

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้เป็น 5 หัวข้อ ได้แก่

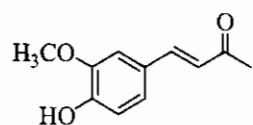
1. สารสังเคราะห์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)
2. รายละเอียดเกี่ยวกับ *Staphylococcus aureus*
3. รายละเอียดเกี่ยวกับยาปฏิชีวนะ
4. รายละเอียดเกี่ยวกับการทดสอบ
5. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. สารสังเคราะห์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

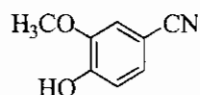
สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่และหลากหลายรวมทั้งยังมีสารกลุ่มต่าง ๆ ที่แตกต่างกันของวงอะโรมาติกที่เป็นสารทุติยภูมิในพืช สารฟีนอลิก (Phenolics) เป็นสารทุติยภูมิที่มีมากมายในพืช และจัดจำแนกได้เป็น สารประกอบกลุ่มที่ไม่ละลาย เช่น แทนนิน (Tannins), ลิกนิน (Lignins), Hydroxycinnamic acids และสารประกอบกลุ่มที่ละลายได้ เช่น Phenolic acids, Phenylpropanoids, Flavonoids และ Quinones (Risipail, Morris, & Webb, 2005)

ปัจจุบันนักเคมีอินทรีย์ได้ทำการสังเคราะห์สารอินทรีย์ต่าง ๆ รวมทั้งสารใหม่ ๆ อยู่เสมอ เช่น นักเคมีที่อยู่ในวงการอุตสาหกรรมก็จะทำการสังเคราะห์โพลีเมอร์ (พลาสติก) ยาฆ่าแมลง สีต่าง ๆ สีสันอาหาร สารปรุงรส น้ำหอม ผงซักฟอก และน้ำยาฆ่าเชื้อ ส่วนนักวิจัยทางเคมีก็จะสังเคราะห์สารในอีกลักษณะหนึ่ง เช่น สารอินทรีย์ธรรมชาติซึ่งเป็นสารที่ยังไม่ทราบโครงสร้างที่แน่นอน สารซึ่งจะใช้ในการศึกษากลไกของปฏิกิริยา สารมัธยันตร์ในขบวนการทางเคมีหรือทางชีววิทยา และสารที่ใช้เป็นยาที่ใช้ในชีวิตประจำวัน (บุญส่ง คงคาทิพย์ และงามพ่อง คงคาทิพย์, 2545)

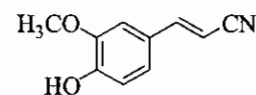
ดังนั้นจึงมีการนำสารสังเคราะห์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิกชนิดใหม่มาทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย สารสังเคราะห์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่ได้นำมาศึกษามีจำนวน 12 ชนิด ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



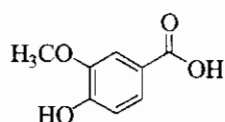
IMC 1003

 $C_{11}H_{12}O_3$ MW 192.21


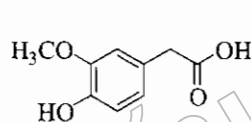
IMC 1004

 $C_8H_7NO_2$ MW 149.15


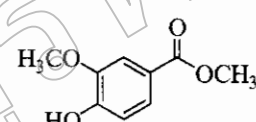
IMC 1006

 $C_{10}H_9NO_2$ MW 175.18


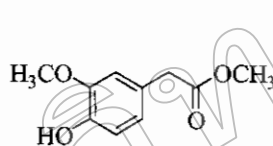
IMC 1007

 $C_8H_8O_4$ MW 168.15


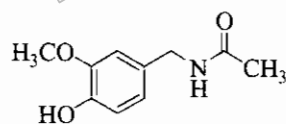
IMC 1008

 $C_9H_{10}O_4$ MW 182.17


IMC 1010

 $C_9H_{10}O_4$ MW 182.17


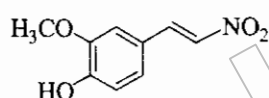
IMC 1011

 $C_{10}H_{12}O_4$ MW 196.20


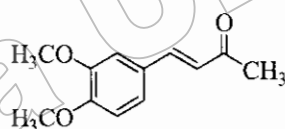
IMC 1013

 $C_{10}H_{13}NO_3$ MW 195.22

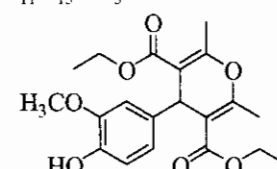

IMC 1014

 $C_{11}H_{15}NO_3$ MW 209.24


IMC 1026

 $C_9H_9NO_4$ MW 195.17


IMC 1027

 $C_{12}H_{14}O_3$ MW 206.24


IMC 1030

 $C_{20}H_{24}O_7$ MW 376.40

ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของสารสังเคราะห์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก จำนวน 12 ชนิด

2. รายละเอียดเกี่ยวกับ *Staphylococcus aureus*

2.1 ลักษณะทั่วไป

S. aureus เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ *Staphylococcaceae* มีลักษณะโคโลนีกลมมน ขอบเรียบ เป็นเงา ขนาดประมาณ 1 - 4 มิลลิเมตร สร้างรงควัตถุสีเหลืองที่เรียกว่า Triterpenoid carotenoids ทำให้เห็นโคโลนีเป็นสีเหลืองทอง มีการติดสีแกรมบวก รูปกลม ส่วนใหญ่มีการเรียงตัวอยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (Grape like clusters) บางครั้งอาจพบเดี่ยว ๆ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ได้ ไม่สร้างสปอร์และไม่เคลื่อนที่ เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ไมโครเมตร มีปริมาณกัวนิล/

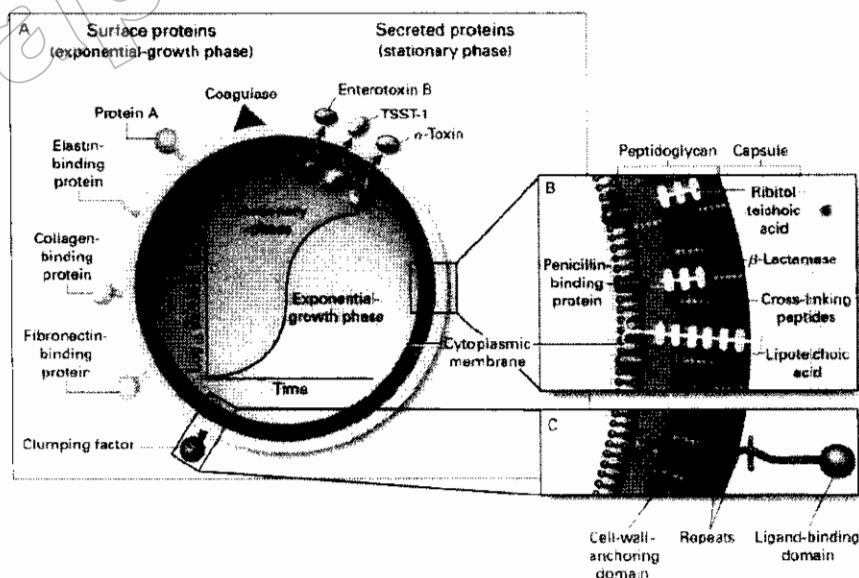
ไซโทซีน (GC content) 30-39 โมลเปอร์เซ็นต์ ให้ผลบวกต่อการทดสอบโคแอกูเลส (Coagulase test) การใช้น้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol fermentation) และ Deoxyribonuclease tests ปัจจุบันเชื่อในสกุลนี้มีสมาชิก 32 สปีชีส์ และ 15 ซับสปีชีส์ เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาเกือบทุกชนิด เป็นพวกแฟคัลเททีฟแอนแอโรบส์ (Facultative anaerobes) เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 7 - 47 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 30 - 37 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ที่ pH 4.5-9.3 แต่ดีที่สุดที่ pH 7-7.5 (Todar, 2008; Lowy, 1998; Bello & Qahtani, 2005; Bremer, Fletcher, & Osborne, 2004)

ตารางที่ 1 ปัจจัยทางกายภาพในการเจริญของ *S. aureus* (Bremer, Fletcher, & Osborne, 2004)

Min. a _w	Min. pH	Max. pH	Max. %salt	Min. temp (°C) ¹	Max. temp (°C) ¹	Oxygen requirement
0.83	4.0	9.8	7 - 10 upto 20	6 - 7	45 - 47	Facultative anaerobe ¹

หมายเหตุ 1 = สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีหรือไม่มีออกซิเจน แต่จะเจริญได้ดีในที่ที่มีออกซิเจน

2.2 โครงสร้างของ *S. aureus* และปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงในการเกิดโรค (Virulence factor)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ *S. aureus* (Lowy, 1998)

ส่วน A แสดงโปรตีนที่ผิวเซลล์และโปรตีนที่หลั่งออกมา การสังเคราะห์โปรตีนต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับระยะของการเจริญ และควบคุมโดยยีนควบคุม เช่น *agr*

ส่วน B และ C แสดงภาพตัดขวาง Cell envelope ซึ่งโปรตีนต่าง ๆ ที่ผิวเซลล์มีการเรียงตัวของโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน

โครงสร้างเซลล์ของ *S. aureus* มีโครงสร้างเช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไป บางสายพันธุ์อาจพบชั้นแคปซูล (Capsule) ซึ่งเป็นชั้นเมือกของสาร Polysaccharide ล้อมรอบเซลล์ แคปซูลมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน (Antigen) ทำให้สามารถแบ่งเชื้อ *S. aureus* ออกได้เป็น 11 Serotype โดย Serotype 5 และ 8 พบว่าเป็นสาเหตุในการก่อโรคติดเชื้อได้บ่อยที่สุด (Lowy, 1998) ชั้นผนังเซลล์ (Cell wall) ประกอบด้วยสายเพปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) เรียงตัวและสานต่อกันเป็นร่างแหหลายชั้นด้วยพันธะ β - 1,4 (1,4 - β linkages) ของ *N* - acetylglucosamine และ *N* - acetylmuramic acid (Lowy, 1998) ซึ่งจะช่วยให้เสริมความแข็งแรงและปกป้องเซลล์จากสิ่งแวดล้อมที่เป็นอันตราย ในชั้นผนังเซลล์ยังมีโครงสร้างของกรด Teichoic (Teichoic acid) ซึ่งจะเชื่อมต่อกับสายเพปติโดไกลแคนด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent bond) หรือกรด Lipo-teichoic (Lipoteichoic acid) โดยจะอาศัยอนุโมลไขมันในการเชื่อมต่อกับเยื่อหุ้มเซลล์ ชนิดของกรด Teichoic มีความจำเพาะต่อสปีชีส์ เช่น กรด Ribitol teichoic จะพบได้ในเชื้อ *S. aureus* ส่วนกรด Glycerol teichoic พบได้ในเชื้อ *S. epidermidis* (ภัทรชัย กิริติสิน, 2549)

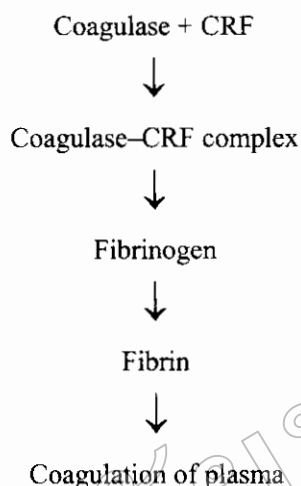
โปรตีนที่ผิวเซลล์ (Surface proteins) ได้แก่ โปรตีนเอ (Protein A) ซึ่งจะยึดกับจับชั้นเพปติโดไกลแคนด้วยพันธะโควาเลนต์ ส่วนประกอบนี้ทำหน้าที่จับกับส่วน Fc receptor ของ IgG1 IgG2 และ IgG4 ซึ่งป้องกันตัวเชื้อจากการถูกทำลายและการจับกินได้ คุณสมบัตินี้ทำให้โปรตีนเอถูกนำไปใช้ในการพัฒนาชุดตรวจแอนติเจนแบบที่เรียกว่า Coagglutination โดยอาศัย IgG ที่ปลายด้าน Fc จับอยู่กับโปรตีนเอ ส่วนปลายด้าน Fab จะจับกับแอนติเจนจำเพาะของเชื้อแบคทีเรียเป้าหมายและทำให้เกิดการตกตะกอนร่วมกันระหว่างเชื้อแบคทีเรียทั้งสอง และยังมี เอนไซม์ Bound coagulase หรือ Clumping factor ซึ่งสามารถเปลี่ยนไฟบริโนเจน (Fibrinogen) ให้เป็นไฟбрิน (Fibrin) ที่ไม่ละลายน้ำและทำให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการจับกลุ่มกันได้ (ภัทรชัย กิริติสิน, 2549; Lowy, 1998)

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบของโครงสร้างที่ผิวเซลล์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

องค์ประกอบ	หน้าที่
แคปซูล (Capsule)	- ยับยั้งกระบวนการออปโซไนเซชัน (Opsonization) และฟาโกไซโทซิส - ป้องกันจากการทำลายของเม็ดเลือดขาว
เพปติโดไกลแคน (Peptidoglycan)	- ทำให้กระบวนการออสโมซิสคงที่ - กระตุ้นการสร้างไพโรเจน (Endogenous pyrogen) - ดึงดูดเม็ดเลือดขาวเข้ามา - ยับยั้งกระบวนการฟาโกไซโทซิส
โปรตีนเอ (Protein A)	- จับกับ Fc Receptor ของ IgG1, IgG2, IgG4 - ยับยั้งกระบวนการออปโซไนเซชันและฟาโกไซโทซิส - ดึงดูดเม็ดเลือดขาวเข้ามา -ต่อต้านคอมพลีเมนต์
กรดไทโคอิก (Teichoic acid)	- ควบคุมความเข้มข้นของประจุบวกที่ผิวเซลล์ - เป็นตัวรับสำหรับแบคทีริโอฟาจ
เยื่อหุ้มเซลล์ (Cell wall)	- เป็นตัวกั้นออสโมซิส - ควบคุมการขนส่งสารเข้าออกจากเซลล์ - เป็นตำแหน่งของเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการหายใจ และกระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ

เอนไซม์นอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ได้แก่

1. Coagulase (Brooks et al., 2001) เป็นเอนไซม์ที่ทำให้พลาสมาเกิดการแข็งตัวโดยการเปลี่ยนไฟบริโนเจน (Fibrinogen) เป็นไฟбрิน (Fibrin) ในปฏิกิริยานี้ Coagulase ต้องการองค์ประกอบที่อยู่ในพลาสมาอาจเป็น โปรทรอมบิน (Prothrombin) หรือ Coagulase-reacting factor (CRF) ซึ่งมีอยู่ในพลาสมามนุษย์และสัตว์บางชนิดเท่านั้น เมื่อรวมกันเป็น Coagulase-CRF complex แล้วจะเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบรินได้ จึงทำให้พลาสมาแข็งตัว นอกจากนี้ยังมี Bound coagulase (Clumping factor) ที่เปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบรินทำให้เชื้อเกาะกลุ่มกัน บทบาทของ Coagulase ทำให้เกิดไฟบรินมาล้อมรอบเชื้อ จึงป้องกันไม่ให้เกิดกระบวนการ Phagocytosis ได้ สำหรับกลไกของ Coagulase ในร่างกายมีดังนี้



2. Lipase เป็นเอนไซม์ที่ *Staphylococcus* มีไว้เพื่อใช้ย่อย Substrate หลายชนิด เช่น พลาสมาและไขมัน ที่สะสมอยู่ที่ผิวหนัง การที่เชื้อใช้สารเหล่านี้ได้ทำให้มันอยู่รอดและเป็นสาเหตุของการรวมกลุ่มของเชื้อที่บริเวณต่อมเหงื่อ การสร้างลิเพสจำเป็นต่อการบุกรุกของเชื้อเข้าสู่ผิวหนัง (Rollof & Normark, 1992)

