผู้ป่วยสูงขึ้นถึงร้อยละ 82 (Skinner and Keefer, 1941, quoted in Archer, 1998) ปัจจุบันพบว่าเชื้อ *S. aureus* ที่ให้ผล coagulase-negative เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด ในปี ค.ศ. 1990-1992 National Nosocomial Infection Surveillance ได้ระบุว่า *S. aureus* เป็นเชื้อหลักที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Emori and Gaynes, 1993) ในปี ค.ศ. 1942 เริ่มพบการดื้อยา penicillin G ใน *S. aureus* และ coagulase-negative staphylococci (พรรณทิพย์, 2542) *S. aureus* มีการอัตราการดื้อยา penicillin มากขึ้นโดยการสร้างเอนไซม์ penicillinase ต่อมาในปี ค.ศ. 1961 ก็เริ่มพบว่ามีการดื้อยา penicillinase resistant pencillin และมีการเรียกเชื้อเหล่านี้ว่า methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) MRSA ก่อให้เกิดปัญหาโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (Saravolatz *et al.*,1982; Maple *et al.*, 1989) มีรายงานการติดเชื้อนี้ในทุกภูมิภาคของโลก (Bulger, 1976; Haley *et al.*, 1982; French *et al.*, 1988; Archer, 1998; Ruchel *et al.*, 1999) MRSA ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ β-lactamases และมักจะดื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆเช่น quinolones, aminoglycosides, macrolides, tetracycline และ chloramphenicol (พรรณทิพย์, 2542) ยาที่ใช้ได้ผลดีคือ vancomycin ซึ่งมีราคาแพงและมีผลข้างเคียงสูง (Sorrell *et al.*, 1982) ปัจจุบันพบว่า MRSA เริ่มมีความไวต่อยากลุ่มนี้ลดลง (Centers for Disease Control and Prevention, 1997; Hiramatsu *et al.*, 1997)

1.2 *Escherichia coli*

E. coli จัดอยู่ใน วงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง มีขนาด 0.3-1.0 x 1.0-6.1 ไมโครเมตร สามารถเจริญได้ทั้งในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MacConKey agar จะให้โคโลนีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร โคโลนีมีสีชมพูแดงเนื่องจากสามารถย่อยแลคโตสได้ (lactose fermenter) *E. coli* พบมากในลำไส้ใหญ่หรืออุจจาระของคน ปกติเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นไม่ก่อโรค ถ้าพบเชื้อ *E. coli* ในที่อื่น เช่น น้ำ อาหาร เครื่องดื่ม เป็นต้น แสดงว่ามีอุจจาระปนเปื้อน เชื้อสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น มีชีวิตอยู่ตามเสื้อผ้าแห้งและในฝุ่นละอองได้หลายวัน อยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์

E. coli เมื่ออยู่นอกระบบทางเดินอาหาร ถ้าเข้าสู่ส่วนอื่นของร่างกายก็สามารถก่อโรคได้ เช่น ติดเชื้อในช่องท้อง ติดเชื้อในกระแสเลือด และ *E. coli* บาง serotype ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง เช่น ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในเด็ก และนักท่องเที่ยว เป็นต้น (โสภณ, 2524; นรีกุล และคณะ, 2526; Brooks *et al.*, 1998) และพบเชื้อดังกล่าวได้บ่อยในปัสสาวะของผู้ป่วยที่มีปัญหาทางระบบประสาทที่กระเพาะปัสสาวะ (neuropathic bladder) (Donovan *et al.*, 1978; Donovan *et al.*, 1996) ปัจจุบันพบเชื้อ *E. coli* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ β-lactamases เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม β-lactam (Bush *et al.*, 1995; Moland *et al.*, 1998)

1.3 *Pseudomonas aeruginosa*

จัดอยู่ใน วงศ์ Pseudomonadaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ขนาด 0.5-1x1.5-4 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยมีแฟลกเจลลาที่ปลายขั้ว ตั้งแต่ 1 เส้น หรือมากกว่า ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะกลมหรือรี ส่วนใหญ่สามารถสร้างรงควัตถุ ทำให้โคโลนีมีสีเขียวแกมน้ำเงิน สามารถพบเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ทั่วๆ ไปในธรรมชาติ เช่น ในน้ำ ดิน อากาศ และสิ่งปฏิกูล ในอุจจาระของคนปกติมักมี *P. aeruginosa* ปะปน เป็นเชื้อประเภทฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ โดยเฉพาะการติดเชื้อในโรงพยาบาล เช่น การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ติดเชื้อในกระแสเลือด หนองฝีต่างๆ เป็นต้น (โสภณ, 2524; นรีกุล และคณะ, 2526; Brooks *et al.*, 1998)

โรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* เป็นปัญหาที่สำคัญ เนื่องจากเชื้อดื้อยาต้านจุลินทรีย์หลายชนิด รวมทั้งยากลุ่ม β-lactam และสามารถเจริญได้ในน้ำยาฆ่าเชื้อบางชนิดที่ใช้แช่เครื่องมือเครื่องใช้ของผู้ป่วย พบการติดเชื้อนี้บ่อยในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลินทรีย์

Central Library
Prince of Songkla University

ติดต่อกันเป็นเวลานาน หรือได้รับยาที่ไปกดภูมิคุ้มกันของร่างกาย (นรีกุล และคณะ, 2526; Lodge *et al.*, 1990; Nikaido *et al.*, 1991; Livermore, 1992; Nikaido, 1994) มีรายงานการดื้อยา imipenem ของเชื้อ *P. aeruginosa* (Troillet *et al.*, 1997) และพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์ carbapenemase ทำให้เชื้อดื้อยาในกลุ่ม carbapenems (Woodford *et al.*, 1998; Cardoso *et al.*, 1999; Lauretti *et al.*, 1999) *P. aeruginosa* ที่ดื้อยาหลายชนิด (multidrug-resistant *P. aeruginosa*) ทำให้เกิดการระบาดของโรคติดเชื้อในแผนกผู้ป่วยไฟไหม้ และพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยแผลไฟไหม้เสียชีวิต (Tredget *et al.*, 1992; Richard *et al.*, 1994)

2. เชื้อรา

2.1 *Microsporum gypseum*

เป็นเชื้อกลากที่พบอยู่ในดิน (geophilic dermatophytes) พบได้ทั่ว ๆ ไป เป็นเชื้อราที่ชอบเคอราติน (keratinophilic fungi) ซึ่งเป็นโครงสร้างของผิวหนัง ผมและเล็บ โดยสามารถสร้างเคอราติเนส และโปรตีโอไลติกเอนไซม์มาสลายเคอราตินและโปรตีนเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโต *M. gypseum* ที่พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จะถูกจัดอยู่ในสกุล *Arthroderma* (*Arthroderma gypseum*)

โคโลนีเจริญได้เร็วขึ้นได้ง่าย เชื้อเจริญเติบโตภายใน 2 สัปดาห์ ลักษณะโคโลนีแรก ๆ เป็นสีขาว และมีลักษณะปุย (หลังจากนั้นจะมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลอ่อน cinnamon-brown) สามารถพบโคโลนีตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลอ่อน บางครั้งมีสีม่วงแดงตรงกลางโคโลนียกสูงขึ้นคล้ายกระดุม (umbonate) ด้านหลังโคโลนีมีสีได้ตั้งแต่สีแดงน้ำตาลจนถึงสีส้ม ราชนิดนี้เกิดสายราขาวได้ง่าย พบการสร้างโคนิเดียทั้งสองชนิด คือ แมคโครโคนิเดียและไมโครโคนิเดีย แต่บางครั้งอาจไม่พบไมโครโคนิเดีย ส่วนแมคโครโคนิเดียพบได้มาก มีลักษณะเป็นรูปกระสวย ขนาด 25-60 x 7.5-16 ไมโครเมตร ผนังหนา 1-3 ไมโครเมตร ผิวไม่เรียบมีเซลล์ภายใน 4-6 เซลล์ สำหรับไมโครโคนิเดียมีขนาด 2.5-3 x 4-6 ไมโครเมตร พบไม่มากอยู่ข้างๆ สายรา

เชื้อ *M. gypseum* ทำให้เกิดโรคกลากที่ศีรษะ (เชื้อจะอยู่นอกเส้นผม และเรืองแสงเมื่อส่องด้วย Wood ' s lamp) นอกจากนี้ยังสามารถก่อโรคที่หนวดเครา ลำตัว แขนขา ในร่มผ้าและที่เท้า (พรรณกร, 2535; นวลจิรา และ วราภรณ์, 2538; นงนุช, 2542; Bulmer, 1979; Frey *et al.*, 1979; Campbell and Stewart, 1980; Evans and Richardson, 1989)

