การแยกจุลินทรีย์เอนโดไฟต์จากฟองน้ำและจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมในทะเลที่สามารถผลิตสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิต้านการเจริญของเชื้อสแตปฟิลโลคอคคัส ออเรียส ที่ดื้อยาเมธิซิลลิน

Isolation of Secondary Metabolites-Producing Endophytics and Free Living Microorganisms from Sea Active against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

มณฑล เลิศคณาวนิชกุล [1,2*] และ พชร เพชรประดับ [3]

Monthon Lertcanawanichakul [1,2*] and Pachara Pedpradab [3]

Received: 8 July 2019, Revised: 22 October 2019, Accepted: 15 January 2020

บทคัดย่อ

งานศึกษาในครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของการวิจัยเพื่อค้นหายาปฏิชีวนะจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยแหล่งของสารออกฤทธิ์ปฏิชีวนะในการศึกษาครั้งนี้ได้มาจากจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับฟองน้ำและสิ่งมีชีวิตอยู่อย่างอิสระในโคลนจากทะเลบริเวณเกาะสาหร่าย จังหวัดสตูล จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ไวต่อยาปฏิชีวนะ (*Staphylococcus aureus* TISTR517) และแบคทีเรียที่ดื้อยาเมธิซิลลิน (*Staphylococcus aureus* MRSA142) โดยทดสอบด้วยวิธี Double layer overlay และ Agar well diffusion จากการทดลองสามารถแยกแบคทีเรียจากกลุ่มเอนโดไฟต์ แบคทีเรียที่อาศัยปกคลุมผิวฟองน้ำ และแบคทีเรียกลุ่มที่อาศัยอยู่อย่างอิสระได้จำนวน 11 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียที่แยกได้มีลักษณะคล้ายแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท ซึ่งแบคทีเรียรหัส S6.2 และ SK3 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่นำมาทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ งานวิจัยนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการศึกษายาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อดื้อยาเมธิซิลลินได้ในอนาคต

คำสำคัญ: สแตปฟิลโลคอคคัส ออเรียส, ยาเมธิซิลลิน, สารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, เอนโดไฟต์

---

[1] สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

[1] School of Allied Health Sciences, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160, Thailand.

[2] หน่วยวิจัยโรคเขตร้อน สถาบันวิจัยวิทยาการสุขภาพ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

[2] Tropical Medicine Research Unit, Research Institute for Health Sciences, Walailak University 80160, Thailand.

[3] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

[3] Faculty of Sciences and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus, Sikao, Trang 92150, Thailand.

[*] ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): lmonthon55@gmail.com

ABSTRACT

This study is a part of drug-based screening from natural products. The sponges and mud from the sea were randomly collected for antibiotic-producing bacteria isolation. The bacterial isolates mud from the sea and endophytic from sponges found on Ko Sarai area, Satun province. They were tested for antibiotic-sensitive bacteria (*Staphylococcus aureus* TISTR517) and methicillin-resistance bacteria (*Staphylococcus aureus* MRSA142). Double layer overlay and agar well diffusion methods were tested. From the experiment, 11 isolates bacteria were separated from the endophytic group that covered the surface of the sponge and free-living bacteria groups. The morphology of isolated bacteria showed embedded colony which acted as Actinomycetes. Isolated bacteria code S6.2 and SK3 showed antimicrobial against two bacterial strains tested. This research may be useful for methicillin resistant antibiotic studies in the future.

Key words: *Staphylococcus aureus*, methicillin, secondary metabolites, bioactive compounds, endophytics

