

การคัดกรองเชื้อราที่คาดว่าจะเป็นรากล่อโรคในมนุษย์จากดิน  
SCREENING FOR EXPECTED HUMAN-PATHOGENIC FUNGI FROM SOIL

นิภา ปานทอง และ วิญญู ภัคดี\*

Nipa Panthong and Winyou Puckdee\*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี อ.เมือง จ.จันทบุรี 22000

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Muang, Chanthaburi 22000

**บทคัดย่อ**

การแยกเชื้อราที่คาดว่าจะเป็นรากล่อโรคในมนุษย์จากตัวอย่างดิน 17 ตัวอย่าง จากป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี ด้วยอาหาร Gochenaur's glucose ammonium nitrate agar แล้วทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ด้วยอาหาร Sabouraud's dextrose agar ผลการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยาทั้งของโคโลนีและรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของเชื้อรากล่อโรคในมนุษย์สามารถแยกเชื้อราที่คาดว่าจะเป็นรากล่อโรคได้ 29 isolates (เชื้อรา 28 isolates (96.55%) และยีสต์ 1 isolate (3.44%)) โดยพบ *Aspergillus* sp. 14 isolates (48.27%), *Penicillium* sp. 6 isolates (20.68%), *Trichoderma* sp. 2 isolates (6.89%), *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Cladosporium* sp. *Chryosporium* sp., *Absidia* sp. และ *Rhizopus* sp. อย่างละ 1 isolate (3.44%) และยีสต์คือ *Candida* sp. 1 isolate

**Abstract**

Seventeen samples of soil from the plant genetic conservation forest at Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi province were obtained and screened for various groups of potential pathogenic fungi on Gochenaur's glucose ammonium nitrate agar and Sabouraud's dextrose agar. From morphological examination (macroscopic and microscopic) and comparison with human-pathogenic fungi database, 29 isolates of fungi including 28 filamentous fungi (96.55%) and 1 yeast isolate (3.44%) were obtained and which can to be grouped into 10 genera. The identified genera are 14 isolates of *Aspergillus* sp. (48.27%), 6 isolates of *Penicillium* sp. (20.68%), 2 isolates of *Trichoderma* sp. (6.89%), 1 isolate of *Fusarium* sp., 1 isolate of *Curvularia* sp., 1 isolate of *Cladosporium* sp., 1 isolate of *Chryosporium* sp., 1 isolate of *Absidia* sp., 1 isolate of *Rhizopus* sp. and 1 yeast isolate of a *Candida* sp.

คำสำคัญ: เชื้อรากล่อโรค, แอสเปอริซิลลัส, ดิน

Keywords: Pathogenic fungi, *Aspergillus* sp., Soil.

\*ติดต่อนักวิจัย: วิญญู ภัคดี (อีเมล [win2ku@yahoo.com](mailto:win2ku@yahoo.com))

\*Corresponding author: Winyou Puckdee (Email: [win2ku@yahoo.com](mailto:win2ku@yahoo.com))

## บทนำ

เชื้อรามักพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ อยู่ได้ในที่ที่มีความชื้นและในสภาพที่เป็นกรดอ่อนๆ และด้วยสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยที่มีความชื้นสูงและอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา จึงพบว่าเป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายของเชื้อราเป็นอย่างมาก เชื้อราดำรงชีวิตได้หลายแบบ คือ เป็นผู้ย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ และอื่นๆ เพื่อการหมุนเวียนวัฏจักรของสารต่างๆ ในดิน น้ำ และอากาศ อยู่แบบพึ่งพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น บางชนิดมีประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ หรือเป็นปรสิตของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น คือสามารถก่อโรคได้ ทั้งในพืช สัตว์ และ มนุษย์ โดยเฉพาะในมนุษย์ ส่วนจะเกิดการติดเชื้อจากเชื้อราในธรรมชาติ และกลุ่มเสี่ยงส่วนใหญ่มักเป็นชาวสวนชาวสวนในชนบท หรือชุมชนเมืองโดยเฉพาะบริเวณที่มีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม การเข้าสู่ร่างกายของเชื้อราได้หลายแบบ เช่น ทางบาดแผล รอยหนามข่วน การสูดดมเอาสปอร์หรือโคนิเดียเข้าทางจมูก เป็นต้น การก่อโรคก็มีความสัมพันธ์กันหลายแบบทั้งแบบฉวยโอกาสซึ่งปัจจุบันมีมากขึ้น ในผู้ป่วย AIDS การได้รับยากดภูมิคุ้มกัน สภาพวะของร่างกายที่เป็นโรคอื่นๆ อยู่ก่อน เช่น เบาหวานทำให้มีความเสี่ยงที่ง่ายต่อการติดเชื้อ หรือในผู้ติดเชื้อ *Pythium insidiosum* มักพบว่าสัมพันธ์กับการเป็นโรคธาลัสซีเมีย อีกประการหนึ่งเชื้อราในกลุ่มเดียวอาจก่ออาการของโรคได้หลายแบบ เช่น กลุ่มเชื้อ *Aspergillus* sp. ก่อโรค allergic aspergillosis, aspergilloma, invasive aspergillosis และ otomycosis (นงนุช, 2540) ดินจัดว่าเป็นแหล่งสะสมและอาศัยของจุลินทรีย์มากมาย รวมทั้งเชื้อราที่คาดว่าจะก่อโรคด้วย

จุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อคัดกรองเชื้อราที่คาดว่าจะก่อโรคในมนุษย์ จากดินในป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี เพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการติดเชื้อราสำหรับผู้มาศึกษาป่าดังกล่าว

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างดิน ทำการสุ่มเก็บในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี จำนวน 17 ตัวอย่าง โดยตักดินที่อยู่ลึก 6 - 10 เซนติเมตร เก็บใส่ถุงพลาสติกเพื่อนำไปแยกเชื้อต่อไป
2. การแยกเชื้อราที่คาดว่าจะก่อโรคจากดิน ทำการชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม แล้วเจือจางเป็นลำดับ 10 เท่า (ten fold serial dilution) ด้วย 0.85% normal saline จากนั้นทำการ pour plate โดยถ่ายสารละลายของดินโดยใช้ความเข้มข้นที่  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  และ  $10^{-4}$  จำนวน 1 ml ลงบนอาหาร Gochenaur's glucose ammonium nitrate agar ที่มีส่วนผสมของ Rose Bengal และ Streptomycin บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นทำการคัดเลือกโคโลนีที่ขึ้นและทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยถ่ายเชื้อลงบนอาหาร Sabouraud's dextrose agar พิจารณาจากลักษณะโคโลนีที่ต่างกัน
3. การตรวจสอบชนิดของเชื้อรา ตรวจสอบเชื้อราโดยดูลักษณะของโคโลนี การสร้างเม็ดสีภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อ และการดูลักษณะโครงสร้างต่างๆ จากการทำ slide culture กับเชื้อราที่แยกได้ทุก isolates แล้วนำผลที่ได้ ทำการเปรียบเทียบกับข้อมูลของเชื้อราก่อโรคจากหนังสือเชื้อราทางการแพทย์จากหลายๆ แหล่งซึ่งสามารถระบุได้ถึงระดับสกุล (genus) สำหรับ isolate ที่เป็นยีสต์ จะทำการตรวจสอบเพิ่มเติมโดยทำ germ tube test และ sugar fermentation test