2.2 *Penicillium marneffei*

P. marneffei จัดเป็นราสองรูปชนิดหนึ่ง (Peto *et al.*, 1988 ; Larone, 1995) ในสภาวะก่อโรคขณะที่อยู่ในร่างกายผู้ป่วยหรือเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อเป็นเซลล์มีลักษณะคล้ายยีสต์รูปกลมหรือรูปรี ไม่เย็ม สร้างสีแดงเข้ม ถึงสีน้ำตาลแดงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์ไม่พบการแตกหน่อ แต่มีผนังแบ่งสองภายในเซลล์ (cross-septa หรือ binary fission)

ลักษณะของ *P. marneffei* บนอาหารวุ้นที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นราสาย ที่มีลักษณะในกล้องจุลทรรศน์คล้าย *Penicillium* ทั่วๆ ไป สร้างก้านชูสปอร์มีลักษณะเป็น penicillus คือประกอบด้วยก้าน phialides คล้ายนิ้วมือ มีจำนวนตั้งแต่ 3-5 อาจพบถึง 10 หรือมากกว่านี้เรียงเป็นวง 1 ชั้น หรือ 2 ชั้น ส่วนปลายของ phialide โคนิเดียเรียงต่อกันเป็นสาย โคนิเดียมีรูปรี ขนาด 2x2.5 ไมโครเมตร เชื้อ *P. marneffei* เจริญได้เร็วที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ลักษณะโคโลนีที่พบได้บ่อยๆ เป็น downy, velvet หรือ powdery บางสายพันธุ์เป็นชนิด glabrous ขณะที่เชื้ออ่อนให้โคโลนีสีเทาอมชมพู เมื่อเชื้อสร้างสปอร์ผิวหน้าโคโลนีมักมีสีเขียวอมเหลือง สร้างสีแดงกระจายลงในอาหาร เมื่อแก่ขึ้นโคโลนีจะมีสีเข้มขึ้นกลายเป็นสีแดงเข้มหรือสีน้ำตาลแดง และอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีแดงเข้มทั่วหลอด ลักษณะเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบสายราชนิดมีผนังกั้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 ไมโครเมตร ก้านชูสปอร์มีลักษณะเป็น penicillus (นงนุช, 2542)

โรคที่เกิดจาก *P. marneffei* เรียกว่า Penicilliosis marneffei เป็นโรคที่พบเฉพาะในเขตทางประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนใต้ของจีน เป็นโรคติดเชื้อราที่เกิดกับหลายอวัยวะของร่างกาย ได้แก่ ต่อมน้ำเหลือง ไขกระดูก ตับ ปอด กระดูก ผิวหนัง เป็นต้น ผู้ป่วยมักมีความบกพร่องด้านภูมิต้านทานของร่างกาย แต่ก็อาจพบได้ในผู้ที่มีร่างกายปกติ (นงนุช, 2542)

ในประเทศไทยแต่เดิมพบผู้ป่วย Penicilliosis marneffei น้อยมากโดยมีรายงานผู้ป่วยเพียงปีละไม่กี่ราย (วนิดา และ สมศักดิ์, 2529; Jayanetra *et al.*, 1984) มีรายงานพบผู้ติดเชื้อรานี้ครั้งแรกเมื่อปีพศ. 2517 และในช่วงปี 2517-2525 มีผู้ติดเชื้อจำนวน 5 ราย (Jayanetra *et al.*, 1984) ในปีพศ. 2531 มีรายงานการติดเชื้อในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Piehl *et al.*, 1988) และสหราชอาณาจักร (Peto *et al.*, 1988) สำหรับประเทศไทยพบโรคติดเชื้อนี้ในผู้ป่วย HIV ครั้งแรกในกรุงเทพฯ เมื่อปีพศ. 2532 (Sathapatayavongs *et al.*,1989) หลังจากนั้นมีรายงานต่อๆ มาในประเทศต่างๆ เช่น ฮ่องกง (Ma *et al.*, 1991; Li *et al.*, 1992), ออสเตรเลีย (Jones and See, 1992), ฝรั่งเศส (Hilmarsdottir *et al.*, 1993) และ เยอรมนี (Sobottka *et al.*, 1996) ผู้ป่วยเหล่านี้มีประวัติพบว่าเคยเดินทางไปในเขตที่มีการเกิดโรคนี้ (endemic) มาก่อน