บทนำ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compounds) เป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น พืชหรือจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช โดยกลุ่มสารดังกล่าวได้รับความสนใจในการนำไปผลิตเป็นยารักษาโรคหรือใช้ในอาหารเสริมต่างๆ มากขึ้นในปัจจุบัน ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีความจำเพาะเจาะจง เช่น มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเต้านม เชื้อวัณโรค เชื้อมาลาเรีย และแบคทีเรียที่ดื้อยา เป็นต้น โดยสารดังกล่าวต้องไม่มีผลในทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อยที่สุด ยกเว้นมีผลต่อเชื้อโรค หรือสารอื่นๆ ที่เราต้องการขจัดเท่านั้น (Prapaiwong, 2012; Blunt *et al*., 2004; Ely *et al*., 2004; Fenecal and Jensem, 1993; Friedrich *et al*., 1999; Groombridge, 1992)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีมาก ดังนั้นจึงมีความต้องการใช้ในปริมาณมาก ซึ่งสารสังเคราะห์ที่ได้จากพืชอาจไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ ทำให้ต้องใช้วัตถุดิบเพื่อการสกัดในปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามพืชบางชนิดมีข้อจำกัดในการใช้ ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาล อายุ หรือสภาพแวดล้อมในการปลูก นอกจากนี้การสังเคราะห์สารในห้องปฏิบัติการต้องใช้สารเคมี และกระบวนการที่ยุ่งยาก อีกทั้งยังใช้ต้นทุนในการสังเคราะห์ค่อนข้างสูง จึงมีความจำเป็นในการแสวงหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแหล่งใหม่ๆ

มีรายงานว่าจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ (Endophytic Microorganisms) เช่น แบคทีเรียและราที่อาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ (Intercellular Space) ของพืชแบบภาวะพึ่งพาอาศัยโดยไม่ก่อให้เกิดโรค (Friedrich *et al*., 1999; Groombridge, 1992; Colwell, 2002) สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในระยะเวลาที่สั้นและมีข้อจำกัดที่น้อยกว่าพืช การเตรียมวัตถุดิบหรือการแยกสารดังกล่าวจากจุลินทรีย์เอนโดไฟต์สามารถทำได้ทุกฤดูกาล ในปริมาณที่มากตามความต้องการ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์เอน

โดไฟต์จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการนำสารเหล่านั้นไปใช้ประโยชน์

นอกจากนี้ยังมีแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น กลุ่มสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีกระดูกสันหลังในท้องทะเล ได้แก่ ฟองน้ำ และกัลปังหา (Friedrich *et al*., 1999; Groombridge, 1992; Colwell, 2002; Anand *et al*., 2005; Gandhimathi *et al*., 2008; Menezes *et al*., 2010) รวมถึงจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในทะเลและอาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีกระดูกสันหลัง แต่อย่างไรก็ตามสารที่แยกได้จากสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีกระดูกสันหลังมักมีปริมาณที่น้อยกว่า 1 ส่วนในล้านส่วนของน้ำหนักตัว (Proksch *et al*., 2002)

ดังนั้นจึงมีรายงานการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิต เช่น ในเนื้อเยื่อฟองน้ำ Aplysia aerophoba มีกลุ่มแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกันแบบ symbiotic โดยแบคทีเรียได้รับอาหารจากฟองน้ำและทำให้ฟองน้ำคงรูปร่าง หรือแบคทีเรียจากกัลปังหาสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย รา และไวรัส

งานวิจัยนี้ คัดแยกจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณผิวภายในและภายนอกของสิ่งมีชีวิต และที่อาศัยอยู่เป็นอิสระ (Free-Living) ในทะเล โดยศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อสแตปฟิลโลคอคคัส ออเรียส ที่ไวต่อยาปฏิชีวนะ (Staphylococcus aureus TISTR517) และที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (Staphylococcus aureus MRSA142)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์จากทะเล

เก็บตัวอย่างฟองน้ำ และโคลนจากทะเลบริเวณเกาะสาหร่าย จังหวัดสตูล โดยใส่ในถุงพลาสติกที่บรรจุน้ำทะเลบริเวณที่เก็บตัวอย่าง รัดปากถุงให้แน่น แช่ในลังน้ำแข็ง แล้วนำกลับห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบภายในเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างฟองน้ำและโคลนจากทะเล

วันที่เก็บตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	จำนวน	รหัส
25 มีนาคม 2560 (14.00-17.00 น.) ช่วงน้ำลง	ฟองน้ำสีแดง	1	S1
	ฟองน้ำสีน้ำเงิน	1	S2
	ฟองน้ำสีน้ำตาล	1	S3
	ฟองน้ำสีม่วง	1	S4
	ฟองน้ำสีเขียว	1	S5
	ฟองน้ำสีดำ	1	S6
	ฟองน้ำสีเขียวขี้ม้า	1	S7
	ฟองน้ำสีเขียวอ่อน	1	S8
	ฟองน้ำสีเหลือง	1	S9
	ฟองน้ำสีดำ	1	S10