3. Hyaluronidase เป็นเอนไซม์ย่อยกรดไฮยาลูโรนิก (Hyaluronic acid) ซึ่งเป็น Acid mucopolysaccharide ที่อยู่ที่เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำให้เชื้อแพร่กระจายไปตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ง่ายขึ้น เชื้อ *S. aureus* มากกว่าร้อยละ 90 สร้างเอนไซม์นี้ได้

4. Staphylokinase (Todar, 2008) เชื้อส่วนใหญ่ของ *S. aureus* แสดง Plasminogen activator ที่เรียกว่า Staphylokinase สามารถย่อยไฟบรินได้ สารประกอบระหว่าง Staphylokinase กับ Plasminogen จะกระตุ้น Plasmin-like proteolytic activity ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ไฟบรินที่จับตัวเป็นก้อนนั้นละลายได้ จึงนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะเกิดลิ่มเลือดอุดตันหลอดเลือดของหัวใจ (Coronary thrombosis) ได้

5. Fibrinolysin เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยไฟบรินทำให้เลือดไม่แข็งตัว มีสมบัติทางแอนติเจนและเอนไซม์แตกต่างจาก Streptokinase ของเชื้อ *Streptococcus* การสร้าง Staphylokinase ขึ้นอยู่กับจีโนมของฟาจ เชื้อ *S. aureus* ส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้

6. Nuclease เป็นเอนไซม์ที่ทนความร้อน ประกอบด้วย Globular proteins ที่มี Polypeptide สายเดี่ยว เมื่อให้ความร้อน 65 องศาเซลเซียส จะทำลายโครงสร้างนี้ได้ แต่ปฏิกริยานี้สามารถกลับคืนได้ เอนไซม์นี้เป็น Phosphodiesterase ที่สามารถย่อยได้ทั้ง DNA และ RNA

7. Catalase เป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ให้กลายเป็นน้ำ (H_2O) และออกซิเจน (O_2) เพื่อปกป้องเซลล์แบคทีเรียจากการถูกทำลายในเซลล์

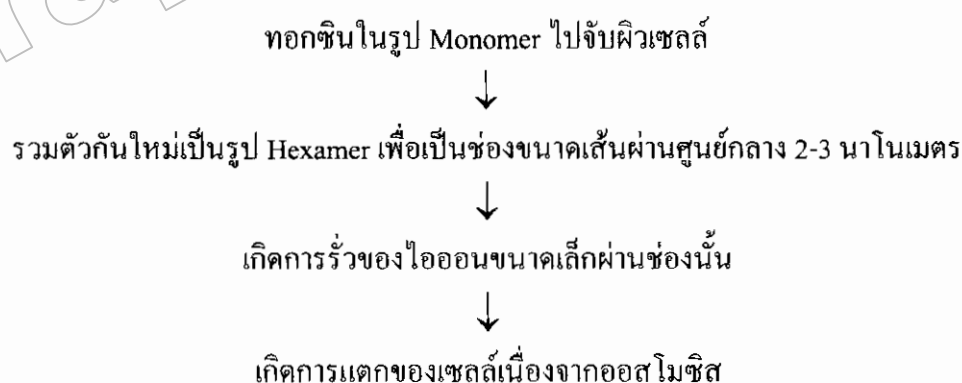
เม็ดเลือดขาว ภายหลังจากเซลล์เม็ดเลือดขาวจับกินเชื้อแบคทีเรียโดยกระบวนการฟาโกไซโตซิส (Phagocytosis) จะเกิดการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลอิสระที่เป็นพิษเพื่อทำลายเชื้อแบคทีเรีย

8. β -lactamase (Stapleton & Taylor, 2002) เป็นเอนไซม์ที่สร้างจากยีนบนพลาสมิดและทำให้เชื้อดื้อต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม β -lactams อื่นอีกหลายชนิด โดยเอนไซม์ β -lactamase จะย่อยสลายวง β -lactam ของยาปฏิชีวนะทำให้ยาปฏิชีวนะเสียสภาพและไม่สามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียได้

สารพิษ (Toxin)

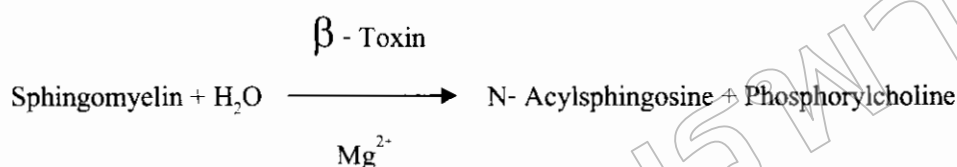
1. Cytolysin toxins เป็นพิษที่ทำให้เกิดการทำลายเซลล์ พิษส่วนใหญ่เป็นโปรตีนนอกเซลล์ และกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง Neutralizing antibody พิษที่สร้างโดย *S. aureus* ได้แก่ ฮีโมไลซิน (Hemolysin) และลิวโคซิดิน (Leukocidin) ซึ่งฮีโมไลซินจำแนกเป็น 4 ชนิด คือ α - Hemolysin, β - Hemolysin, δ - Hemolysin และ γ - Hemolysin

1.1 α - Hemolysin หรือ α - Toxin (Todar, 2008) เป็นโปรตีนที่ย่อยเม็ดเลือดแดงและทำลายเกล็ดเลือด แอลฟาพิษจะย่อยไลโซโซมและเป็นพิษกับเซลล์โดยแมโครฟาจ (Macrophage) และเกล็ดเลือดจะถูกทำลายแต่ไม่ทำลายโมโนไซต์ (Monocytes) ผลของพิษจะทำลายกล้ามเนื้อเรียบและเซลล์ผิวหนังทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดหดเกร็ง พิษบริสุทธิ์เป็นโมโนเมอร์ (Monomer) ที่ละลายน้ำได้ มีขนาด 33,200 ดาลตัน (Gouaux, 1998) เมื่อมาสัมผัสกับตัวรับบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์จะเรียงตัวกันเป็นเฮกซะเมอร์ (Hexamer) ดังนั้นกลไกการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ มีลำดับดังนี้



1.2 β - Hemolysin หรือ β - Toxin หรือ Staphylococcal sphingomyelinase (Todar, 2008) ซึ่งจะทำลายผนังเซลล์ที่มีไขมันมาก พิษนี้ Encode ใน Lysogenic

bacteriophage ทำให้เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ถ้าบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส และแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส (Hot cold hemolysin) ทอกซินสามารถย่อยสลาย Sphingomyelin ให้เป็น N- Acylsphingosine และ Phosphorylcholine จึงทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเมื่อนำไปแช่เย็น



1.3 δ - Hemolysin หรือ δ - Toxin (Todar, 2008) เป็น Peptide toxin ที่มีขนาดเล็กมาก *S. aureus* ทั้งหมดสามารถสร้างได้และยังเป็นทอกซินที่ทนความร้อน สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง Macrophage Lymphocyte Neutrophil และเกล็ดเลือด อีกทั้งยังยับยั้งการดูดน้ำกลับที่ลำไส้เล็กส่วน Ileum และกระตุ้นการสะสม AMP

1.4 γ - Hemolysin หรือ γ - Toxin ประกอบด้วยโปรตีน 2 ส่วนแยกกัน ทอกซินนี้ทำลายเม็ดเลือดแดงของกระต่าย คน และแกะ แต่ไม่มีผลกับเม็ดเลือดแดงของม้าและสัตว์ปีก

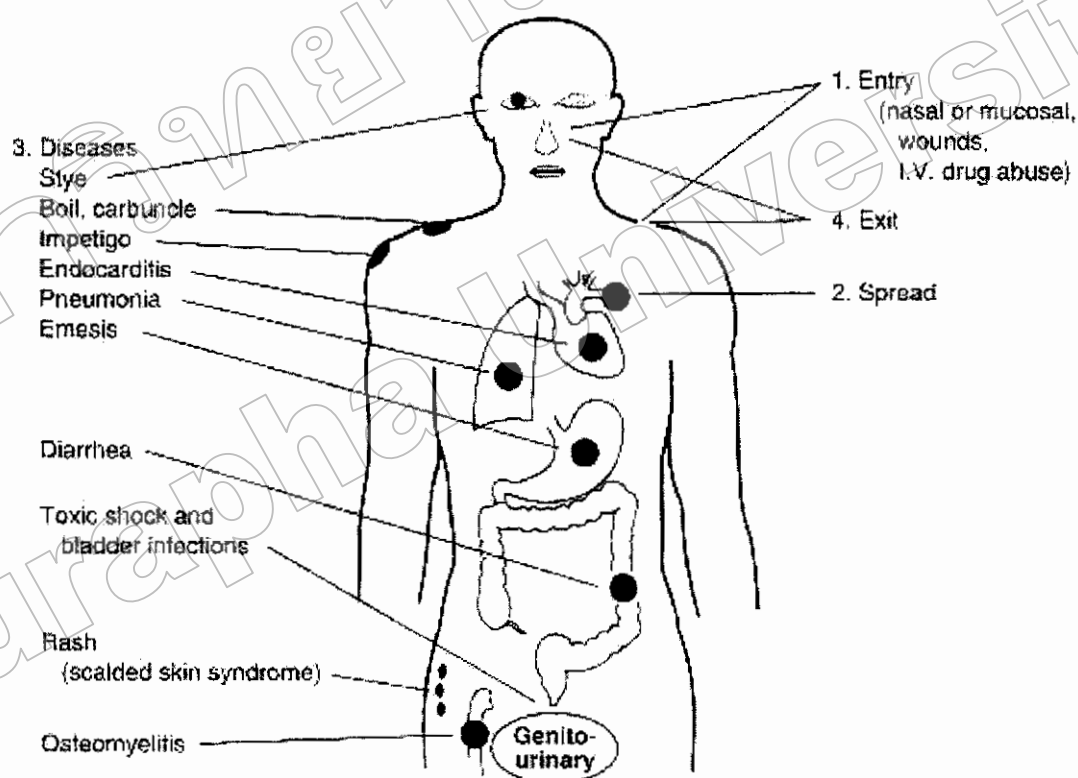
1.5 Leukocidin หรือ Pantone-Valentine leukocidin ซึ่ง *S. aureus* ส่วนใหญ่สร้าง Leukocidin ที่ทำลายเม็ดเลือดขาวชนิดพอลิมอร์โฟนิวเคลียร์ลิวโคไซด์และ Macrophage แต่ไม่มีผลกับเซลล์ชนิดอื่น Leukocidin ประกอบด้วยโปรตีน 2 ส่วน คือ Luk F และ Luk S เมื่อ Luk F 4 subunits จับกับ Luk S 4 subunits จะจับตัวเป็น Hetero-oligomeric transmembrane pore (Octameric pore) แล้วจับกับผนังเซลล์ ทำให้เกิดช่องว่างที่ผนังเซลล์และทำให้เซลล์แตก (Todar, 2008)

2. Enterotoxin เป็น Exotoxin ที่ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ ซึ่งมีอาการท้องร่วงรุนแรงและอาเจียน Enterotoxin นี้ประกอบด้วย Globular proteins ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 28,000-35,000 ดาลตัน ดังนี้ ชนิด A-E, G, H, I และ J ปัจจุบันพบชนิดใหม่คือ Enterotoxin F ซึ่งแยกได้จาก *S. aureus* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิด Toxic shock syndrome จึงเรียกว่า Toxic Shock Syndrome Toxin 1 (TSST1) จะทำให้เกิดอาการไข้และช็อค ทอกซินสามารถทนความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และทนต่อน้ำย่อยในทางเดินอาหาร การทำให้เกิดอาหารเป็นพิษพบว่าเกิดเมื่อ *S. aureus* เจริญในอาหาร โปรตีนและการโบไฮเดรต โดยทอกซินอาจมีผลไปกระตุ้นศูนย์กลางการอาเจียนที่ระบบประสาทส่วนกลางและไปยับยั้งการดูดน้ำกลับจากลำไส้จึงทำให้ขับถ่ายของเหลวออกมามาก (Levinson & Jawetz, 2002)

3. Epidermolytic toxin หรือ Exfoliative toxin เป็นทอกซินที่ทำให้เกิดการย่อยสลายของเซลล์ที่เกาะติดกันระหว่างเซลล์ของชั้นหนังกำพร้า (Stratum granulosum) จึงทำให้ผิวหนัง

หลุดออก แต่ไม่ทำให้เกิดการอักเสบหรือไม่ทำให้เซลล์ตาย เรียกว่า โรค Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) ทокซินของ *S. aureus* มี 2 ชนิด คือ ETA และ ETB ซึ่งเป็นโปรตีน (Greenwood et al., 2002; Todar, 2008)

2.3 โรคที่เกิดจาก *S. aureus* (ปรียา กุลละวณิช และคณะ, 2540; White & Cox, 2006) ได้แก่ การติดเชื้อที่ผิวหนัง โรคปอดบวม (Staphylococcal pneumonia) ไชกระดูกอักเสบ (Osteomyelitis) โพรงข้อต่อมีหนอง (Pyoarthrosis) การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (Bacteremia) เชื้อบุหัวใจอักเสบ (Endocarditis) อาหารเป็นพิษ (Food poisoning) ลำไส้อักเสบ (Enterocolitis) อาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (Toxic shock syndrome, TSS) การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด (Wound infection) และการติดเชื้ออื่น ๆ



ภาพที่ 3 การติดเชื้อ *S. aureus* ในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Foster, n.d.)

การติดเชื้อที่ผิวหนัง การติดเชื้อ *Staphylococcus* ทำให้เกิดฝี อาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ส่วนใหญ่จะเกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมไขมัน บริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตาย

จะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้วรวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน และมีไฟบรินมาล้อมรอบ ซึ่งภายในบริเวณฝิ่นี้จะไม่มีเลือดมาเลี้ยง

1. Impetigo เป็นการติดเชื้อแบคทีเรียของผิวหนังที่ตื้นที่สุด ทำให้เกิดตุ่มหนองที่ได้ชั้น Stratum corneum มักพบในเด็กวัยเรียนที่ไม่ค่อยสะอาด ไม่สนใจบาดแผลเล็ก ๆ น้อย ๆ เมื่อเกิดโรคจะติดต่อกันง่ายภายในครอบครัว สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Streptococcus* group A หรือ *S. aureus* หรือทั้ง 2 กลุ่ม ทำให้แบ่ง Impetigo ออกเป็น 2 ชนิด คือ

- Impetigo contagiosa (Non bullous หรือ Streptococcal impetigo) เกิดจาก *Streptococcus* group A โดยเฉพาะ Type 49, 52 และ 53 เมื่อเชื้อปรากฏบนผิวหนัง ประกอบกับมีรอยถลอกขีดข่วน ประมาณ 10 วันต่อมา จึงเกิดผื่นของ Impetigo

- Bullous impetigo (Staphylococcal impetigo) มักเกิดบนผิวหนังที่ปกติมาก่อน ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* group II phage type 71 อาจพบจาก Type 3A, 3B, 3C และ 5S ลักษณะทางคลินิก เริ่มเป็นตุ่มน้ำที่ขยายขนาดขึ้นเร็ว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร อยู่บนผิวหนังปกติหรือแดงเล็กน้อย ระยะแรกจะเห็นเป็นตุ่มน้ำใสแล้วกลายเป็นหนอง ผื่นของตุ่มน้ำบางแตกออกง่าย เมื่อแตกออกจะเห็นเป็นผิวหนังแดงแฉะ ๆ ตกสะเก็ด (Crust) สีน้ำตาลอ่อน บริเวณที่พบการติดเชื้อได้บ่อยคือใบหน้า ลำตัว แขนและขา Bullous impetigo ไม่สัมพันธ์กับฤดูกาล ในทารกแรกเกิดที่ยังมีภูมิคุ้มกันต่ำอาจเกิดการแยกตัวของเซลล์ผิวหนังบริเวณกว้างพร้อมกับมีไข้ เกิดโรคที่เรียกว่า Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS)