เชื้อ *P. marneffei* จัดเป็นเชื้อก่อโรค systemic mycoses ที่สำคัญในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Caponi *et al.*, 1956, อ้างถึงใน นงนุช, 2542) ในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อนี้สูงขึ้น ตามอัตราการติดเชื้อเอดส์ในหมู่ประชากร โดยเฉพาะทางภาคเหนือของประเทศไทย หลังจากการระบาดของโรคเอดส์ได้มีการพบผู้ป่วยโรคนี้มากขึ้นเรื่อยๆ จากการรวบรวมข้อมูลจนถึงสิ้นปี พ.ศ. 2539 พบผู้ป่วยโรคนี้แล้วถึง 1,020 คน (ขวัญชัย, 2542) กระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทยจึงได้จัดโรค disseminated penicilliosis marneffei เป็นโรคหนึ่งใน indicator disease ในการวินิจฉัยโรคเอดส์ (Supparatpinyo *et al.*, 1992) เพิ่มเติมจากที่องค์การอนามัยโลกกำหนดไว้

2.3 *Trichophyton rubrum*

เป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกลากในคนเท่านั้น (anthropophilic dermatophytes) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคกลาก เป็นเชื้อราที่ชอบเคอราติน เช่นเดียวกับ *M. gypseum* เชื้อสามารถอยู่กับคนได้นาน และติดต่อจากคนหนึ่งสู่คนหนึ่ง และเป็นเชื้อที่ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีมาก แม้แต่ยาที่ใช้รักษา ระยะหลังมีรายงานว่า *T. rubrum* มีอุบัติการดื้อยารักษากลากสูงขึ้น

โคโลนีของ *T. rubrum* มีสีแดง เชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยที่ยังไม่ได้รับการรักษา จะปรากฏสีแดงที่ผิวหน้าโคโลนี โคโลนีเป็นผง ตรงกลางมักย่นและมีร่องแผ่เป็นรัศมีออกจากจุดกึ่งกลางของโคโลนี ด้านหลังมีสีแดงหรือสีเลือดหมูเรียกโคโลนีที่มีลักษณะแบบนี้ว่า granular type บางครั้งโคโลนีอาจมีผิวเรียบ สีแดงอมน้ำตาลเรียกว่า melanoid type ส่วนโคโลนีที่แยกได้จากผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาก่อนมาพบแพทย์หรือหลังจากแพทย์ให้ยาแล้ว สีของโคโลนีจะไม่แดง ปรากฏเป็นสีชมพู (downy type) แต่ด้านหลังของโคโลนี ยังมองเห็นเป็นสีแดงคล้ายกระดุม สีแดงไม่ซึมเข้าไปในเนื้อวุ้น เส้นใยของเชื้อราเป็นแบบมีผนังกั้น สร้างโคนิเดียไม่มาก ไมโครโคนิเดีย มีลักษณะเป็นรูปหยดน้ำตา (tear drop) ขนาด 3-5 X 2-3 ไมโครเมตร อยู่ข้าง ๆ สายรา พบได้มากใน granular type แมคโครโคนิเดียพบได้ยาก มักพบเมื่อแยกเชื้อใหม่ๆ และนำมาทำ slide culture แมคโครโคนิเดียมีผนังบาง ผิวเรียบ รูปร่างยาว แคบ ภายในจะมีเซลล์ 2-8 เซลล์

T. rubrum ทำให้เกิดโรคกลากบริเวณลำตัว,เท้า (พรรณกร, 2535; นวลจิรา และวราภรณ์, 2538; นงนุช, 2542; Bulmer, 1979; Campbell and Stewart, 1980; Evans and Richardson, 1989; Frey *et al.*, 1979; Larone, 1995) เป็นเชื้อสาเหตุโรคกลากที่พบบ่อยที่สุดในประเทศไทย (พรรณกร, 2535) นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคกลากที่เลี้ยบถึงร้อยละ 90 (Elewski and Charif, 1997)

2.4 *Candida albicans*

C. albicans เป็นยีสต์รูปกลมหรือรูปรี มีการแตกหน่อ (budding) เซลล์มีขนาดประมาณ 2 x 4 ไมโครเมตร สามารถสร้างได้ทั้งสายราแท้ (true hyphae) และสายราเทียม (pseudohyphae) ลักษณะของโคโลนี เรียบมันคล้ายหยดเนย เมื่อแก่ขึ้นโคโลนีมักมีรอยหยิกหยัก ไม่เรียบ สีครีม และมักพบตรงขอบโคโลนีมีการเจริญของสายราเทียมยื่นไปในอาหาร เรียกลักษณะนี้ว่า yeast-like colony สามารถสร้างโคนิเดียป่อง (chlamydoconidia) ในอาหาร corn meal agar ที่เติม tween 80 (พรรณกร, 2535; นวลจิรา และ วราภรณ์, 2538; นงนุช, 2542) ในสภาวะที่มีซีรั่มหรืออัลบูมิน เชื้อจะงอก germ tube (Kwon-Chung and Bennett, 1992)