ตารางที่ 1 (ต่อ)

วันที่เก็บตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	จำนวน	รหัส
26 มีนาคม 2560	ฟองน้ำสีเหลือง	1	S11
(6.00-6.30 น.)	โคลนบนผิวฟองน้ำสีเหลือง	1	M1
ช่วงคาบเกี่ยว			
น้ำขึ้น			

2. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรียที่ไวต่อยาปฏิชีวนะ (*Staphylococcus aureus* TISTR517) สั่งซื้อจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อยาเมธิซิลลิน (*Methicillin resistant Staphylococcus aureus*) สายพันธุ์ MRSA142 ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลมหาราช เก็บรักษาในกลีเซอรอลเข้มข้นร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ณ ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช

3. การแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่าง

3.1 การแยกเอนโดไฟต์จากตัวอย่างฟองน้ำ

คัดเลือกฟองน้ำที่มีลักษณะสมบูรณ์ ไม่มีอาการของโรค ล้างให้สะอาด แช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 นาน 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อนาน 3-5 วินาที ตัดตัวอย่างฟองน้ำออกเป็นชิ้นเล็กๆ โดยใช้กรรไกรจุ่มแอลกอฮอล์ผ่านเปลวไฟ (ดัดแปลงมาจาก Wilson, 1988) นำไปวางบนอาหาร Marine agar (MA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากชิ้นตัวอย่างฟองน้ำ จากนั้นใช้เข็มเขี่ยปลายแหลม (needle) เชื้อแยกโคโลนีที่มีความแตกต่างกัน ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MA เก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 7 วัน แล้วเก็บรักษาในกลีเซอรอลเข้มข้นร้อยละ 15 ในตู้แช่เยือกแข็ง (Deep Freezer) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3.2 การแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างโคลน

แยกจุลินทรีย์โดยขีดตัวอย่างโคลนลงบนอาหาร MA ด้วยเข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นแยกโคโลนีที่แตกต่างกันโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3.1

4. การทดสอบฤทธิ์ปฏิชีวนะในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Double layer overlay (Shetty *et al*., 2014) โดยผสมเซลล์แขวนลอยของเชื้อทดสอบเข้มข้นร้อยละ 1 ซึ่งเลี้ยงไว้ข้ามคืนในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) กับอาหารวุ้นอ่อน (Soft Agar) หลอมเหลวปริมาตร 7 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าโดยไม่ให้เกิดฟอง จากนั้นเททับลงบนโคโลนีของจุลินทรีย์ตัวอย่างที่เลี้ยงไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 5 วัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วัดขนาดวงใสของการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone)

5. การแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์

คัดเลือกโคโลนีที่แสดงฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบ โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร MA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แยกโคโลนีเดี่ยวจำนวน 5 โคโลนี โดยถ่ายเชื้อลงในอาหาร Marine Broth (MB) ในขวดก้นจีบ (Baffled flask) ที่ใส่เม็ดลูกปัดแก้วในอัตราส่วน 1 เม็ดต่อ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน แยก

ผลิตภัณฑ์เป็น 2 ส่วน คือน้ำเลี้ยงเชื้อ (Culture filtrate) และเซลล์แขวนลอยเชื้อ (Cell suspension)

6. การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ MRSA142

6.1 การเตรียมเชื้อ MRSA142

เพาะเลี้ยงเชื้อ MRSA142 ลงบนอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธีการขีดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แยกโคโลนีเดี่ยวแล้วนำไปทดสอบกับเชื้อตัวอย่าง

6.2 การทดสอบฤทธิ์ปฏิชีวนะในการต้านเชื้อ MRSA142

ทดสอบฤทธิ์ปฏิชีวนะด้วยวิธี Agar well diffusion โดยปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยเชื้อ MRSA142 ให้ได้ 0.5 McFarland (1.5×108 CFU/mL) ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 นำไปเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MHA ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้งประมาณ 10 นาที ใช้ส่วนท้ายของทิปที่ปราศจากเชื้อเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยกดลงไปในเนื้อวุ้น จากนั้นดูดน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 5. ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนน้ำเลี้ยงเชื้อซึมเข้าเนื้อวุ้นจนหมด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วัดขนาดวงใสของการยับยั้ง