2. Ecthyma ลักษณะคล้ายกับ Impetigo มีอาการเริ่มต้นแบบเดียวกันแต่การติดเชื้อจะลึกลงไปถึงชั้นหนังแท้ ทำให้เกิดแผล สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Streptococcus* group A และ *S. aureus* มักพบในเด็กวัยเรียนหรือผู้ใหญ่ที่ไม่รักษาความสะอาด เล็บยาว ผิวหนังสกปรก ไม่สนใจบาดแผลเล็ก ๆ น้อย ๆ จากรอยถลอก ขีดข่วน รอยแผลจากแมลงกัด หรือเกิดหลังโรคผิวหนังที่มีอาการคันมาก ๆ เช่น เหา หิด ผิวหนังอักเสบ อีสุกอีใส งูสวัด ผื่นเริ่มเป็นตุ่มแดง หรือตุ่มน้ำตุ่มหนองเล็ก ๆ บนฐานสีแดง โตช้า ๆ ประมาณ 1-3 เซนติเมตร ต่อมาจึงมีสะเก็ดหนาปกคลุม สะเก็ดแข็งสีคล้ำ ติดแน่น ข้างใต้เป็นน้ำหนอง และแผลลึก ถ้าเป็นนาน ๆ ขอบแผลจะยกนูนมีสีคล้ำ มักพบที่บริเวณขา

3. Folliculitis เป็นการอักเสบภายในขุมขน มี 2 ชนิด คือ

- Superficial folliculitis หรือเรียกว่า Impetigo of Bockhart เนื่องจากมีลักษณะคล้าย Impetigo คือ มีตุ่มหนองขนาดเล็กภายในบริเวณรูเปิดของขุมขน โดยไม่ทำลายขน มักพบที่ศีรษะในเด็ก หรือบริเวณรักแร้ ในผู้ใหญ่พบบริเวณอวัยวะเพศ ถ้าไม่รักษา การติดเชื้อจะลงลึกไปในขุมขนเกิด Deep folliculitis ร่วมด้วย

- Deep folliculitis คือ การอักเสบลึกลงในและรอบรูขุมขนมากกว่า Superficial folliculitis มักเกิดบริเวณหนวดเรียกว่า Sycosis barbae มีลักษณะเป็นตุ่มหนองของขุมขนบริเวณหนวด จะถูกตามอย่างรวดเร็วจนถึงโคนหนวดและเป็นเรื้อรัง อาจลุกลามเชื้อราที่บริเวณหนวด

4. Furuncles (Boils) เป็น Nodule ลึก ๆ ที่มีการอักเสบเกิดขึ้นบริเวณ ขุมขน มักเริ่มจาก Superficial folliculitis แล้วลุกลามออกไปนอกขุมขน จึงมักเกิดเฉพาะบริเวณที่มีขุมขน โดยเฉพาะบริเวณที่มีการเสียดสี เหงื่อออกมาก เช่น คอ ใบหน้า รักแร้ และก้น สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* แผลพุพองเชื้อมักอยู่ในจมูก มีอาการผื่นเป็น Nodule สีแดง แฉก กดเจ็บ โตช้า ๆ เนื่องจากอยู่ลึกจึงไม่ค่อยแตกเอง แต่จะเจ็บมากและแข็ง 3-4 วันต่อมาจะนุ่มมีหนองสีเหลืองที่ขุดแล้วจึงแตกเป็นน้ำหนองไหลพร้อมกับมีเนื้อตายจึงหายเจ็บ หายแดง และยุบลง

5. Carbuncles เป็น Furuncles ที่รวมกลุ่มกันเป็นบริเวณกว้าง จะเห็นเป็นผื่นแดงแข็ง ประกอบด้วยหลาย Nodule อยู่ลึก ๆ มีการอักเสบที่ผิว มีตุ่มหนองหลายตุ่มคล้ายฝีกบ มีการกระจายของเชื้อข้างใต้ระหว่าง Fibrous septum ทำให้เกิดฝีหลายตุ่มที่ติดต่อกัน เมื่อตุ่มหนองแตกออกเห็นเป็นน้ำหนองและเนื้อตายตรงกลาง หายช้า ๆ ด้วยแผลเป็น มักพบบริเวณต้นคอ ต้นขาและหลัง มีอาการเจ็บมาก มีไข้ และอ่อนเพลีย

โรคปอดบวม (Staphylococcal pneumonia) เป็นการอักเสบของปอดที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* มักพบในผู้ป่วยที่ติดเชื้อสาเหตุนำเข้าทางเส้นเลือด เด็ก ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยที่นอนโรงพยาบาลนาน หรือต้องเจาะคอช่วยหายใจ หรือเป็นตามหลังไข้หวัดใหญ่ เชื้อสามารถเข้ากระแสเลือด 2 ทาง คือ

- ทางการหายใจ จากการสูดดม หรือสำลักเอาเชื้อลงในหลอดลม
- ทางกระแสโลหิต โดยมีการอักเสบติดเชื้อที่อื่น เช่น ผิวหนัง เชื้อจะไปตามกระแสเลือดแล้วไปสู่ปอด

อาการ จะเป็นรุนแรงกว่าปอดอักเสบทั่วไป ผู้ป่วยจะหอบมาก และมีอาการเขียว

ไขกระดูกอักเสบ (Osteomyelitis) และ โพรงข้อต่อมีหนอง (Pyoarthrosis; Bamberger & Boyd, 2005)

- ไขกระดูกอักเสบ (Osteomyelitis) *S. aureus* เป็นสาเหตุสำคัญ โรคนี้มักเกิดในเด็กผู้ชายอายุต่ำกว่า 12 ปี ซึ่งจะเกิดตามหลังเมื่อมีการกระจายของเชื้อเข้ากระแสเลือดเมื่อเกิดบาดแผลหรือฝี เชื้อจะอาศัยอยู่ที่ Diaphysis ของกระดูกยาว (Long bones) อาจเป็นเพราะมีการหมุนเวียนเลือดเข้ามาในบริเวณนี้ เมื่อการติดเชื้อเกิดมากขึ้นจะมีการสะสมของหนองมากขึ้นด้วย จนไหลขึ้นไปที่ผิวของกระดูกเกิดเป็นหนองได้เยื่อหุ้มกระดูก อาการของการเกิดไขกระดูกอักเสบ

จะทำให้มีไข้ หนาวสั่น เจ็บปวดที่กระดูก มีการหดเกร็งของกล้ามเนื้อรอบ ๆ บริเวณนั้น ถ้ามีการติดเชื้อใกล้กับข้อต่อจะมีโรคแทรกเกิดขึ้น คือ โพรงข้อต่อมีหนอง

- โพรงข้อต่อมีหนอง (Pyoarthritis) พบประมาณร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่เป็นโรคข้ออักเสบจากแบคทีเรียเกิดจากเชื้อ *S. aureus* โรคโพรงข้อต่อมีหนองอาจเกิดหลังจากการทำศัลยกรรมกระดูก ร่วมกับการเกิดไขกระดูกอักเสบ หรือเกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังเฉพาะแห่ง หรือเกิดการติดเชื้อในข้อต่อระหว่างการฉีดสารบางชนิดเข้าไปในข้อต่อ โดยเฉพาะในคนไข้ที่เป็นข้ออักเสบรูมาตอยด์ที่ได้รับสารคอร์ติโคสเตียรอยด์ การติดเชื้อ *Staphylococcus* ในข้อต่อจะทำลายกระดูกอ่อนในข้อต่อ และมีผลทำให้เกิดความพิการของข้อต่ออย่างถาวรตลอดไป

การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (Bacteremia) และเยื่อหัวใจอักเสบ (Endocarditis; Bamberger & Boyd, 2005) การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดอาจเกิดขึ้นจากการติดเชื้อเฉพาะที่ เช่น ที่ผิวหนัง ทางเดินหายใจ หรือทางเดินระบบสืบพันธุ์และปัสสาวะ และมักพบในคนไข้ที่เป็นโรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวแกรนูโลไซต์ (Granulocyte) และภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง นอกจากนี้สิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่กระแสเลือด เช่น การสวนหัวใจ ก็เป็นสาเหตุให้เชื้อเข้าหลอดเลือดจนเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด อาการที่เกิดจากการติดเชื้อในกระแสเลือด คือ มีไข้ หนาวสั่น มีภาวะเกิดเป็นพิษ (Systemic toxicity) และเกิดโรคแทรก คือ เยื่อหัวใจอักเสบ เกิดการทำลายลิ้นหัวใจอย่างเฉียบพลันและร้ายแรงจนถึงตายได้ ภายใน 2 - 3 วัน นอกจากจะรักษาด้วยยาปฏิชีวนะทัน เยื่อหัวใจอักเสบเนื่องจาก *S. aureus* มีอัตราการตายสูงมาก ตั้งแต่ร้อยละ 40 - 80 ขึ้นอยู่กับอายุคนไข้ และขึ้นอยู่กับความต้านทานของเชื้อต่อยาเพนิซิลินด้วย

อาหารเป็นพิษ (Food poisoning; Mahon & Manuselis, 2000) เกิดจากการกินอาหารที่มีทอกซินของ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง Enterotoxin และ Enterotoxin ในอาหารนั้นมักถูกปนเปื้อนโดยผู้ประกอบอาหารที่มีเชื้ออยู่ในมือ จากการที่อาหารนั้นมักเก็บไว้ในตู้เย็นที่ไม่เย็นพอ จึงทำให้เชื้อเจริญและสร้างทอกซินได้ อาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน ได้แก่ อาหารพวกคัสตาร์ดหรือขนมปังที่มีครีม แสม เนื้อที่ผ่านกรรมวิธีการปรุงแล้ว ไอศกรีม เนยแข็ง (Cottage cheese) และสลัดไก่ อาหารที่มี Enterotoxin ปะปนมักมีกลิ่น รส และสภาพของอาหารเป็นปกติ ปริมาณทอกซินที่มากพอจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จะสร้างขึ้นภายใน 4 - 6 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อาการของโรคจะเกิดภายใน 2 - 6 ชั่วโมง หลังจากกินอาหารเข้าไป โดยมีอาการเป็นตะคริวรุนแรง ปวดท้อง อาเจียน คลื่นเหียน ท้องร่วง อาจมีอาการเหงื่อแตกและปวดศีรษะ แต่มักไม่มีไข้ อาการของโรคจะหายได้เร็วภายใน 6-8 ชั่วโมง

ถ้าไส้อักเสบ (Enterocolitis) เป็นอาการที่รุนแรงมักพบในคนไข้ในโรงพยาบาลที่เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ถูกยับยั้งการเจริญด้วยยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง ทำให้ *S. aureus* สายพันธุ์

ที่สร้าง Enterotoxin ที่ก่อยาเจริญมากเกินไป อย่างไรก็ตามโรคนี้ส่วนใหญ่มักเกิดจากเชื้อ *Clostridium difficile* ที่สามารถสร้างทอกซิน

อาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (Toxic shock syndrome, TSS; Batzing, 2002) *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้างทอกซิน (Toxic shock syndrome toxin-1; TSST-1) ทำให้เกิดโรคช็อก TSS ซึ่งมักเกิดในหญิงสาวที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด แต่บุคคลอื่น ๆ รวมทั้งเด็กและผู้ชายที่เป็นฝี หรือ ผู้ติดเชื้อ *Staphylococcus* ก็อาจเป็นโรค TSS ได้ อาการของโรค คือ มีไข้ ความดันต่ำ ท้องร่วง เยื่อบุตาอักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ เกิดผื่นแดงของไข้ดำแดง และอวัยวะต่าง ๆ ล้มเหลว ซึ่งเป็นสาเหตุมาจาก Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) หลังจากนั้นมีการลอกของผิวหนังออกเป็นแผ่น หรือสะเก็ด

การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด (Wound infection) เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญของโรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นในโรงพยาบาล (Nosocomial infection หรือ Hospital acquired infection) ซึ่งจะพบในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดแล้วเกิดการติดเชื้อ *S. aureus* ที่อาศัยอยู่บริเวณผิวหนังของผู้ป่วยเอง จากบุคลากรทางการแพทย์ หรือจากสิ่งแวดล้อม ทำให้บริเวณแผลผ่าตัดเกิดการติดเชื้อ อักเสบ บวมแดงและเป็นหนอง

นอกจากนั้นยังพบการติดเชื้ออื่น ๆ เช่น ไขข้ออักเสบ (Septic arthritis; อิศยา จันทรวินทยา นุชิต และวัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2551)

ตารางที่ 3 ปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงในการเกิดโรค (Virulence factor) ของเชื้อ *S. aureus* (อิสยา จันทน์วิทยานุกิต และวัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์, 2551)

Virulence factor	กลไกการออกฤทธิ์
1. โปรตีนที่ผนังเซลล์ (Cell wall proteins)	
1.1 โปรตีน เอ (Protein A)	- เกาะกับ Fc ของ IgG
1.2 Fibronectin-binding protein	- เกาะกับ Fibronectin ของเซลล์
2. สารพิษที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ (Exotoxin)	
2.1 Staphylococcal enterotoxin A-E	- คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง เป็น Superantigen
2.2 Toxic shock syndrome toxin-1	- มีไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง ช็อค ตับและไตวาย เป็น Superantigen
2.3 Exfoliative toxin/ Exfoliatin/ Epidermolysin	- ทำลายผิวหนังชั้นหนังกำพร้า ทำให้เกิดการหลุดลอกออกของผิวหนัง
2.4 Cytolytic toxin	
- α -, β -, γ -, δ - Hemolysin	- ทำลายเม็ดเลือดแดง
- Penton-Valentine leucocidin	- ทำลายเม็ดเลือดขาว
3. เอนไซม์และโปรตีน	
3.1 Coagulase, Clumping factor	- เปลี่ยนไฟบริโนเจนให้เป็นไฟбрิน
3.2 Hyaluronidase, Collagenase	- ทำลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน
3.3 DNase, RNase	- ทำลายดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ
3.4 Fibrinolysin	- ทำลายไฟบริน
3.5 Lipase	- ทำลายไขมัน

2.4 กลไกในการดื้อยาปฏิชีวนะ (Hawkey, 2000) แบ่งได้เป็น Intrinsic resistance และ

Acquired resistance

Intrinsic resistance ตามธรรมชาติของการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะนั้น ยาปฏิชีวนะบางชนิดจะไม่สามารถใช้ในการยับยั้งการเจริญได้กับเชื้อบางกลุ่ม เช่น ยา Vancomycin ไม่สามารถ

ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Gram negative bacilli หรือยา Aminoglycoside ก็ไม่สามารถใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria)

Acquired resistance เป็นกลไกที่แบคทีเรียพัฒนาขึ้นมาเพื่อจะขัดหรือลดประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ ซึ่งในเชื้อแต่ละชนิดอาจจะใช้หลาย ๆ กลไกร่วมกันในการดื้อยาปฏิชีวนะแต่ละขนาน โดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 4 กลไกใหญ่ ๆ คือ

- Drug inactivation / Modification เป็นกลไกที่พบมากที่สุด เกิดจากการที่แบคทีเรียสร้างเอนไซม์มาทำลายหรือเปลี่ยนแปลงยาปฏิชีวนะ ตัวอย่างที่เราพบได้บ่อย ได้แก่ เอนไซม์

Penicillinases β -lactamases และ Cephalosporinases

- Alteration of target site โดยวิธีการนี้ยังสามารถเข้าไปในผนังเซลล์ไปถึง Target site ได้แต่ไม่สามารถจับกับ Target site ได้เพราะมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโมเลกุล จึงทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ต่อไปได้ เช่น *S. pneumoniae* มีการเปลี่ยนโครงสร้างของ PBP (Penicillin binding protein) เป็น PBPX ทำให้เกิดการดื้อยาตามมา

- Bypass pathways เชื้อที่ดื้อยาจะสร้าง Alternative target ขึ้นมาใหม่ และยาปฏิชีวนะจะเข้าจับกับ Target อันใหม่แทน เช่น *S. aureus* (MRSA) มีการสร้าง PBP2a ขึ้นมาแทน PBP2 เพื่อให้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม β -lactams เข้าจับกับ PBP2a แทน PBP2