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองสามารถแยกเชื้อราที่คาดว่าจะก่อโรคจากดินในป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏ-  
รำไพพรรณี ได้ทั้งหมด 29 isolate โดยเป็นเชื้อรา  
จำนวน 28 isolate คิดเป็น 96.55% และเป็นยีสต์ 1  
isolate คิดเป็น 3.44% เมื่อทำการตรวจสอบชนิด  
พบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อราใน Phylum Deutero-  
mycota คือ *Aspergillus* sp. 14 isolates,  
*Penicillium* sp. 6 isolates, *Trichoderma* sp. 2  
isolates, *Fusarium* sp., *Curvularia* sp.,  
*Cladosporium* sp. และ *Chryso sporium* sp. อย่างละ  
1 isolate Phylum Zygomycota 2 สกุล คือ *Absidia*  
sp. และ *Rhizopus* sp. อย่างละ 1 isolate และยีสต์  
คือ *Candida* sp. 1 isolate เมื่อพิจารณาจะพบว่า  
ราที่คาดว่าจะเป็ราก่อโรคสกุล *Aspergillus* sp.  
พบมากที่สุดถึง 48.27% รองลงมาคือ *Penicillium* sp.  
คิดเป็น 20.68% แต่ไม่พบเชื้อ *P. marneffeii*  
เชื้อราที่คาดว่าจะเป็ ราก่อโรคที่แยกได้นี้  
พบว่าอาจก่อโรคติดเชื้อ คือ โรคติดเชื้อราที่ผิวหนัง  
แบ่งเป็น โรค candidosis เชื้อก่อโรค คือ *Candida*  
sp. โรค keratomycosis หรือ mycotic keratitis  
เชื้อก่อโรค คือ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.,  
*Curvularia* sp., *Cladosporium* sp. (นงนุช, 2540)  
โรคติดเชื้อราชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous  
mycoses) แบ่งเป็น โรค chromoblastomycosis คือ  
โรคจากราดำ เชื้อก่อโรค คือ *Cladosporium* sp. โรค  
hyalohyphomycosis เชื้อก่อโรค คือ *Penicillium* sp.  
และ *Fusarium* sp. โรค mycetoma เชื้อก่อโรคคือ  
*Aspergillus* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp.  
(พรรณกร, 2535) โรคติดเชื้อราอวัยวะแบ่งเป็น  
โรค zygomycosis เชื้อราก่อโรค คือ *Absidia* sp. และ  
*Rhizopus* sp. โรค aspergillosis เชื้อก่อโรคคือ  
*Aspergillus* sp. ส่วนเชื้อรา *Trichoderma* sp. ก่อโรค  
bronchial asthma และสร้างสารพิษ trichothecenes  
และเชื้อรา *Chryso sporium* sp. ก่อโรค skin lesion  
(กิตติมา และ ประทีป, 2542) การทดลองนี้พบว่า

สอดคล้องกับงานของ กิตติมา รามัญวงศ์ และคณะ  
(2543) ซึ่งได้ทำการสำรวจเชื้อราในดินบริเวณเขต  
รักษาพันธุ์สัตว์ป่าทุ่งใหญ่นเรศวร ด้านตะวันออก  
จังหวัดตาก ด้วยอาหาร Gochenaur' s glucose  
ammonium nitrate agar พบรา 33 isolate จำแนกได้  
28 ชนิด 14 สกุล มีเชื้อรา 7 ชนิดที่เป็นก่อโรคในมนุษย์  
จากการทดลองจะเห็นว่า เป็นการแยกเชื้อราจากดิน  
เท่านั้น แต่ความจริงเชื้อรา ก่อโรคมียั้งที่อยู่ในน้ำ  
ตามกิ่งไม้ และที่อื่นๆ นอกจากดิน ดังนั้นจึงควรมีการ  
ศึกษาต่อไป

#### คำขอขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากภาควิชาชีววิทยา  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย  
ราชภัฏรำไพพรรณี ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
ราชภัฏรำไพพรรณี และโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช  
อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ  
ที่นี้ด้วย

#### เอกสารอ้างอิง

- กิตติมา รามัญวงศ์, ประทีป ดั่งวงแค. 2545.  
รากานกนางแอ่นและนกแอ่น. วารสารวิชา  
การป่าไม้. 4(1): 53-61.  
กิตติมา รามัญวงศ์, วิมณฑ์ดา หิมะมาน, จันจิรา  
อายะวงศ์, สมโภชน์ มณีรัตน์. 2543.  
การสำรวจเบื้องต้นเกี่ยวกับราในดินบริเวณ  
เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าทุ่งใหญ่นเรศวรด้าน  
ตะวันออก. วารสารวิชาการป่าไม้ 2(2): 117-124.  
นงนุช วณิตยธนาคม. 2540. วิทยาเชื้อราการแพทย์.  
พี.บี. ฟอเรนบูคส์เซ็นเตอร์. กรุงเทพฯ.  
พรรณกร อิมวิทยา. 2535. เชื้อราก่อโรคในคน.  
กรุงเทพฯ: สามัคคีสาร (ดอกหญ้า).  
Crissey, J.T., Lang, H. and Parish, L.C. 1995.  
Manual of Medical Mycology. Blackwell  
Science. Victoria.