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากฟองน้ำและจุลินทรีย์ที่แยกได้จากทะเล

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ โคโลนีมีลักษณะมันวาว มีเมือกเยิ้ม พบทั้งจุลินทรีย์ในกลุ่มของ free-living และ epibiotic ซึ่งจุลินทรีย์ที่แยกได้มี 11 ไอโซเลท แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มที่แยกได้จากผิวฟองน้ำจำนวน 9 ไอโซเลท และ 2) กลุ่มเอนโดไฟต์ จำนวน 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 2) โดยส่วนใหญ่แล้วจากการศึกษาคุณลักษณะเบื้องต้นทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกออกมาได้จากตัวอย่างศึกษาในครั้งนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาคัดแยกแบคทีเรียจากฟองน้ำบริเวณเกาะครก จ.ชลบุรี หมู่เกาะสิมิลัน, สุรินทร์ จังหวัดพังงา และหน้าหาดแม่รำพึง จังหวัดระยอง โดยพบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มากถึงร้อยละ 95 โดยแบคทีเรียที่แยกออกมาส่วนใหญ่มีโคโลนีสีครีม รองลงมาคือ ขาว น้ำตาล ส้ม ม่วง และเหลือง ตามลำดับ และมีรูปร่างแบบแท่ง (rod) ร้อยละ 75.26 สามารถเคลื่อนที่ได้ (motility) ถึงร้อยละ 29 และมีแบคทีเรียบางส่วนที่สร้างเอนโดสปอร์ โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ถูกแยกออกมาได้ดังกล่าวสามารถแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Dechsakulwatana and Putchakarn, 1998) นอกจากนี้ยังพบว่ามีกลุ่มแบคทีเรีย Actinomycetes ที่แยกได้จากฟองน้ำสามารถแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ด้วยเช่นกัน (Gandhimathi *et al*., 2008)

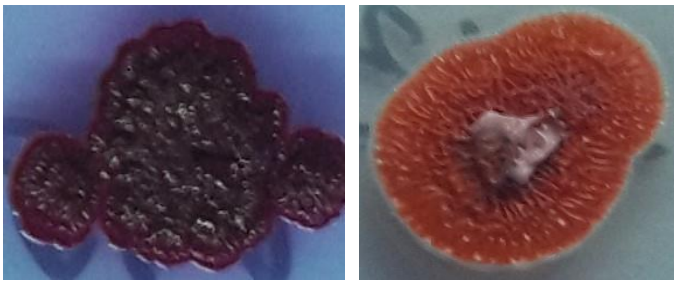
ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากจากฟองน้ำ

ชนิดตัวอย่าง	รหัส	จำนวนไอโซเลท (รหัสเชื้อ)	
		บนผิวฟองน้ำ	เอนโดไฟต์
ฟองน้ำสีแดง	S1	1 (S1.1)*	1 (S1.2)*
ฟองน้ำสีดำ	S6	2 (S6, S6.1)*	1 (S6.2)
ฟองน้ำสีเขียวอ่อน	S8	1 (S8)*	0
ฟองน้ำสีดำ	S10	2 (S10.1, S10.2)*	0
โคลนบนผิวฟองน้ำสีเหลือง	M1	3 (SK3, SL4, SL19)	0