- Decreased uptake แบคทีเรียมีกลไกป้องกันไม่ให้ยาเข้าไปในเซลล์ หรือมีการใช้ Energy-requiring membrane efflux pump นำยาออกไปนอกตัวเซลล์ เช่น การทำงานของยา Imipenam จำเป็นจะต้องอาศัย Porin ที่จำเพาะสำหรับการนำยาจะเข้าเซลล์ได้ เมื่อ *Pseudomonas aeruginosa* พัฒนาให้ไม่มี Porin ชนิดนี้ เชื้อก็จะสามารถดื้อต่อ Imipenam ได้ หรือใน *Salmonella typhi* มีการเพิ่มการแสดงของยีนที่สร้าง Multidrug efflux pump จึงทำให้เกิดการดื้อยาหลายชนิดตามมา ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของการดื้อยาชนิดต่าง ๆ สรุปได้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ (Hawkey, 2000)

ยาปฏิชีวนะ	กลไกการออกฤทธิ์	กลไกการดื้อยาที่สำคัญ
β -lactams	ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์และ การแบ่งตัวของเซลล์	เอนไซม์ β -lactamases, เปลี่ยนแปลง Penicillin binding protein, เปลี่ยนแปลง Porins บริเวณด้านนอกของเยื่อ หุ้มเซลล์ และกระตุ้นการ ทำงานของ Efflux
Glycopeptides (Vancomycin, Cycloserine)	ยับยั้งการแบ่งตัวของผนังเซลล์	เปลี่ยนแปลง Target site
Aminoglycosides	ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (จับกับ 30s ไรโบโซม)	เอนไซม์ Aminoglycoside- modifying, ลดความสามารถ ในการเป็นเยื่อเลือกผ่านของ เยื่อหุ้มเซลล์ และกระตุ้นการ ทำงานของ Efflux
Macrolides	ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (จับกับ 50s ไรโบโซม)	เปลี่ยนแปลงเป้าหมาย, ยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ และ กระตุ้นการทำงานของ Efflux
Tetracycline	ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (จับกับ 30s ไรโบโซม)	Efflux, เปลี่ยนแปลงเป้าหมาย, ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และลดความสามารถในการ เป็นเยื่อเลือกผ่านของ เยื่อหุ้มเซลล์
Chloramphenicols	ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (จับกับ 50s ไรโบโซม)	เอนไซม์ Chloramphenicol acetyltransferase และกระตุ้น การทำงานของ Efflux

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ยาปฏิชีวนะ	กลไกการออกฤทธิ์	กลไกการดื้อยาที่สำคัญ
Quinolones	ยับยั้งการสังเคราะห์ DNA โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA gyrase	เปลี่ยนแปลงเป้าหมาย และกระตุ้นการทำงานของ Efflux
Rifampin	ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก	เปลี่ยนแปลงเป้าหมาย และลดความสามารถในการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์
Metronidazole	ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก	ยังไม่มีการระบุไว้ชัดเจน
Sulfonamides	ยับยั้งการสังเคราะห์กรดโฟลิก	เปลี่ยนแปลงเป้าหมาย
Trimethoprim	ยับยั้งการสังเคราะห์กรดโฟลิก	เปลี่ยนแปลงเป้าหมาย และลดความสามารถในการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์
Polygene (Nystatin, Amphotericin B)	ขัดขวางการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์	เปลี่ยนแปลง Ergosterol ทำให้เกิดการขาดแคลน

2.5 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อที่แสดงออกถึงการปรับตัวในด้านการดื้อยาปฏิชีวนะได้อย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนมียาปฏิชีวนะอัตราการตายของ Bacterimia จาก *S. aureus* สูงถึงร้อยละ 90 ในระยะต้นของปี ค.ศ.1940 ได้นำ Benzyl penicillin (Penicillin G) มาใช้รักษาทำให้ ลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้มาก อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ.1942 เริ่มพบการดื้อยา Penicillin G ใน *S. aureus* โดยเชื้อสร้างเอนไซม์ Penicillinase (β -lactamase) อุบัติการณ์ของ *S. aureus* ที่ดื้อ Penicillin ที่แยกได้จากผู้ป่วยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Cavalcanti et al., 2005) จนถึงปี ค.ศ.1948 ก็พบว่าไม่สามารถใช้ Penicillin G รักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ. 1959 มีการค้นพบกรด 6-Amino-penicillin ซึ่งเป็น Penicillin precursor ทำให้สามารถผลิต Penicillin ที่สังเคราะห์ ซึ่งสามารถป้องกันการย่อยสลายของวง β -lactam โดยเอนไซม์ β -lactamase (Japoni et al., 2004) Methicillin และ Isoxazolyl penicillin ตัวแรก คือ Oxacillin เป็นยาในกลุ่ม Penicillinase-resistant penicillin ได้ถูกนำมารักษาผู้ป่วยติดเชื้อ *S. aureus* ในปี ค.ศ. 1960

แต่ในปีต่อมาก็เริ่มพบว่าการดื้อยา Penicillinase-resistant penicillin โดยมีอุบัติการณ์ร้อยละ 0.04-0.2 และมีการเรียกชื่อเหล่านี้ว่า Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) สายพันธุ์เหล่านี้คือ เฉพาะยาในกลุ่ม β -lactam ไม่ใช่แค่เพียงเชื้อสร้างเอนไซม์ β -lactamase เท่านั้นที่ทำให้เกิดการดื้อยา เชื้อยังมีการแสดงออกในส่วนที่เชื้อสร้างเพิ่มขึ้นมา คือ Penicillin-binding protein (PBP2a) ซึ่งได้รับมาจากเชื้อสปีชีส์อื่น ๆ ทำให้ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Stapleton & Taylor, 2002)

Penicillin-binding proteins เป็นเป้าหมายของยาปฏิชีวนะ β -lactam ซึ่งโครงสร้างของผนังเซลล์นั้นประกอบด้วย Peptidoglycan สานกันเป็นร่างแห การสานกันเป็นร่างแหจะมีการเชื่อมระหว่างสาย Peptidoglycan ด้วยโปรตีนที่เรียกว่า Penicillin-binding proteins (PBPs) ใน *S. aureus* มี PBPs 4 ชนิด คือ PBP1, PBP2, PBP3 และ PBP4 ยาปฏิชีวนะกลุ่ม β -lactam จะเข้าจับกับปลาย D-alanyl-D-alanine พันธะส่วนปลายของ Peptide ซึ่งจะยับยั้งการ Transpeptidation ของ PBPs ทำให้เกิดการ Cross-linked ได้น้อยลง ทำให้ Cytoplasmic ที่อยู่ภายในเกิดการล้าไหลออกนอกเซลล์และเซลล์ตายได้ (Stapleton & Taylor, 2002)

ปี ค.ศ. 1979 ประเทศออสเตรเลียเริ่มพบ MRSA ที่แตกต่างจาก Classic MRSA ที่พบในปี ค.ศ. 1961 ซึ่งเชื่อนี้คือยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นนอกจากกลุ่ม β -lactam อีกด้วย ต่อมาก็มีรายงานจากส่วนต่าง ๆ ของโลกโดยเฉพาะทวีปยุโรป ทวีปออสเตรเลียและประเทศสหรัฐอเมริกา (Enright et al., 2002) MRSA เหล่านี้สามารถสร้างเอนไซม์ β -lactamase และมักจะดื้อยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycosides), เตตราไซคลิน (Tetracycline), คลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenicol), แมกโครไลด์ (Macrolides) และ ควิโนโลน (Quinolones) รุ่นเก่า (Tenover et al., 2001)

จะเห็นว่าในช่วงที่ผ่านมา MRSA กลายเป็นปัญหาที่สำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลทั้งในด้านการรักษา การดูแลผู้ป่วย และระบาดวิทยาทั่วโลก ทำให้มีการนำ Vancomycin มาใช้ในการรักษาและกลายเป็นยาหลักที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อ MRSA ในปี ค.ศ. 1997 Hiramatsu ได้รายงานผู้ป่วยติดเชื้อ MRSA ที่ไวต่อ Vancomycin น้อยลง (MIC 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) เป็นครั้งแรก เรียกชื่อนี้ว่า Vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA) หรือ Glycopeptide-intermediate *S. aureus* (GISA) ต่อมาจากรายงานผู้ป่วยติดเชื้อ VISA จากประเทศสหรัฐอเมริกา ประเทศในทวีปยุโรป และเอเชีย ทำให้มีปัญหาด้านการรักษามากขึ้นไปอีก (พรณทิพย์ ฉายากุล, 2543)

กลไกการดื้อยาของ MRSA (Stapleton & Taylor, 2002) มี 2 แบบด้วยกัน คือ

1. การสร้างเอนไซม์ β -lactamase เป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการทำลายยาเพนิซิลลิน (Penicillin) และยาที่มีวงแหวนแล็กแทม (lactam ring) เป็นองค์ประกอบทำให้เชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะนี้ได้

2. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์ โดยการทำให้ส่วนที่จับยา (Receptor site) ของยาบนผนังเซลล์เปลี่ยนจาก Penicillin-binding protein (PBP) เป็น Penicillin-binding protein ชนิด 2a ทำให้ความสามารถในการจับกับยา (Affinity) ในกลุ่มเพนิซิลลินลดลง ยาจึงไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียได้ เชื้อจึงคือยา

ชนิดของ MRSA (อิสยา จันทน์วิทย์นุชิต และวัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์, 2551) แบ่งได้เป็น 4 ชนิด คือ

1. True methicillin-resistant *S. aureus* (True MRSA) มีกลไกการดื้อยา คือ มีการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณผนังเซลล์เป็น PBP2a True MRSA มีค่า MIC ของยา Methicillin มากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และมีค่า MIC ของยา Oxacillin มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

2. Borderline-resistant *S. aureus* (BORSA) มีกลไกการดื้อยา คือ สร้างเอนไซม์ β -lactamase ในปริมาณที่สูงมากเกินกว่าปกติ BORSA มีค่า MIC ของยา Methicillin เท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และมีค่า MIC ของยา Oxacillin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

3. Modified-resistant *S. aureus* (MODSA) ที่ผนังเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเพิ่มจำนวนหรือปริมาณของ PBP ชนิดอื่นที่ไม่ใช่ PBP2a MODSA มีค่า MIC ของยา Methicillin และ Oxacillin อยู่ในช่วงเดียวกันกับ BORSA

4. Methicillin-aminoglycosides-resistant *S. aureus* (MARSA) เป็นเชื้อ *S. aureus* ที่สามารถผลิตเอนไซม์ Aminoglycoside-modifying ชนิดที่เรียกว่า Bifunctional enzyme โดยมีการสร้างเอนไซม์ ACC (6') และ APH (2'') ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงเป็น PBP2a ทำให้เชื้อกลุ่มนี้คือดื้อยา Methicillin และ ยากลุ่ม Aminoglycoside ได้

3. รายละเอียดเกี่ยวกับยาปฏิชีวนะ

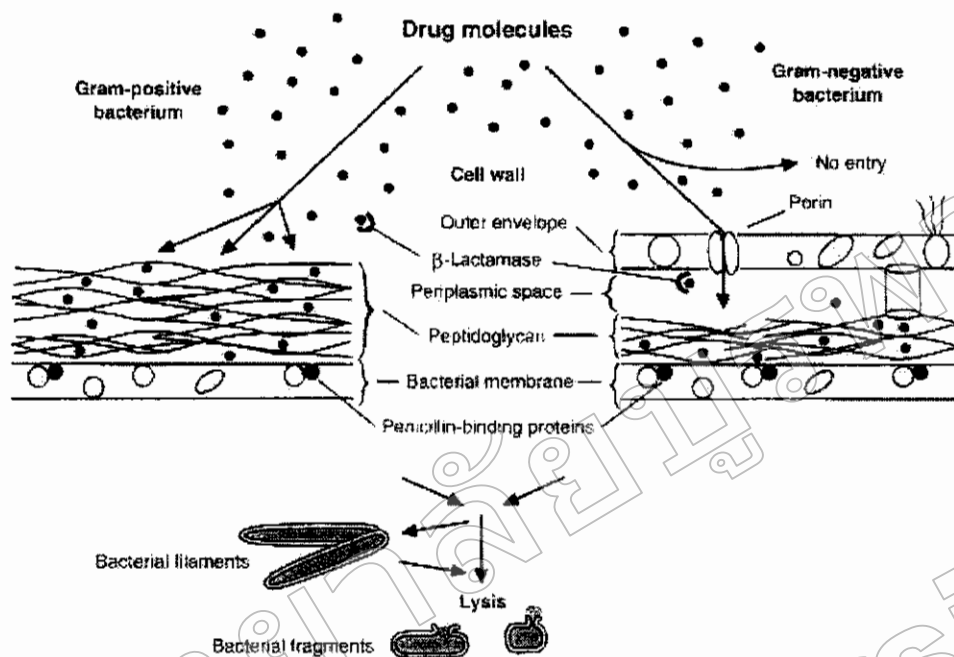
3.1 ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics)

ยาปฏิชีวนะมาจากคำว่า Antibiotic ในภาษาอังกฤษ หมายถึงสารต่อต้านการดำรงชีวิต หรือหมายถึงสารที่ผลิตตามธรรมชาติโดยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เรียกว่า จุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ๆ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญหรือทำลายชีวิตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งได้ (Bellis, n.d.) ในปี ค.ศ. 1928 Sir Alexander Fleming นักจุลชีววิทยาชาวสกอตแลนด์พบว่าในจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีของ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เลี้ยงและเปิดฝาทิ้งไว้ มีการเจริญของเชื้อรา *Penicillium notatum* ปนเปื้อนเข้ามาแต่ที่น่าสนใจคือ บริเวณรอบ ๆ การเจริญของเชื้อราไม่พบว่ามี

การเจริญของแบคทีเรียซึ่งเป็นการค้นพบที่สำคัญอย่างยิ่งและในปีต่อมาจึงมีการตีพิมพ์ผลงานวิจัยที่ได้ค้นพบนี้ ภายหลังจากการค้นพบของ Alexander Fleming ก็ยังไม่มีเมื่อนำยาเพนิซิลลินมาใช้ในการรักษาจนกระทั่งปี 1940s จึงมีการนำยาเพนิซิลลินมาใช้ ซึ่งเป็นผลมาจากการศึกษาค้นคว้า วิจัยและพัฒนาโดย Dr. Howard Florey และ Andrew J. Moyer (Bellis, n.d.; Lu & Haeberlin, n.d.) เป็นต้น ดังนั้นยาปฏิชีวนะหมายถึงยาที่มีฤทธิ์ทำลาย หรือยับยั้งการเจริญของจุลชีพ ได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย ริกเกตเซีย เชื้อรา เชื้อปรสิต และ โปรโตซัว ซึ่งมีทั้งสารที่ได้มาจากธรรมชาติที่ผลิตโดยจุลชีพ ได้แก่ เชื้อรา และแบคทีเรีย และสารสังเคราะห์ รวมทั้งสารที่เกิดจากการกึ่งสังเคราะห์ (Semisynthetic) ที่มีลักษณะคล้ายสารจากธรรมชาติด้วย ตัวอย่างเช่น ยากลุ่มเพนิซิลลิน ยากลุ่มเตตราไซคลิน ยากลุ่มแมกโครไลด์ ยากลุ่มควิโนโลนและกลุ่มยาฆ่าเชื้อรา เป็นต้น

ชนิดของยาปฏิชีวนะ สามารถแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ตามกลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of Action; เกษร เทพแบ่ง, 2547; Neu & Gootz, n.d.) ได้ดังนี้

1. ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (Inhibition of Cell Wall Synthesis) ยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์มีผลต่อการสร้างสาย Peptidoglycan ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นจึงไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ของมนุษย์เนื่องจากไม่มีชั้นผนังเซลล์นี้ ยกเว้นมีการแพ้ยา อาจจัดได้ว่ายาในกลุ่มนี้มีความปลอดภัยในการใช้รักษาสูง ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ ยากลุ่ม β -lactams, Fosfomycin, Vancomycin และ Bacitracin เป็นต้น ยาเหล่านี้จะยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียในขั้นตอนที่แตกต่างกัน แต่มีผลที่เหมือนกันคือ ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างขึ้นไม่สมบูรณ์ จึงไม่สามารถทนทานต่อความกดดันภายในเซลล์ที่สูงกว่าความกดดันของสภาพแวดล้อมภายนอกเซลล์มาก ๆ ได้ ส่งผลทำให้มีการแตกสลาย (Lysis) ของเซลล์ตามมา ยาที่ออกฤทธิ์โดยกลไกนี้จึงมีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียฆาต (Bactericidal) คือแสดงฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียได้ และสามารถออกฤทธิ์ได้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่กำลังมีการเจริญแบ่งตัวหรือการสร้างผนังเซลล์อยู่เท่านั้น



ภาพที่ 4 การยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Neu & Gootz, n.d.)

2. ขัดขวางการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Inhibition of Cell Membrane Function)

เยื่อหุ้มเซลล์มีหน้าที่ห่อหุ้มและกักเก็บสารสำคัญของเซลล์ให้คงอยู่ในเซลล์ และยังเป็นด่านสำหรับคัดกรองการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ เยื่อหุ้มเซลล์มีส่วนประกอบ 3 ชั้น คือ ชั้น Phospholipids เป็นชั้นที่อยู่ตรงกลางระหว่างชั้นของโปรตีนและมี Globular proteins ซึ่งมีหน้าที่เฉพาะหลายชนิดแทรกตัวอยู่ ดังนั้นเยื่อหุ้มเซลล์จึงเป็นส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียที่มีความสำคัญในการดำรงชีวิต ยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ยับยั้งหน้าที่หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์จึงสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียมีโครงสร้างที่คล้ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ยูคาริโอต (Eukaryotic) จึงทำให้ยาในกลุ่มนี้มีผลข้างเคียงสูงหากได้รับเข้าสู่ร่างกาย แต่เนื่องจากความแตกต่างบางประการในคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้มีผลต่อแบคทีเรียมากกว่ามนุษย์ ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์โดยกลไกนี้ที่ใช้ในปัจจุบันมีเฉพาะยาในกลุ่ม Polymyxins ยาในกลุ่มนี้จับกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย มีผลทำให้กลไกการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เสียไป ทำให้มีการสูญเสียสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (Macromolecules) และไอออนต่าง ๆ (Ions) ที่สำคัญของเซลล์ออกสู่ภายนอก ทำให้เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถมีชีวิตอยู่ต่อไปได้ (Bactericidal) ยาในกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์ได้ทุกขณะไม่ว่าเชื้อแบคทีเรียจะกำลังมีการเจริญหรือแบ่งตัวอยู่หรือไม่ก็ตาม

3. ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Inhibition of Protein Synthesis) กระบวนการสร้างโปรตีนตามรหัสใน RNA (ขั้นตอนของการ Translation) จะเกิดที่ไรโบโซม (Ribosome) ซึ่งจะมี mRNA เป็นตัวรับรหัสการสร้างโปรตีนมาจาก DNA จากนั้น tRNA จะนำ Amino acid แต่ละชนิดมาต่อเข้ากับสายโปรตีนที่กำลังสร้างขึ้น ดังนั้นการสร้างโปรตีนจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการดำรงชีวิตของเซลล์ การยับยั้งการสร้างโปรตีนจึงเป็นกลไกที่สำคัญในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยยาจะออกฤทธิ์ในขั้นตอนที่เกิดขึ้นที่ไรโบโซม เนื่องจากไรโบโซมของแบคทีเรียเป็นชนิด 70s ไรโบโซม (ประกอบด้วย 50s และ 30s Subunits) ซึ่งต่างจากเซลล์ยูคาริโอตที่มีไรโบโซมชนิด 80s ไรโบโซม (ประกอบด้วย 60s และ 40s Subunits) ทำให้ไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการสร้างโปรตีนของเซลล์ร่างกายมนุษย์ ยาที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยกลไกนี้จะยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียในขั้นตอนต่าง ๆ แตกต่างกันไป ได้แก่

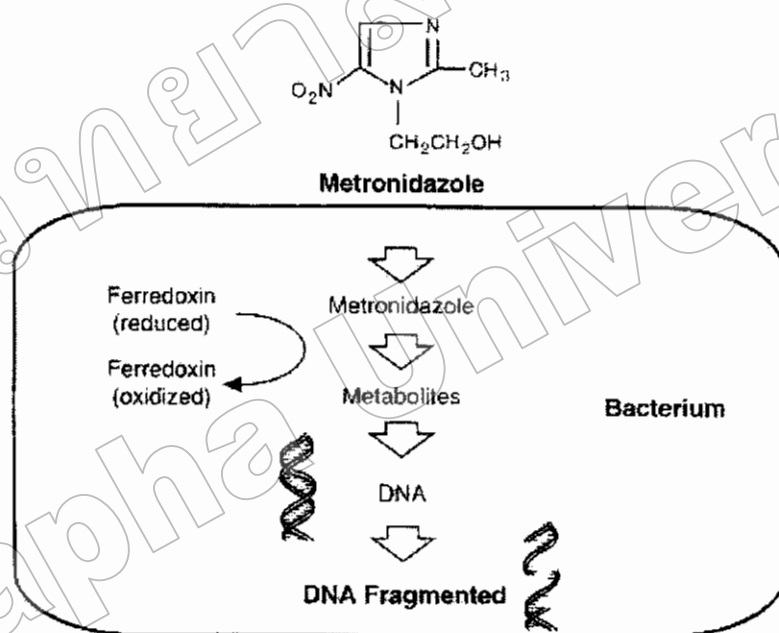
3.1 ยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ จะเข้าจับกับ 30s Subunits ของ 70s ไรโบโซมของแบคทีเรียโดยจะรบกวนการสร้างโปรตีนหลายวิธี เช่น ขัดขวางการเริ่มสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย ทำให้การถอดรหัสจาก mRNA ผิดพลาดส่งผลทำให้การสร้างโปรตีนผิดปกติ

3.2 ยากลุ่มแมกโครไลด์และลินโคไมซิน (Lincomycins) เข้าจับกับ 50s Subunits ของ 70s ไรโบโซม เกิดการขัดขวางการสร้างโปรตีนทำให้สายของ Peptide ไม่สามารถต่อกันยาวออกไปได้ มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เนื่องจากยาทั้งสองกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ในตำแหน่งเดียวกันทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เต็มประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงไม่ควรใช้ยาเหล่านี้ร่วมกัน

3.3 ยากลุ่มเตตราไซคลิน จับกับ 30s Subunits ของ 70s ไรโบโซม

3.4 ยากลุ่มคลอแรมเฟนิคอล เข้าจับกับ 50s Subunits ของ 70s ไรโบโซมมีผลในการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ Peptidyl transferase ทำให้ Amino acid ไม่สามารถจับกับสาย Peptide ที่กำลังสร้างอยู่ได้ แต่การจับของยาปฏิชีวนะไม่คงทนและมีฤทธิ์แค่เพียงยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยไม่มีผลต่อเซลล์สร้างเม็ดเลือดแดง

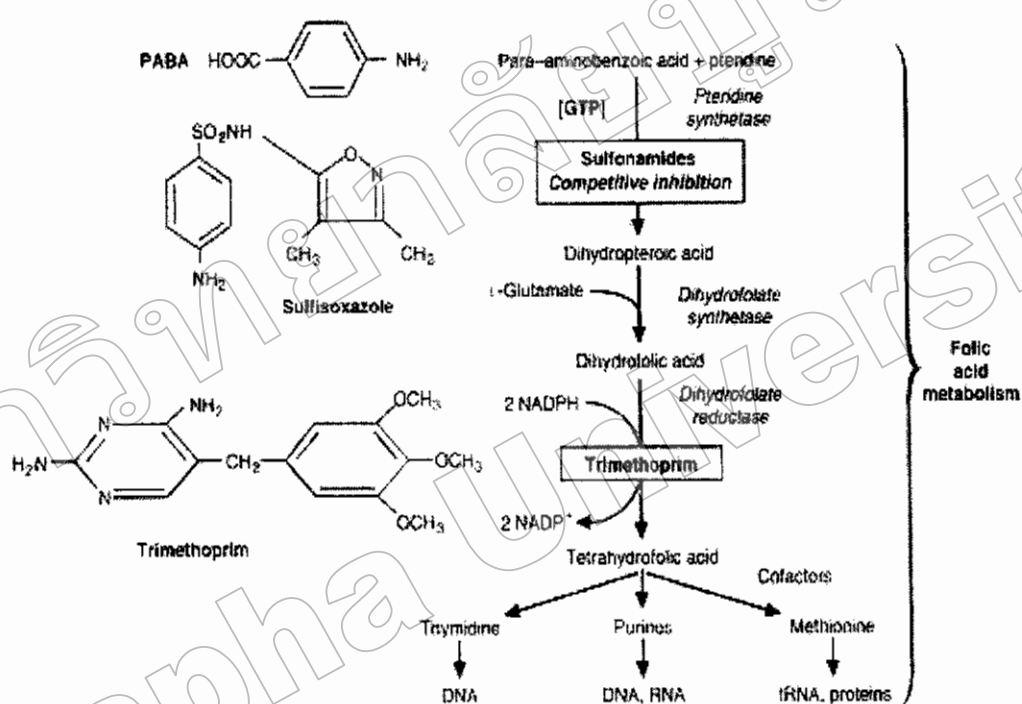
4. ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Inhibition of Nucleic Acid Synthesis) ยาที่สามารถยับยั้งการสร้าง DNA โดยการแทรกตัว (Intercalate) เข้าไปในสายเกลียวคู่ของ DNA มีผลทำให้โครงสร้างของ DNA บิดเบี้ยวผิดรูปไป จึงไม่สามารถเกิดกระบวนการ Replication และ Transcription ตามปกติได้ ยาที่มีฤทธิ์ตามกลไกนี้ได้แก่ Chloroquine, Actinomycin D และยาที่ยับยั้งการทำงานของ DNA โดยจับกับ DNA-dependent RNA polymerase ของแบคทีเรีย ทำให้ไม่สามารถสร้าง RNA ได้ ได้แก่ Rifampicin จะยับยั้งการสร้าง DNA ในขั้นตอนการทำงานของ DNA gyrase ยาในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีผลกระทบต่อกรดนิวคลีอิกในเซลล์ยูคาริโอตได้เช่นกัน จึงไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษากับมนุษย์ได้



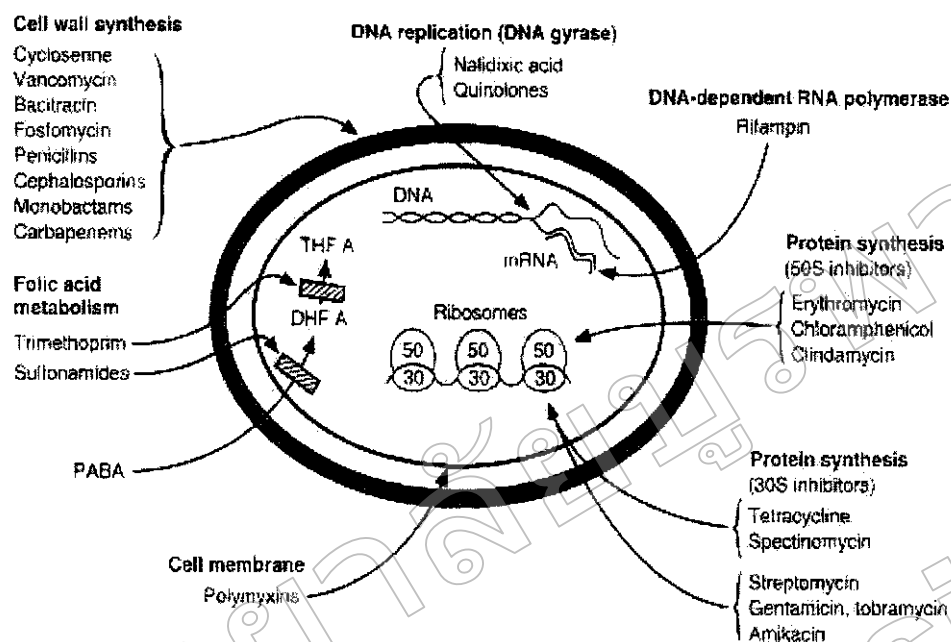
ภาพที่ 7 การยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ของเชื้อแบคทีเรีย (Neu & Gootz, n.d.)

5. ขัดขวางกระบวนการเมตาบอลิซึม (Inhibition of Metabolic Process) กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญของยาด้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้ คือ การมีโครงสร้างเลียนแบบปัจจัยที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ สารดังกล่าวจะสามารถเข้าแข่งขันเพื่อแทนปัจจัยภายในเซลล์ที่มีโครงสร้างคล้ายกันแต่ไม่สามารถทำหน้าที่ปกติของปัจจัยนั้นได้ จึงเกิดการยับยั้งการทำงานของปัจจัยนั้น เรียกสารที่มีคุณสมบัติดังกล่าวนี้ว่า Competitive inhibitor ยาด้านเชื้อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์โดยกลไกนี้ที่สำคัญ ได้แก่ ยากลุ่ม Sulfonamides มีโครงสร้างคล้ายกับ Para-aminobenzoic acid

(PABA) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดโฟลิก (Folic acid) ของแบคทีเรีย โดยยา Sulfonamides จะแย่งกับ PABA ทำให้ไม่สามารถสร้างกรดโฟลิกได้ ส่วนยา Trimethoprim จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dihydrofolic acid reductase ที่มีหน้าที่เปลี่ยน Dihydrofolic acid เป็น Tetrahydrofolic acid ยาในกลุ่มนี้โดยทั่วไปให้จะแสดงฤทธิ์เพียงยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แต่ฤทธิ์ของยา Sulfonamides และยา Trimethoprim จะเกิดขึ้นในขั้นตอนที่ต่อเนื่องในกระบวนการเดียวกัน จึงมีผลในการเสริมฤทธิ์กันเมื่อใช้ร่วมกัน



ภาพที่ 8 โครงสร้างของ Sulfonamide และ Trimethoprim ในการขัดขวางการสังเคราะห์กรดโฟลิก (Folic acid; Neu & Gootz, n.d.)



ภาพที่ 9 กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ (Neu & Gootz, n.d.)

3.2 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างยาปฏิชีวนะ (สุเทพ จารุรัตนศิริกุล, 2541; Neu & Gootz, n.d.)