C. albicans เป็นเชื้อประจำถิ่นหรืออาศัยเป็นปกติในร่างกายโดยไม่ทำให้เกิดโรค (normal microbiota) เช่น บริเวณช่องปาก ช่องคลอด บริเวณทวาร ผิวหนัง ในทางเดินอาหาร และทางเดินปัสสาวะ จากการตรวจในช่องปากคนปกติด้วยวิธีป้าย พบเชื้อ *C. albicans* ร้อยละ 2-69 (Odds,1988,อ้างถึงใน พรรณกร, 2535) นอกจากแยกเชื้อได้จากร่างกายแล้ว ยังอาจพบได้จากสิ่งแวดล้อม เช่น ในน้ำ ในดิน อากาศ พืช (เสาวรส และ นงนุช, 2524; Imvidthaya and Sripathomswat, 1982; Kwon-Chung and Bennett, 1992) ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากมีการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่ายที่มาจากมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังแยกเชื้อได้จาก เตียง อ่างล้างมือ และอากาศในโรงพยาบาลซึ่งปนเปื้อนจากมนุษย์ (Kwon-Chung and Bennett, 1992)

โรคติดเชื้อจาก *Candida* species เรียกว่า candidiasis หรือ candidosis การเกิดโรคนอกจากเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของตัวเชื้อเองแล้ว ยังเกี่ยวกับสภาวะร่างกายของผู้ป่วยด้วย ผู้ที่เสี่ยงต่อการติดโรค คือ ผู้ที่มีภูมิต้านทานของร่างกายต่ำ ได้แก่ ผู้ป่วยโรคมะเร็ง เบาหวาน โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเฉพาะพบบ่อยในผู้ป่วยโรคเอดส์ และผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะนานๆ เป็นต้น การติดเชื้อมีหลายแบบ เช่น ติดเชื้อในปาก ที่พบบ่อยคือฝ้าขาวในปาก (oral thrush) พบได้ร้อยละ 5 ในเด็กแรกเกิด และประมาณร้อยละ 10 ในผู้สูงอายุ พบในผู้ที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อ (นงนุช, 2542; พรรณกร, 2535) โดยเฉพาะในผู้ติดเชื้อไวรัส HIV และมักพบการกลับเป็นซ้ำของโรค candidiasis ที่เยื่อบุในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV (Fichtenbaum *et al.*, 2000) โรค oral candidiasis จะเป็นตัวบ่งชี้ว่าผู้ป่วยจะเข้าสู่การเป็นโรคเอดส์แบบแสดงอาการ (Barr and Torosian, 1986) *C. albicans* ยังทำให้เกิดการติดเชื้อที่ช่องคลอด ที่ผิวหนัง เล็บ และยังทำให้เกิดการติดเชื้อตามระบบ (systemic candidiasis) เช่น ติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (Michigan, 1976; Kauffman *et al.*, 2000) ติดเชื้อที่ระบบประสาท และติดเชื้อในกระแสเลือด *C. albicans* จัดเป็นสายพันธุ์ *Candida* ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงที่สุด (พรรณกร, 2535)

2.5 *Cryptococcus neoformans*

C. neoformans เป็นยีสต์มีรูปร่างกลม หรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-12 ไมโครเมตร มักพบอยู่ในรูปกำลังแตกหน่อ พบเชื้อในมูลนกพิราบ มูลนกเขา เชื้อในมูลนกเมื่ออยู่ในที่มีความชุ่มชื้นจะมีชีวิตอยู่ได้นานประมาณ 2 ปี และไม่พบว่ามีการสร้างแคปซูล แต่เชื้อที่แยกออกจากผู้ป่วยใหม่ๆ จะพบว่ามีการสร้างแคปซูล ซึ่งเป็นสารพวกพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharides) (นวลจิรา และ วราภรณ์, 2538) สร้าง blastoconidia ไม่สร้างสายรา (Kwon-Chung and Bennett , 1992) *C. neoformans* มี 2 varieties ได้แก่ *C. neoformans* var. *neoformans* และ *C. neoforman* var. *gattii* โดยพิจารณาจากสปอร์แบบอาศัยเพศ และยังสามารถแบ่งเป็น 5 serotypes โดยดูความแตกต่างของ capsular polysaccharides antigen ได้แก่ A, B, C, D และ AD สำหรับ serotype A, D และ AD จัดอยู่ใน variety *neoformans* ส่วน serotypes B และ C จัดอยู่ใน variety *gattii* (ศมนีย์, 2542)