* โคโลนีสีขาวและสีดำ มีมูกเยิ้ม มันวาว

2. การแสดงฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านเชื้อ MRSA142

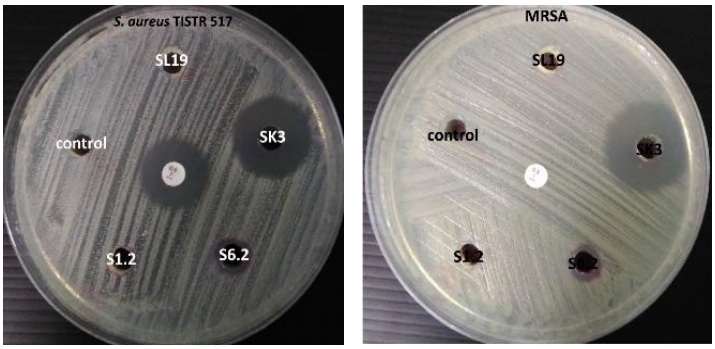
แบคทีเรียที่แสดงฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านเชื้อ MRSA142 ได้แก่ แบคทีเรียที่พบในชิ้นส่วนฟองน้ำสีดำรหัส S6 คือ แบคทีเรียรหัส S6.2 ซึ่งโคโลนีมีผิวหยาบด้านสีแดง ลักษณะฝังวุ้น และแบคทีเรียที่แยกได้จากโคลนบนผิวฟองน้ำสีเหลือง คือ แบคทีเรียรหัส SK3 โดยโคโลนีมีผิวหยาบด้านสีส้ม ลักษณะฝังวุ้น (ภาพที่ 1)



รหัส S6.2 รหัส SK3

ภาพที่ 1 โคโลนีของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ที่พบในฟองน้ำสีดำ (รหัส S6.2) และโคลนบนผิวฟองน้ำสีเหลือง (รหัส SK3)

แบคทีเรียรหัส S6.2 และ SK3 มีลักษณะโคโลนีผิวหน้าหยาบ และฝังวุ้น ซึ่งเป็นลักษณะของแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท (Shetty *et al*., 2014) และเป็นแบคทีเรียที่สามารถตรวจพบได้เป็นเอนโดไฟต์ รวมทั้งดำรงชีวิตเป็นอิสระ (Groombridge, 1992) โดยพบว่าไอโซเลททั้ง 2 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* TISTR517 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Double layer overlay โดยแบคทีเรียรหัส S6.2 สามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ MRSA142 ดังนั้นจึงคัดเลือกแบคทีเรียรหัส S6.2 และ SK3 ไปศึกษาประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรียรหัส SK3 มีฤทธิ์ต้านทั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR517 และ MRSA142 โดยมีขนาดวงใสในการยับยั้งเชื้อสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 2 วัน (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *S. aureus* TISTR517 (ซ้าย) และ MRSA (ขวา) โดยมีแผ่นยามาตรฐาน oxacillin เป็นชุดควบคุม (กลาง)

การศึกษาสารออกฤทธิ์ปฏิชีวนะจากสิ่งแวดล้อมในทะเล ซึ่งเป็นแหล่งทรัพยากรที่สำคัญและมีความหลากหลายของระบบนิเวศ (Colwell, 2002) โดยเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Prapaiwong, 2012) ในกลุ่ม terpenes, polyketides, acetogenins และ peptide (Wright, 1998; Shetty *et al*., 2014) จากการทดลองนี้สามารถแยกแบคทีเรียกลุ่ม Actinomycetes ที่เป็นแบคทีเรียเอนโดไฟต์ในฟองน้ำ (S6.2) และกลุ่มที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในสิ่งแวดล้อม (SK3, SL4, SL19) รวมทั้งสิ้น 4 ไอโซเลท โดยมีแบคทีเรียเพียง 2 ไอโซเลท คือ รหัส S6.2 และ รหัส SK3 ที่แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในกลุ่ม MRSA ดังเช่นที่มีรายงานเกี่ยวกับ Marine Actinomycetes (Gandhimathi *et al*., 2008) และ Streptomyces parvulus สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด (Shetty *et al*., 2014) แต่ยังไม่มีรายงานในการแสดงฤทธิ์ต้าน MRSA ซึ่งในการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียรหัส S6.2 และ รหัส SK3 สามารถแสดงฤทธิ์ต้าน MRSA ได้ ดังนั้นควรศึกษาถึงโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียดังกล่าวเพื่อใช้เป็นต้นแบบในการผลิตยาที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อดื้อยาได้อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