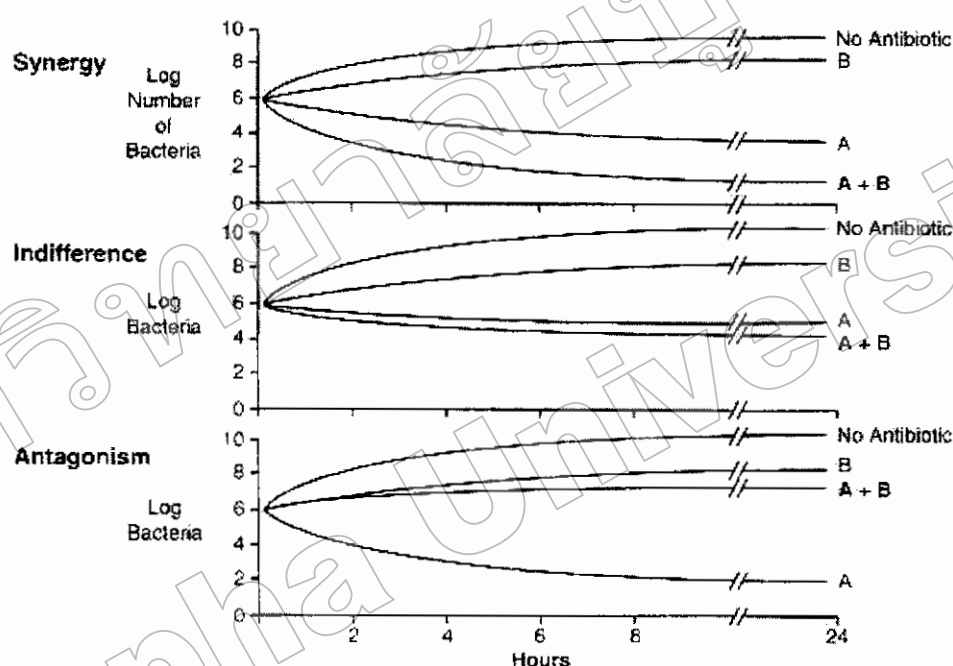
ปฏิสัมพันธ์ระหว่างยา (Drug interaction) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะชนิดหนึ่งด้วยยาปฏิชีวนะอีกชนิดหนึ่ง หรือด้วยสารอื่นที่ให้ร่วมด้วย เช่น แอลกอฮอล์ เป็นต้น ในการใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกันนั้น มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มความสามารถในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด ร่วมกันฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่เกิดขึ้นต่อเชื้อแบคทีเรียอาจจะอยู่ในลักษณะใดลักษณะหนึ่งดังต่อไปนี้

1. เสริมฤทธิ์กัน (Synergism) คือ เมื่อให้ยาชนิดหนึ่งร่วมกับยาอีกชนิดหนึ่งทำให้เชื้อแบคทีเรียมีความไวต่อยาชนิดนั้น ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งในการทดลองจะสามารถบอกได้ว่ายา 2 ชนิด ให้ผลเสริมฤทธิ์กันได้นั้น ต้องวิเคราะห์จากค่าของ MIC กล่าวคือ เมื่อค่า MIC ของยาที่ให้ร่วมกัน 2 ชนิด มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 25 ของค่า MIC ของยาแต่ละชนิดเมื่อใช้ยานั้นเพียงชนิดเดียว

2. ไม่แตกต่างกัน (Indifference) คือ ความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดเมื่อให้ร่วมกันไม่แตกต่างจากเมื่อให้ยาแต่ละชนิดเพียงชนิดเดียว และฤทธิ์ของยาที่เกิดขึ้นเมื่อให้ร่วมกันมีค่าเท่ากับผลรวมของฤทธิ์ของยาทั้ง 2 ชนิด ที่มีอยู่เดิม (Addition) ในการทดลองจะ

วิเคราะห์ได้ว่ายาทั้ง 2 ชนิดนั้นให้ผลไม่แตกต่างกัน ก็ต่อเมื่อค่า MIC ของยาทั้ง 2 ชนิด เมื่อให้ร่วมกันมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของค่า MIC ของยาแต่ละชนิดเมื่อใช้ยานั้นเพียงชนิดเดียว

3. ด้านฤทธิ์กัน (Antagonism) คือ เมื่อให้ยาชนิดหนึ่งเข้าไปแล้วไปด้านฤทธิ์ยาอีกชนิดหนึ่ง มีผลทำให้ความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาชนิดนั้นลดลง ดังนั้นในการทดลองจะสามารถบอกได้ว่ายา 2 ชนิด ด้านฤทธิ์กัน เมื่อค่า MIC ของยา 2 ชนิด เมื่อให้ร่วมกันมีค่ามากกว่าครึ่งหนึ่งของค่า MIC ของยาแต่ละชนิดเมื่อใช้ยาชนิดนั้นเพียงชนิดเดียว



ภาพที่ 10 การใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกัน (A และ B) แล้วเกิดการเสริมฤทธิ์กัน ไม่แตกต่างกัน และด้านฤทธิ์กัน (Neu & Gootz, n.d.)

การใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกันยังมีผลทำให้เชื้อแบคทีเรียที่เรื้อรังลดลง เช่น การรักษาผู้ที่ป่วยเป็นวัณโรคนั้นโดยปกติต้องใช้เวลาในการรักษานาน ดังนั้นจึงมีโอกาที่เชื้อจะดื้อยาได้เพิ่มมากขึ้น เมื่อใช้ยาปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียว แต่พบว่าเมื่อใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกันตั้งแต่ 2 ชนิด ขึ้นไปจะทำให้ผลการรักษาดีขึ้นและเชื้อจะดื้อยาได้ช้าลง เป็นต้น การลดพิษที่เกิดจากยาอีกชนิดหนึ่ง เช่น การใช้ยา Flucytosine ร่วมกับยา Amphotericin B ในการรักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจาก *Cryptococcal meningitis* ซึ่งจะช่วยลดการเกิดพิษที่ได้นี้เนื่องมาจากยา Amphotericin B อีกทั้งยังสามารถลดขนาดและระยะเวลาที่ใช้ในการรักษาลงได้ เป็นต้น หรือในกรณีผู้ป่วยอาการหนัก

มีการติดเชื้อรุนแรงอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ และไม่ทราบเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อ อาจต้องใช้ยาปฏิชีวนะมากกว่าหนึ่งชนิดเพื่อเพิ่มขอบเขตของการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะให้กว้างขึ้น และมักจะใช้ยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด เช่น การใช้ยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ร่วมกับยาในกลุ่มเพนิซิลลินซึ่งจะเพิ่มฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Pseudomonas* sp. ได้ด้วย

3.3 การพัฒนายาต้านจุลชีพชนิดใหม่ (สุรัชย์ อัญเชิญ, ม.ป.ป.)

ยาด้านจุลชีพชนิดใหม่ หมายถึง สารประกอบใหม่ รูปแบบยาใหม่ ตำรับยาใหม่ หรือยาเดิมที่มีข้อบ่งใช้ใหม่ และผ่านการพิสูจน์แล้วว่าใช้รักษา ป้องกัน หรือวินิจฉัยโรคที่ระบุได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย ยาด้านจุลชีพใหม่เหล่านี้ส่วนใหญ่เกิดจากการพัฒนายาใหม่ของบริษัทผู้ผลิตยาเอกชน โดยการพัฒนาใหม่นั้นเป็นกระบวนการที่ย่างยากซับซ้อน ใช้เวลาในการศึกษานาน มีค่าใช้จ่ายสูงในการวิจัยและพัฒนา และไม่สามารถรับรองผลสำเร็จได้แน่นอน ดังนั้นจากการศึกษาสารประกอบหลายชนิดที่นำมาทดสอบอาจจะมีเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคและสามารถพัฒนาต่อไปจนเป็นยาที่ใช้ในการรักษาได้ ดังนั้นโอกาสการพัฒนายาใหม่จนประสบความสำเร็จนั้นมีน้อยกว่าร้อยละ 1 ของสารประกอบที่นำมาศึกษาวิจัยทั้งหมด ซึ่งหมายความว่ายาด้านจุลชีพชนิดใหม่ที่ขึ้นทะเบียนได้หนึ่งชนิดจะต้องรองรับค่าใช้จ่ายของสารประกอบอื่นที่นำมาศึกษาแล้วประสบความสำเร็จแล้วอีกมากกว่าร้อยละ 99 อย่างไรก็ตามการพัฒนาต้านจุลชีพชนิดใหม่จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อผู้พัฒนาและบุคคลที่เกี่ยวข้องมีแรงกระตุ้นอย่างเพียงพอ เช่น การท้าทายต่อความสำเร็จ การช่วยเหลือสังคม และผลประโยชน์ตอบแทนจำนวนมหาศาล จากการประมาณการณพบว่าต้องใช้เวลาประมาณแปดปีครึ่งในการศึกษาและทดสอบยาด้านจุลชีพชนิดใหม่หนึ่งชนิดกว่าที่นำมาใช้ในการรักษาจริงได้ โดยที่ระยะเวลานี้รวมถึงการสังเคราะห์และการทดสอบเบื้องต้น การทดสอบกับสัตว์ทดลอง ตลอดจนการทดสอบขั้นต่อกับมนุษย์ การค้นพบยาด้านจุลชีพชนิดใหม่สามารถเกิดได้หลายวิธีดังต่อไปนี้

1. การสังเคราะห์โดยวิธีการทางเคมี ทำการศึกษาวิจัยโดยเลียนแบบจากฮอร์โมน สารสื่อต่าง ๆ ในร่างกาย และสารประกอบที่ทราบการออกฤทธิ์เป็นอย่างดี ซึ่งอาจได้ยาใหม่อย่างแท้จริงในการรักษาโรค เช่น ยาแก้แพ้ ยาด้านโรคจิต ยารักษาโรคความดันเลือด และยาด้านการอักเสบ ความสำเร็จของการพัฒนายาใหม่โดยวิธีนี้แสดงให้เห็นความสำคัญของการวิจัยทางวิทยาศาสตร์และการแพทย์พื้นฐาน เนื่องจากความรู้ว่าร่างกายทำงานตามปกติเช่นไรและเกิดผิดพลาดกลายเป็นโรคอย่างไร่อมทำให้การออกแบบยาใหม่อย่างมีประสิทธิภาพเกิดขึ้นได้

2. การดัดแปลงจากโครงสร้างของยาที่มีอยู่เดิม การพัฒนายาด้วยวิธีนี้มีโอกาสได้ยาหลายชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายเดิมหรือมีความแตกต่างจากเดิมเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามมีการ

นำเทคนิคการออกแบบโมเลกุลของยาด้วยคอมพิวเตอร์ จนสามารถนำโครงสร้างโมเลกุลของยามา คัดต่อเอาฤทธิ์บางประการออกและเพิ่มฤทธิ์ด้านที่มีประสิทธิภาพให้สูงขึ้น แล้วได้สารใหม่ที่มี ฤทธิ์ตามประสงค์ ตัวอย่างเช่น ยาต้านจุลชีพ ยาต้านเบาหวาน และยาขับปัสสาวะบางชนิด ซึ่งต่างก็ ถูกดัดแปลงมาจากยาชาล์ฟารุ่นแรกที่มีการสังเคราะห์มานานกว่า 50 ปี

3. การทดสอบเบื้องต้นแบบสุ่ม เมื่อมีการสังเคราะห์สารชนิดใหม่ ๆ ขึ้นมา หรือแยก สารประกอบที่ไม่เคยพบมาก่อนจากแหล่งธรรมชาติ จะต้องมีการทดสอบเบื้องต้นซึ่งมีการ ทดลองหลายขั้นตอนเพื่อค้นหาประสิทธิภาพที่ดีที่สุด ในปัจจุบันการทดสอบดังกล่าวมีค่าใช้จ่าย สูงและมีความซับซ้อนอย่างมาก

4. การค้นพบประโยชน์ด้านใหม่จากยาที่ใช้อยู่เดิม เนื่องจากการสังเกตหรือความบังเอิญ เช่น การใช้ยาแก้ปวดแอสไพรินยับยั้งการจับกลุ่มเกร็ดเลือดเพื่อป้องกันภาวะหลอดเลือดอุดตัน ซึ่ง การค้นพบในลักษณะนี้เกิดขึ้นบ่อยมาก

ขั้นตอนของกระบวนการพัฒนายาปฏิชีวนะชนิดใหม่นั้น อาจกล่าวได้ว่าไม่มีสูตรสำเร็จ ในการพัฒนายาชนิดใหม่ ในขณะที่นักวิจัยทำการวิจัยในแนวทางที่ตนเองสนใจและเห็นว่ามี หนทางที่จะประสบความสำเร็จสูง โดยตั้งเป้าหมายเพื่อใช้ในการรักษาโรคที่เฉพาะโรคใดโรค หนึ่ง บางครั้งการค้นพบใหม่ของนักวิจัยในมหาวิทยาลัย องค์กรภาครัฐ หรือศูนย์วิจัยต่าง ๆ อาจ เป็นแนวทางในการพัฒนายาชนิดใหม่แก่บริษัทเอกชนเพื่อนำไปวิจัยขยายผลต่อไปในการ นำมาใช้ในการรักษาจริงได้ กระบวนการพัฒนายาชนิดใหม่จะเริ่มต้นจากการสังเคราะห์หรือสกัด แยกสารประกอบชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์และมีประสิทธิภาพในการรักษา สารประกอบที่ได้นี้จะต้อง ผ่านการทดสอบกับสัตว์ การทดสอบกับมนุษย์ และการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยาว่า เป็นยาที่ใช้ได้ผลและปลอดภัยก่อนจะผลิตออกจำหน่าย ซึ่งในแต่ละปีจะมีสารประกอบใหม่หลาย สิบล้านชนิดและสูตรตำรับยาใหม่อีกมากมายผ่านการรับรองให้ใช้ในการรักษาโรคได้ ดังนั้นขั้นตอน ของกระบวนการพัฒนายาปฏิชีวนะชนิดใหม่สรุปได้ดังต่อไปนี้

1. แนวคิดหรือสมมติฐาน สำหรับการพัฒนายาชนิดใหม่จะเริ่มต้นจากความเข้าใจ พื้นฐานก่อนว่า กลไกการทำงานของร่างกายทั้งในสภาพปกติและเกิดโรค ซึ่งความรู้เหล่านี้ช่วย พัฒนาแนวความคิดในส่วนของยาจะป้องกัน รักษา หรือวินิจฉัยโรคได้อย่างไร และทำให้นักวิจัย เริ่มมองเห็นความสำเร็จของการพัฒนายาชนิดใหม่ ในบางครั้งนักวิจัยอาจประสบความสำเร็จใน การค้นพบสารที่ต้องการได้อย่างรวดเร็ว แต่โดยทั่วไปแล้วต้องใช้เวลาในการทดสอบคัดเลือจาก สารประกอบที่หลากหลายด้วยชุดการทดลองเบื้องต้นต่าง ๆ

2. การสังเคราะห์หรือสกัดแยกสารประกอบและการทดสอบเบื้องต้น ในธรรมชาติ มีสารประกอบจำนวนมากที่เป็นประโยชน์ ซึ่งสารเหล่านี้มีต้นกำเนิดจากสัตว์ พืช แบคทีเรียและ

เชื่อว่า อีกทั้งยังสามารถนำมาพัฒนาเป็นยาชนิดใหม่ หรือนำมาเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ด้วยวิธีการทางเคมี อย่างไรก็ตามยาชนิดใหม่ส่วนใหญ่ในปัจจุบันเกิดจากการสังเคราะห์ด้วย วิธีการทางเคมี โดยนำสารประกอบดังกล่าวมาทดสอบเพื่อหาฤทธิ์เบื้องต้นในหลอดทดลองซึ่งอาจ ทำให้มีการปรับปรุงและเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างทางเคมี เพื่อทำให้เป็นสารประกอบที่มี ประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาชนิดใหม่ต่อไป

3. การศึกษากับสัตว์ทดลอง การทดสอบกับสัตว์ทดลองเป็นขั้นตอนแรกที่จะพิสูจน์ว่า สารดังกล่าวมีโอกาสที่จะพัฒนาเพื่อนำไปใช้เป็นยาในการรักษาโรคได้หรือไม่ ซึ่งในขั้นนี้เป็นการ ทดสอบยืนยันว่ายานั้นปลอดภัยและสามารถนำไปทดสอบต่อในมนุษย์ได้หรือไม่ และถ้าสามารถ นำมาใช้ในการรักษาได้ได้ควรจะใช้เพื่อรักษากับโรคอะไร ในการศึกษาดังกล่าวมุ่งการทดสอบ ฤทธิ์และพิษของสารที่จะพัฒนาเป็นยา เมื่อทำการทดสอบในสัตว์ทดลองเป็นที่เรียบร้อยแล้วโดย ส่วนใหญ่จะใช้เวลาในการทดสอบหลายปี ผู้ที่ทำการพัฒนายาจะต้องรวบรวมข้อมูลที่ได้พร้อมทั้ง รายละเอียดโครงการทดสอบกับมนุษย์ และนำเสนอต่อคณะกรรมการอาหารและยาเพื่อขออนุมัติ ดำเนินการ เมื่อคณะกรรมการอาหารและยาพิจารณาเห็นสมควรจะอนุญาตให้ศึกษากับมนุษย์