C. neoformans var. *neoformans* พบได้ในธรรมชาติในสภาพ saprophytes โดยพบในมูลนก และในดินที่ปนเปื้อนมูลนก (ประหยัด และคณะ, 2513; ประสิทธิ์ และคณะ, 2516; เสาวลักษณ์, 2521; Emmons, 1951, 1955; Imwidthaya *et al.*, 1989) เช่นนกเขา นกพิราบ นกหงษ์หยก เป็นต้น เชื้อมีความทนทานอยู่ได้เป็นนานปี var. *neoformans* พบได้ทั่วโลก ส่วนใหญ่เป็น serotype A เชื้อก่อโรคในประเทศไทยเป็น *C. neoformans* var. *neoformans* serotype A และ D

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการก่อโรคของเชื้อ คือ ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และการสร้างแคปซูลซึ่งเป็นสาร polysaccharide ยีสต์เซลล์ที่สูญเสียแคปซูลจะถูกเม็ดเลือดขาวจับกินได้มากกว่ายีสต์เซลล์ที่มีแคปซูล นอกจากนี้ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ phenoloxidase ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรค โดยเอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสารประกอบ diphenol และ polyphenol ให้เป็น melanin ซึ่งเชื่อว่า melanin เป็นปัจจัยความรุนแรงอย่างหนึ่งของเชื้อ *C. neoformans* (Kwon-Chung and Rhodes, 1986)

โรคที่เกิดจากเชื้อ *C. neoformans* เรียกว่า Cryptococcosis ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจาก *C. neoformans* var. *neoformans* ซึ่งพบได้ทั่วโลก เป็นโรคติดเชื้อเรื้อรังหรือกึ่งเฉียบพลันเกิดกับปอดโดยการหายใจเอาเชื้อเข้าไป และแพร่กระจายไปยังระบบประสาทส่วนกลาง โรคที่รู้จักกันดีคือ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (cerebral cryptococcosis หรือ cryptococcal meningitis) และยังก่อโรคได้กับอวัยวะอื่นๆของร่างกาย โรค cryptococcosis มีอัตราการเกิดสูงขึ้น พบร่วมกับการติดเชื้อ HIV ในผู้ป่วยโรคเอดส์ (AIDS) ซึ่งเมื่อเกิดการระบาดของโรคเอดส์ใน ค.ศ.1980 อุบัติการณ์

ของโรค cryptococcosis พุ่งสูงขึ้นชัดเจนในทุกแห่งของโลก (ศมนีย์, 2542) องค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้โรคนี้เป็น indicator disease ในการวินิจฉัยโรคเอดส์

ในประเทศไทยพบการเกิดโรคติดเชื้อ cryptococcosis ได้ทั่วประเทศ โดยเฉพาะหลังจากมีการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัส HIV พบอัตราการเกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบจาก *C. neoformans* สูงขึ้น (Imwidthaya, 1994) จากข้อมูลการติดเชื้อ cryptococcosis ของกองระบาดวิทยากระทรวงสาธารณะสุข ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 จนถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2540 มีรายงานอุบัติการณ์ของโรค cryptococcosis ในผู้ป่วยเอดส์ถึง 8,904 ราย หรือคิดเฉลี่ยเป็นร้อยละ 16.2 แต่ถ้าพิจารณาอัตราการเกิดโรคเป็นรายปีจะเห็นว่าเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี พ.ศ. 2532 มีเพียงร้อยละ 2 แต่เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 19 ในปี พ.ศ. 2539 (ศมนีย์, 2542) ในผู้ป่วยโรคเอดส์มีการติดเชื้อซ้ำด้วย *C. neoformans* สูงเป็นอันดับ 2 รองจาก *Mycobacterium tuberculosis*

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาค้นคว้าหาเมแทบอไลท์ของเชื้อราชนิดเส้นใยที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยพิจารณาผลในการต้านเชื้อแบคทีเรีย รา และยีสต์ที่ก่อโรคในคน