สรุป

แบคทีเรียรหัส S6.2 และ รหัส SK3 ซึ่งแยกจากโคลนและชิ้นส่วนฟองน้ำในทะเล สามารถแสดงฤทธิ์ต้าน *S. aureus* TISTR517 และ MRSA142 ซึ่งการสกัดและแยกให้ได้สารบริสุทธิ์เป็นขั้นตอนที่จะต้องทำการศึกษาต่อไป นอกจากจะเป็นแหล่งสำคัญของสารยับยั้งจุลชีพดื้อยา การศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านอื่นๆ เช่น การยับยั้งเนื้องอก การยับยั้งมะเร็ง ยังเป็นอีกแนวทางในการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียในในฟองน้ำให้ใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในชุดโครงการ “แนวโน้มการใช้สารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (สมุนไพร และจุลินทรีย์) เพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรม” ประจำปีงบประมาณ 2563 (WUBG-022/2563)

เอกสารอ้างอิง

Anand, T., Abdul, W.B., Yogesh, S., Shouche, U.R., Jay, S. and Siddhartha, P.S. 2005. Antimicrobial Activity of Marine Bacteria Associated with Sponges from the Waters of the Coast of South East India. **Microbiological Research** 16: 252-262.

Blunt, J.W., Copp, B.R.M., Munro, M.H.G., Northcote, P.T. and Prinsep, M.R. 2004. Marine Natural Products. **Natural Product Reports** 21: 1-49.

Colwell, R.R. 2002. Fulfilling the Promise of Biotechnology. **Biotechnology Advances** 20: 215-228.

Dechsakulwatana, C. and Putchakarn, S. 1998. Research Report on Studies on Bioactive Metabolites from Marine Bacteria which Associated with Thai Sponges. National Research Council of Thailand. (In Thai)

Ely, R., Supriya, T. and Naik, C.G. 2004. Antimicrobial Activity of Marine Organisms Collected of the Coast of South East India. **Journal of Experimental Marine and Ecology** 339: 121-127.

Fenecal, W. and Jensem, P.R. 1993. Marine microorganisms: A new Biomedical Resource, pp. 500. *In* Attaway, D.H. and Zaborsky, O.R., eds. **Marine Biotechnology, I.** Pharmaceutical and bioactive natural products, Plenum press, New York.

Friedrich, A.B., Markert, H., Fendert, T., Hacker, J., Proksch, P. and Hentschel, U. 1999. Microbial Diversity in the Marine Sponge *Aplysina caverniucola* (formerly *Verongia cavernicola*) Analyzed by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH). **Marine Biology** 134: 461-470.

Gandhimathi, R., Arunkumar, M., Selvin, J., Thangavelu, T., Sivaramakrisnan, S., Kiran, G.S., Shanmughapriya, S. and Natarajseenivasan, K. 2008. Antimicrobial Potential of Sponge Associated Marine Actinomycetes. **Journal of Medical Mycology** 18: 16-22.

Groombridge, B. 1992. **Global Biodiversity: Status of the Earth's Living Resources.** Chapman and Hall, London.

Menezes, C.B., Bonugli-Santos, R.C., Miqueletto, P.B. Passarini, M.R., Silva, C.H., Justo, M.R., Leal, R.R., Garboggini, F.F., Oliverira, V.M., Berlinck, R.G. and Sette, L.D. 2010. Microbial Diversity Associated with Algae, Ascidians and Sponges from the North Coast of Sao Paulo State, Brazil. **Microbiological Research** 165: 466-482.

Prapaiwong, A. 2012. Isolation of Bacteria with Antimicrobial Activity from Marine Invertebrates. Thesis for the Degree of Master of Science in Microbiology. Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University.

Proksch, P., Edrada, R.A. and Ebel, R. 2002. Drugs from the Sea-Current Status and Microbiological Implications. **Applied Microbiology and Biotechnology** 59: 125-134.

Shetty, P.R., Buddana, S.K., Tatipamula, V.B., Naga, Y.V.V. and Ahmad, J. 2014. Production of polypeptide antibiotic from *Streptomyces*

parvulus and its antibacterial activity. **Brazilian Journal of Microbiology** 45(1): 303-312.

Wilson, J.E. 1988. The Systematics' Perspective, pp. 1-6. *In* Fautin, D.G., ed. **Biomedical Importance of Marine Organisms.** California Academy of Science, San Francisco.