4. การศึกษากับมนุษย์ สำหรับการทดสอบกับมนุษย์เป็นการทดสอบยาชนิดใหม่เป็น ขั้นตอนสุดท้ายก่อนการนำยาออกสู่ท้องตลาด ในการทดสอบระยะนี้จะให้ยาชนิดใหม่แก่มนุษย์ แล้วประเมินความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการรักษา ป้องกัน หรือวินิจฉัยโรค ผลของการ ทดสอบนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการยอมรับหรือปฏิเสธการขอขึ้นทะเบียนยาใหม่ ถึงแม้ว่า วัตถุประสงค์หลักของการทดสอบกับมนุษย์ คือ การแสวงหาข้อมูลความปลอดภัยและ ประสิทธิภาพของยาชนิดใหม่ แต่ก็ควรคำนึงความปลอดภัยของผู้เข้าร่วมการทดลองโดยที่ คณะกรรมการอาหารและยาจะเป็นหน่วยงานที่ควบคุมดูแลการออกแบบการวิจัยและการ ดำเนินการวิจัยกับมนุษย์ เพื่อให้แน่ใจว่าผู้ถูกทดลองนั้นไม่เสี่ยงต่ออันตรายโดยไม่จำเป็น

5. การขอขึ้นทะเบียนยาชนิดใหม่ การขอขึ้นทะเบียนยาชนิดใหม่เป็นกระบวนการที่ ผู้พัฒนายาจะต้องเสนออย่างเป็นทางการต่อคณะกรรมการอาหารและยา เพื่อพิจารณาอนุมัติให้ จำหน่ายยาชนิดใหม่นั้นในท้องตลาดได้ ในการนี้บริษัทผู้ผลิตยาจะต้องยื่นเอกสารข้อมูลการ ทดสอบยาชนิดใหม่ทั้งกับสัตว์ทดลองและกับมนุษย์ การวิเคราะห์ผล ข้อมูลเกี่ยวกับตัวยา และ กระบวนการผลิตยา ซึ่งเอกสารเหล่านี้จะต้องมีรายละเอียดของสารสนเทศ ข้อมูลดิบ และการ วิเคราะห์อย่างเพียงพอต่อการพิจารณาและการวินิจฉัยของคณะกรรมการอาหารและยา เพื่อ ตัดสินใจในประเด็นสำคัญต่อไปนี้

- ยานั้นปลอดภัยและมีประสิทธิภาพตามสรรพคุณข้อบ่งใช้ยาที่เสนอมารหรือไม่ และข้อดีของยานั้นมีน้ำหนักมากกว่าความเสี่ยงอันตรายหรือไม่

- ฉลากและเอกสารกำกับยาที่เสนอมานั้นเหมาะสมหรือไม่ และถ้าไม่เหมาะสม
ควรจะต้องเปลี่ยนแปลงอย่างไร

- กรรมวิธีการผลิตยานั้นตลอดจนการควบคุมและประกันคุณภาพยาดีเพียงพอ
ต่อการรักษาคุณสมบัติ ความแรง คุณภาพ และความบริสุทธิ์ของยาหรือไม่

4. รายละเอียดเกี่ยวกับการทดสอบ

การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะในการต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นกระบวนการที่สำคัญ
อย่างยิ่งสำหรับการประเมินความสามารถของยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อ
แบคทีเรียที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับประกอบการตัดสินใจในการเลือกชนิดและ
ระดับของยาด้านเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับการรักษาผู้ป่วย อย่างไรก็ตามการทดสอบความ
ไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นการทดสอบในห้องปฏิบัติการ การแปลผลการทดสอบความไวต่อยา
ปฏิชีวนะอ้างอิงกับค่ามาตรฐานที่ถูกกำหนดโดยหน่วยงานสากล ที่นิยมใช้คือมาตรฐานของ
Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) มีชื่อเดิมว่า The National Committee for
Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ซึ่งเป็นหน่วยงานสากลของประเทศสหรัฐอเมริกา
วิธีการทดสอบและค่ามาตรฐานในการแปลผลมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรียและ
ชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบ โดยการทดสอบต้องทำด้วยวิธีมาตรฐานตามที่กำหนดไว้
เพื่อสามารถเปรียบเทียบผลการทดสอบกับค่าที่อ้างอิงได้ วิธีที่ใช้ในการทดสอบความไวต่อยา
ปฏิชีวนะมีหลายวิธีและในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้วิธีมาตรฐาน ดังนี้

4.1 Disk diffusion method (Barry & Thornsberry, 1991; Mahon & Manuselis, 2000)

Disk diffusion method เป็นวิธีการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้าน
จุลินทรีย์ โดยวัดจากผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบต่อสารต้านจุลินทรีย์ที่มีการซึมผ่าน
ไปในเนื้อวุ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ สารต้านจุลินทรีย์จะถูกบรรจุอยู่ในแผ่นดิสก์ที่ผ่านการอบจนแห้ง
และปราศจากเชื้อ วิธีการทดสอบทำโดยการป้ายเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบให้ทั่วผิวหน้า
อาหารแล้วจึงวางแผ่นดิสก์ยา แผ่นดิสก์ที่แห้งจะดูดซึมน้ำจากอาหาร สารต้านจุลินทรีย์ที่บรรจุใน
แผ่นดิสก์จะละลายและแพร่กระจายไปยังเนื้อวุ้นของอาหาร ทำให้สารต้านจุลินทรีย์มีความเข้มข้น
แตกต่างกันโดยลดลงตามระยะทางที่ห่างจากแผ่นดิสก์ บริเวณใดที่ความเข้มข้นของสารต้าน
จุลินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่บริเวณ
นั้น เรียกบริเวณนี้ว่า บริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) บริเวณใดที่ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์
ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้หรือสารแพร่ไปไม่ถึงก็จะพบการเจริญของเชื้อ
แบคทีเรียตามปกติ หากเชื้อแบคทีเรียมีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์มากขนาดของบริเวณยับยั้งก็

จะมากขึ้นด้วย วิธีการนี้เป็นวิธีการทดสอบมาตรฐานขั้นต้นที่เหมาะสมต่อการทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคที่เจริญได้เร็ว เช่น กลุ่ม *Enterobacteriaceae* และ *S. aureus* แต่ไม่เหมาะสมสำหรับทดสอบกับแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญที่ไม่แน่นอน

ขนาดของบริเวณยับยั้งจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่ของสารไปยังเนื้ออุ่นอาหาร สารต่างชนิดกันอัตราการแพร่จะแตกต่างกัน ดังนั้นขนาดของบริเวณยับยั้งของสารชนิดหนึ่งจึงไม่สามารถเปรียบเทียบกับสารชนิดอื่น ๆ ได้ อย่างไรก็ตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งสามารถใช้ในการประมาณค่า Minimal inhibitory concentration, MIC ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยการเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แล้วนำสารแต่ละความเข้มข้นไปทดสอบ เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

อาหารที่ใช้ในการทดสอบนี้ คือ Mueller-Hinton Agar ซึ่งเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเจริญได้ดี เมื่อ pH ของอาหารอยู่ในช่วง 7.2 - 7.4 ที่อุณหภูมิห้อง ควรเทอาหารให้มีความหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร (ประมาณ 20 มิลลิลิตร) เก็บที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส หากต้องการเก็บไว้ให้นานกว่า 7 วัน ควรใส่ถุงพลาสติกป้องกันการระเหยของน้ำจากผิวหน้าอาหาร ก่อนใช้ควรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 - 20 นาที เพื่อให้ผิวหน้าอาหารแห้งไม่มีหยดน้ำเกาะ

สำหรับแผ่นดิสก์ควรเก็บที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส หรือแช่แข็งที่อุณหภูมิ -14 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ควรนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 - 2 ชั่วโมง เมื่อไม่ต้องการใช้ควรปิดผนึกแล้วเก็บไว้ในตู้เย็นเสมอ

วิธีการทดสอบทำโดยการใส่ลูปหรือเข็มเขี่ยตะโกลนเดียวของเชื้อ 4 - 5 โคลนีสไ่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เหมาะสมประมาณ 4 - 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ประมาณ 4 - 6 ชั่วโมง ปรับเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับ Standard Mcfarland No.0.5 ซึ่งประกอบด้วย 0.048 M BaCl₂ 0.5 มิลลิลิตร และ 0.36 N H₂SO₄ 9.95 มิลลิลิตร Suspension เชื้อที่ปรับปริมาณเชื้อแล้วนี้ไม่ควรทิ้งไว้เกิน 15 - 20 นาที ก่อนจะนำไปถาลงจานเพาะเชื้อ โดยใช้ไม้ปั่นสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดเชื้อที่ปรับปริมาณแล้ว บิดสำลีกับข้างหลอดพอหมาด ๆ ป้ายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อในลักษณะ 3 ทิศทาง ปล่อยให้แห้งประมาณ 3 - 5 นาที แต่ไม่เกิน 15 นาที จากนั้นใช้ปากคีบหยิบแผ่นดิสก์วางลงบนผิวหน้าอาหาร แผ่นดิสก์ควรวางห่างจากกันและห่างจากขอบจานเพาะเชื้อไม่น้อยกว่า 15 มิลลิเมตร หรือห่างพอที่จะไม่เกิดการซ้อนทับกันของบริเวณยับยั้ง นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และไม่ควรให้

คาร์บอนไดออกไซด์ เพราะอาจจะทำให้ pH บริเวณผิวหนังอาหารเปลี่ยนไปซึ่งอาจจะมีผลต่อการทำงานของสารต้านจุลินทรีย์ได้

การอ่านผลสามารถอ่านได้ภายหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง จากด้านหลังของจานเพาะเชื้อ และควรสังเกตว่าไม่มีโคโลนีขนาดเล็ก หรือโคโลนีลักษณะใสเจริญอยู่ในบริเวณยับยั้ง ขนาดของบริเวณยับยั้งนี้สามารถใช้ประกอบการพิจารณาว่า เชื้อที่ทดสอบมีความไวต่อสารหรือต้านทานสารหรือมีความไวอยู่ในระดับกลาง โดยนำไปเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐาน

การทดสอบโดยวิธีนี้ไม่ควรใช้ทดสอบกับแบคทีเรียที่เจริญช้า แบคทีเรียในกลุ่มแอนแอโรบ นอกจากนี้วิธีการนี้อาจเกิดการผิดพลาดได้เนื่องจากหลายสาเหตุ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ไม่ถูกต้อง อาหารหมดอายุ หรือไม่มีคุณภาพ การเตรียมแผ่นดิสก์และการเก็บรักษาแผ่นดิสก์ไม่ถูกต้อง การเตรียมสารต้านจุลินทรีย์ Suspension เชื้อที่อาจจะขุ่นมากหรือน้อยกว่าค่ามาตรฐาน ปริมาณเชื้อที่ป้ายลงบนผิวหนังอาหาร ไม่สม่ำเสมอ ความล่าช้าในระหว่างการวางแผ่นดิสก์ หรือการนำไปบ่มเชื้อ การอ่านผลก่อนเวลา 16 - 18 ชั่วโมง การอ่านผลและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง เป็นต้น (Barry et al., 1985)

4.2 Double disk diffusion test (D – test; Pakistan antimicrobial resistance network, 2008; ดัดแปลงจากการทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBLs; NCCLS, 2004)

Double disk diffusion test หรือ D – test เป็นวิธีที่ใช้ในการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียทดสอบต่อยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด เพื่อเพิ่มความสามารถในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ซึ่งขั้นตอนในการทดสอบเหมือนกันกับวิธี Disk diffusion แต่ในขั้นตอนของการวางดิสก์ทดสอบนั้น จะวางดิสก์ของสารที่ต้องการทดสอบไว้ตรงกลางแล้วจึงวางดิสก์ของยาปฏิชีวนะที่ต้องการทดสอบไว้รอบ ๆ ซึ่งการแปลผลการทดลองมี 3 แบบ ด้วยกันคือ 1) ถ้าบริเวณยับยั้งของสารที่นำมาทดสอบมีขนาดกว้างขึ้นในด้านที่ใกล้กับกับยาปฏิชีวนะ หรือในทางกลับกันถ้าบริเวณยับยั้งของยาปฏิชีวนะมีขนาดกว้างขึ้นในด้านที่ใกล้กับกับสารที่นำมาทดสอบ นั่นก็แสดงว่ามีการเสริมฤทธิ์กัน (Synergism) ระหว่างสารกับยาปฏิชีวนะ 2) บริเวณยับยั้งทั้งของสารและยาปฏิชีวนะไม่มีการเปลี่ยนแปลง แสดงว่าไม่แตกต่างกัน (Indifference) ระหว่างสารกับยาปฏิชีวนะ และ 3) บริเวณยับยั้งของทั้งสารและยาปฏิชีวนะในด้านที่ใกล้กันจะแคบลง ทำให้เห็นลักษณะของบริเวณยับยั้งมีรูปร่างคล้ายอักษร D ในภาษาอังกฤษ แสดงว่ามีการต้านฤทธิ์กัน (Antagonism) ระหว่างสารกับยาปฏิชีวนะ

4.3 Agar dilution (Collins et al., 2004)

การเตรียมอาหารแข็งทดสอบ โดยนำสารต้านจุลินทรีย์ที่เป็น Stock solution เจือจางด้วยน้ำกลั่นหรือตัวเจือจางที่เหมาะสม จนได้ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์เป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ แล้วจึงใส่ในอาหารแข็งซึ่งหลอมไว้ (45 - 50 องศาเซลเซียส) โดยใช้สารต้านจุลินทรีย์ 1 ส่วนต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 9 ส่วน หลังจากนั้นผสมสารต้านจุลินทรีย์ให้เข้ากับอาหารเหลวที่หลอมแล้วเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในกรณีที่ใช้ Dimethyl formamide, Dimethyl sulfoxide หรือตัวทำละลายอื่นที่อาจมีฤทธิ์ด้านเชื้อด้วย ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ควรลดเป็น 0.2 มิลลิลิตร ในอาหารแข็ง 20 มิลลิลิตร (สารต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ก่อนผสมจึงควรมีความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ของความเข้มข้นที่จะทดสอบ) ถ้าต้องเติมสิ่งเสริม เช่น เลือด ฯลฯ ให้เติมหลังใส่สารต้านจุลินทรีย์แล้วทันที ส่วนจานอาหารควบคุม (Control plate) จะเติมเฉพาะตัวเจือจางเท่านั้น แล้วจึงตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง จานอาหารแข็งเหล่านี้โดยทั่วไปหากเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทแล้วสามารถเก็บใส่ตู้เย็นได้อย่างน้อย 1 สัปดาห์ (จานอาหารแข็งที่เก็บในลักษณะแบบนี้หากพบว่ามีความชื้นมากก่อนใช้จะต้องผึ่งในตู้ 37 องศาเซลเซียส ให้หายเปียกชื้น) การเตรียมปริมาณของเชื้อแบคทีเรียมักจะใช้วิธีเทียบความขุ่นกับ Standard McFarland No. 0.5 โดยมีวิธีการเตรียมเหมือนในการทดสอบด้วยวิธี Broth dilution

ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นเทียบเท่า MIC จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ และแบคทีเรียชนิดนั้นต้องมีความไวต่อยาที่ความเข้มข้นเท่านี้ แต่แพทย์ผู้ให้การรักษามักจะใช้ค่าประมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ประมาณ 4 เท่าของค่า MIC ที่ได้จากห้องปฏิบัติการ ซึ่งตามหลักการจริง ๆ แล้วไม่มีความจำเป็นเลย แต่พวกเขาได้กล่าวว่า ระดับของสารต้านจุลินทรีย์ที่ได้จากน้ำปัสสาวะ น้ำไขสันหลัง ของเหลวจากร่างกายส่วนอื่น ๆ หรือจากหนอง มีความแตกต่างกัน ซึ่งระดับความแตกต่างกันนี้ต้องนำมาพิจารณาในการให้สารต้านจุลินทรีย์เพื่อการรักษาด้วย ถ้าระดับความเข้มข้นที่ MIC อยู่ในช่วงที่เป็นอันตรายต่อผู้ป่วย (โฮสต์) ที่จะได้รับการรักษา ถือว่าจุลินทรีย์ชนิดนั้นคือหรือ Resistant ต่อสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าว ดังนั้นภาวะที่แบคทีเรียมีความไว (Susceptibility) หรือคือต่อสารต้านจุลินทรีย์ (Resistant) เป็นผลจากการต่อสู้ระหว่างจุลินทรีย์ สารต้านจุลินทรีย์และบริเวณที่มีการติดเชื้อนั้น ๆ ดังนั้นจึงควรมีค่าความเข้มข้นสูงสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถมีได้ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยที่เป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการรักษา ซึ่งเรียกความเข้มข้นระดับนี้ว่าเป็น Breakpoint จะกำหนดเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ค่า MIC วัดถึงความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ด้วยสารต้านจุลินทรีย์ ดังนั้นถ้าเอาสารต้านจุลินทรีย์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวจุลินทรีย์นั้นจะ

สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้อีก สารต้านจุลินทรีย์เหล่านี้ถูกเรียกว่าเป็น Bacteriostatic หรือยับยั้งการเจริญนั่นเอง แต่ถ้าต้องการวัดความสามารถของสารต้านจุลินทรีย์ชนิดนั้นว่ามีคุณสมบัติเป็น Bactericidal activity หรือไม่ ทำได้ภายหลังการหาค่า MIC แล้ว ซึ่งนิยมทำจาก Broth dilution test สามารถนำมาหาค่า MLC ได้ โดยการแยกเชื้อจากอาหารเหลวที่ไม่มีเชื้อขึ้นตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป (อาจใช้ขนาดของลูปที่แตะของเหลวได้ 0.01 ค่อมิลลิลิตร) จีกลงบน Blood agar plate เพื่อให้เปรียบเทียบได้ชัดเจนขึ้น ควรเพาะจากหลอด Control ที่ไม่มียาอยู่ด้วย จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง แล้วดูการเจริญของเชื้อเพื่ออ่านค่า MIC (MBC หรือ MFC) โดยที่ความเข้มข้นดังกล่าวจะต้องไม่มีเชื้อขึ้น หรือเกือบ ไม่มีเชื้อขึ้น (ร้อยละ 99.9 ของเชื้อถูกฆ่า) เช่น ถ้าขนาดเชื้อเริ่มต้นมี 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นที่ถือว่าเป็น MLC นั้น จะต้องไม่พบเชื้อขึ้นจากการแยกหรือมีเชื้อขึ้นไม่เกิน 1,000 Colony forming unit (CFU) ต่อ มิลลิลิตร การทำงานในห้องปฏิบัติการบางครั้งจะนับจำนวน โคโลนีที่เจริญเปรียบเทียบกับ CFU ต่อ มิลลิลิตร กับ CFU ต่อ มิลลิลิตร ที่ได้ในครั้งแรกโดยถือความเข้มข้นของหลอดที่มีจำนวนโคโลนี เจริญน้อยกว่าร้อยละ 0.1 เป็นค่า MBC

4.4 Broth dilution (Sahm & Washington, 1991; Mahon & Menuselis, 2000)

Broth dilution วิธีการทดสอบนี้เป็นวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ โดยใช้หลักการเจือจางสารต้านจุลินทรีย์แบบ 2-fold dilution ในอาหารทดสอบแล้วหาค่า MIC วิธีการนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามปริมาณอาหารที่ใช้ทดสอบ คือ Microdilution และ Macrodilution โดยวิธี Microdilution จะทำการทดสอบในหลุมขนาดเล็กของถาดพลาสติก (Microtiter plate) ใช้ปริมาณอาหารที่ผสมสารต้านจุลินทรีย์ 0.05 มิลลิลิตร ส่วน Macrodilution จะใช้ปริมาณอาหารที่ผสมสารต้านจุลินทรีย์ 1 - 2 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง อาหารที่ใช้สำหรับวิธีการทดสอบนี้ คือ Mueller-Hinton Broth ซึ่งเหมาะสำหรับการเพาะเชื้อกลุ่ม Facultative anaerobes อาจมีการเติม Mg^{2+} และ Ca^{2+} เพื่อส่งเสริมการเจริญ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1 ลิตร จะประกอบด้วย Ca^{2+} 30 มิลลิกรัม และ Mg^{2+} 25 มิลลิกรัม

สำหรับเชื้อที่ต้องการทดสอบจะปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ Standard Mcfarland No.0.5 แล้วจึงเจือจางเชื้อที่ปรับได้ในอาหารเหลวในอัตราส่วน 1 : 200 เติมน้ำเชื้อปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร ลงในอาหารแต่ละหลอดหรือ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารแต่ละหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 16-24 ชั่วโมง ควรหลีกเลี่ยงการบ่มในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ยกเว้นเมื่อจำเป็นต่อการเจริญของเชื้อ

การอ่านผลจะพิจารณาจากความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้สมบูรณ์ เป็นค่า MIC หากพบการเจริญของเชื้อแม้เพียงเล็กน้อยให้ถือว่าความเข้มข้น ๓ ระดับนั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

4.5 การเหนี่ยวนำ (Induction: ดัดแปลงจาก Chloramphenicol acetyltransferase (CAT) assays, Lai & Kirsch, 1996)

เป็นกระบวนการที่ใช้สารประกอบที่ต้องการทดสอบและมีความเข้มข้นต่ำ ๆ เข้าไปเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียทดสอบมีการแสดงออกที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม โดยสารประกอบอาจเข้าไปเหนี่ยวนำแล้วทำให้แบคทีเรียทดสอบมีการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนไป เช่น การศึกษา Oxidative stress ของแบคทีเรียทดสอบที่ควบคุมโดยยีน *oxyR* ซึ่งเป็นยีนที่เป็นรหัสของโปรตีน *oxyR* โปรตีนชนิดนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณจากสาร Peroxide และเป็นตัวควบคุมการถอดรหัสของยีนที่เกี่ยวข้องในการตอบสนองต่อ Peroxide stress โดยปกติแบคทีเรียมีกลไกในการป้องกันตัวเองจาก Reactive oxygen species (ROS) อยู่หลายกลไก การที่แบคทีเรียจะมีชีวิตอยู่ได้นั้น ROS จะต้องถูกทำลายอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงมีการศึกษาการเหนี่ยวนำแบคทีเรียทดสอบด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ก่อนแล้วจึงนำไปทดสอบบนอาหารที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นที่สูงขึ้น เพื่อศึกษาผลการทดสอบความไวของแบคทีเรียทดสอบที่เปลี่ยนแปลงไป (Nakjarung, 2003) เป็นต้น

5. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

Colanceska-Ragenovic และคณะ (2001) ทำการทดสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสังเคราะห์ 4-Allyl/amino-5-aryl-1,2,4-triazoles ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกต่อ *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* และ *Candida albicans* ด้วยวิธี Filter paper disk พบว่าสารสังเคราะห์ 4a, 5a และ 5d ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้งหมดได้ แต่สาร 4-Amino-5-(4-hydroxyphenyl)-1,2,4-triazole (5f) สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ดีที่สุด (มีบริเวณยับยั้งการเจริญ 28 มิลลิเมตร) เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียทดสอบทั้งหมด

Khanum และคณะ (2005) ทำการสังเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของ Triazolothiadiazine คือ 4a-e, 5a-e และ 6a-e ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก แล้วนำมาทดสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่าสารสังเคราะห์ทั้งหมดแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญได้สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับยา Chloramphenicol ต่อ *E. coli*, *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus subtilis* สารสังเคราะห์ 5e แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้น้อยที่สุดเมื่อ

เปรียบเทียบกับสารสังเคราะห์อื่น ๆ สารสังเคราะห์ 4a, 5b, 6c และ 5e แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. solanacearum* ได้น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสังเคราะห์อื่น ๆ นอกจากนี้ในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* พบว่าสารสังเคราะห์ 4e, 5e, 4d และ 5c แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญได้น้อยที่สุด จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าสารสังเคราะห์ทุกชนิดแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้งหมดได้สูงกว่ายา Chloramphenicol ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการอ้างอิง ยกเว้นในกรณีที่สารสังเคราะห์มีหมู่ Methyl และ Methoxy ใน Ring A และ B ตามลำดับ จะแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้งหมดได้ต่ำกว่ายา Chloramphenicol และกรณีของสาร 5e ซึ่งมีหมู่ Methoxy 2 หมู่ ใน Ring A และ B ซึ่งจะแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบทั้งหมด ยกเว้น *P. fluorescens* ได้ต่ำกว่ายา Chloramphenicol

Srinivas และคณะ (2005) ได้ทำการสังเคราะห์ 2,4,6-Tri substituted s-triazines 1-13 ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก และนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกับแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* MTCC 441, *Bacillus sphaericus* MTCC 11 และ *Staphylococcus aureus* MTCC 96 และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Chromobacterium violaceum* MTCC 2656, *Klebsiella aerogenes* MTCC39 และ *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 741 ด้วยวิธี Broth dilution เมื่อเปรียบเทียบกับยาเพนิซิลลินและยา Streptomycin พบว่าสารสังเคราะห์ 2,4,6-Tri substituted s-triazines 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 และ 13 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับยาเพนิซิลลินและยา Streptomycin

Alam (2004) ทำการศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 2-Phenyl-chromen-4-one (Flavone ring) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Flavonoids แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sarcina lutea* และ *Bacillus subtilis*) และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของพืช 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* และ *Colletotrichum gloeosporioides* โดยใช้ Filter paper disk diffusion method และ Poisoned food technique พบว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียนั้น สารประกอบ 6 ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อดิสก์ และสารประกอบ 7 ให้ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ 3 สายพันธุ์ (ยกเว้น *S. lutea*) ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราพบว่า ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อดิสก์ สารประกอบ 4, 5, 6 และ 7 สามารถให้ผลการยับยั้ง การเจริญของ *Penicillium* sp. ได้ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อดิสก์ สารประกอบ 4 และ 6 ก็สามารถใช้ผลการยับยั้งการเจริญของ *Penicillium* sp. ได้เช่นกัน และสารประกอบ 5 และ 7 ที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อดิสก์ นั้นสามารถให้ผลการยับยั้งการเจริญของ *C. gloeosporioides* ได้

El-Sayed (2006) ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์ การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและฤทธิ์เบื้องต้นของสารสังเคราะห์ที่เป็นอนุพันธ์ของ 1, 2, 4-Triazole ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้ Sodium 1-(4-amino-5-mercapto-4H-[1, 2, 4]triazol-3-yl) และ Heptadecane-1-sulfonate ซึ่งเป็นสารตั้งต้นใหม่ในการสังเคราะห์ Heterocycles การนำสารที่สังเคราะห์ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในหลอดทดลองโดยใช้ Hole plate และ Filter paper disk method กับแบคทีเรียก่อโรค เช่น แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger* โดยละลายสารทดสอบใน 10% Acetone (v/v) ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 125, 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดสอบพบว่าสารสังเคราะห์ 2, 6a-c, 9, 10, 12 และ 13 ให้ผลการทดสอบต่อแบคทีเรียก่อโรคในระดับสูง ในขณะที่สารสังเคราะห์ 3, 4a, 4b, 7a-c, 8 และ 11 ให้ผลการทดสอบปานกลางต่อแบคทีเรียทดสอบและเชื้อรา เมื่อเทียบกับมาตรฐาน

Baluja และคณะ (2007) ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 4-Aryltriazoles ชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก และมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ดังนี้ *Bacillus cereus*, *Pseudomonas testosteroni*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus flavus* และ *Citrobacter freundii* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสังเคราะห์ HAS-D2, D4, D6, D7, D8 และ D9 สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ซึ่ง HAS-D6 มี 2,4-Dimethylphenyl group ส่วนสารสังเคราะห์ HAS-D6, D2, D10 และ D1 สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. testosteroni* โดยที่ HAS-D10 และ D1 มี *o*-Methoxyphenyl และ *p*-Methylphenyl group ตามลำดับ และสารสังเคราะห์ HAS-D6 ยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *K. pneumoniae* ได้อีกด้วย ส่วน HAS-D1, D6 และ D7 ก็สามารถยับยั้งการเจริญของ *M. flavus* และสารสังเคราะห์ HAS-D6 และ HAS-D7 สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. freundii* ได้

Hadj-esfandiari และคณะ (2007) สังเคราะห์สารชุดใหม่ของ (Z)-2-(1-Methyl-5-nitroimidazole-2-ylmethylene)-3(2H)-benzofuranones (11a-p) และ (Z)-2-(1-Methyl-4-nitroimidazole-5-ylmethylene)-3(2H)-benzofuranones (12a-m) ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและนำมาทดสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย กับแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ สังเกตได้ว่าเกือบทั้งหมดของสารสังเคราะห์ชุด 5-Nitroimidazole (11a-p) นั้น สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus*, *Streptococcus epidermidis*, MRSA และ *Bacillus subtilis* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Klebsiella pneumoniae* ได้ ส่วนสารสังเคราะห์ชุด 4-Nitroimidazole (12a-m) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้

Imran และคณะ (2007) สังเคราะห์ Ciprofloxacin-imines ชนิดใหม่จากยา Ciprofloxacin และ *p*-Substituted anilines แล้วนำมาทดสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกับแบคทีเรียทั่วไป เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhae* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Filter paper disk พบว่าสารสังเคราะห์ Ciprofloxacin-imines ชนิดใหม่ $[L^1, L^2, Cu(L^1)_2, Co(L^1)_2, Cu(L^2)_2, Co(L^2)_2, Ni(L^1)_2, Ni(L^2)_2, Zn(L^1)_2$ และ $Zn(L^2)_2]$ สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *B. subtilis* และ *S. typhae* ได้มากกว่ายา Ciprofloxacin สำหรับ *E. coli* นั้น ยา Ciprofloxacin สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้น

Kadi และคณะ (2007) สังเคราะห์ 2-(1-Adamantyl)-5-substituted-1, 3, 4-oxadiazoles และ 2-(1-Adamantylamino)-5-substituted-1, 3, 4-thiadiazoles ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและนำมาทดสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก, แบคทีเรียแกรมลบและเชื้อรา พบว่าสารสังเคราะห์ทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้ดีหรือดีพอประมาณ สารสังเคราะห์ 4i และ 8g แสดงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (*Candida albicans*) ได้ชัดเจน

Karegoudar และคณะ (2007) ได้ทำการสังเคราะห์สาร 1, 2, 4-Triazolothiadiazoles และ 1, 2, 4-Triazolothiadiazines bearing trichlorophenyl moiety ซึ่งเป็นสารกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกแล้วนำมาทดสอบหาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ พบว่าสารสังเคราะห์ทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ได้พอประมาณจนถึงยับยั้งการเจริญได้ดี

Nandnakumar และคณะ (2007) ได้ทำการสังเคราะห์ Diazepino quinoline derivatives และสารตัวกลางของ Quinolines แล้วจึงนำมาทดสอบหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* และทดสอบหาฤทธิ์ต้านเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *Penicillium funiculosum*, *Alternaria macrospora* and *Fusarium oxysporum* ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่าสารสังเคราะห์ Diazepino quinoline derivatives และสารตัวกลางของ Quinolines สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้พอประมาณ ยกเว้นสารสังเคราะห์บางตัวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ และสารสังเคราะห์ทั้งหมดยกเว้น 5a สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบทั้งหมดได้ดี