



การจัดประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 17



เรื่อง

“งานวิจัยเพื่อการสร้างเสริมพลังสังคม
สู่เศรษฐกิจไทยด้วยวิถีชีวิตใหม่
(New Normal)”

มนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์
วิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี
วิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี

วันเสาร์ที่ 28 และ วันอาทิตย์ที่ 29 พฤศจิกายน พ.ศ. 2563
ณ อาคารคณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น อำเภอลำลูกกา จังหวัดปทุมธานี

สารบัญ

| ชื่อเรื่อง/ชื่อผู้วิจัย | หน้า |
|--|------|
| ระบบภูมิคุ้มกัน ศ.(พิเศษ) ทพ. ไพรัช อีรวรางกูร | 219 |
| Cracked tooth ศาสตราจารย์กิตติคุณ ทพ. วินัย ศิริจิตร | 225 |
| การใช้น้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ในการรักษาบาดแผลสดในม้า สัตวแพทย์หญิงกฤติกา จันทะพันธ์ เอกพงศ์ เนตรอนงค์ | 238 |
| การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดรากของสมุนไพรรชะเอมเทศ ต่อเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม <i>Staphylococcus</i> spp. ที่ก่อโรคผิวหนังในสุนัข สัตวแพทย์หญิงมุกดาศจี มหากนก | 255 |
| การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดรากชะเอมเทศ (<i>Glycyrrhiza glabra</i>) ต่อโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสุนัขที่เกิดจากเชื้อ <i>Streptococcus</i> spp. ในหลอดทดลอง (in vitro) ศุภพัทธ์ เชื้อนคำ ธัญพิมล อภิชาติไพบูลย์ อาจารย์สัตวแพทย์หญิงมุกดาศจี มหากนก | 266 |
| ความสัมพันธ์ระหว่างสติปัญญาที่คลี่คลายของมนุษย์ และคุณภาพชีวิต ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐาวรี ชันสำโรง รองศาสตราจารย์จุฑามาศ เทพชัยศรี ดร.สุภกรรณ จันทวงษ์ ดร.วัชรินทร์ พอสม | 277 |

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดรากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) ต่อโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสุนัขที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* spp. ในหลอดทดลอง (in vitro)

Antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* root extract against canine pyoderma caused by *Streptococcus* spp. (in vitro)

| | |
|------------------|---|
| ผู้วิจัย | ศุภพัทธ์ เชื้อนคำ ธัญพิมล อภิชาติไพบุลย์ สาขาวิชา สัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | อาจารย์สัตวแพทย์หญิงมุกดาจี้ มหากนก ภาควิชา อายุรศาสตร์ทางสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น |

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในสุนัข (Canine pyoderma) ที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* spp. เป็นโรคที่พบได้บ่อยในสุนัข โดยทั่วไปจะใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีในการรักษาโรค ซึ่งอาจเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยา และการดื้อต่อยาปฏิชีวนะตามมาได้ และในปัจจุบันได้มีการศึกษาแนวทางการรักษาทางเลือกใหม่โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ และสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในสุนัขกันมากขึ้น ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดรากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) ต่อโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในสุนัขที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* spp. ในหลอดทดลอง โดยจะทำการเก็บตัวอย่างจากสุนัขที่มีรอยโรค ตุ่ม (papule) และ/หรือตุ่มหนอง (pustule) ที่สงสัยว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง ในพื้นที่เขตอำเภออุทอง จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 18 ตัวอย่าง แล้วทำการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* spp. จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดรากชะเอมเทศ ด้วยวิธี วิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อและทำลายแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration test; MIC และ Minimum bactericidal concentration test; MBC ตามลำดับ) และ Well diffusion agar โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมยา Chloramphenicol จากผลการทดสอบพบว่า สารสกัดรากชะเอมเทศมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* spp. ที่มาจากผิวหนังสุนัขในเขตพื้นที่ศึกษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อและทำลายแบคทีเรีย (MIC และ MBC) อยู่ที่ระดับ 15-20 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : ชะเอมเทศ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อสเตรปโตคอคคัส โรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

Abstract

Canine pyoderma caused by *Streptococcus* spp. is the common disease in dog. Normally antibiotics and chemicals are widely used to treatment canine pyoderma. However they have many side effects and can be potential risk of antibiotic resistance. In the present study show the alternative treatment such as natural plant extract and herb for canine pyoderma. The aim of this study was to investigate an antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* root extract against canine pyoderma caused by *Streptococcus* spp. (*in Vitro*). The samples were collected from the skin lesion of papule and pustule that caused by bacterial infection in 18 dogs in U Thong District area, Suphan Buri Province. Then Bacterial culture for *Streptococcus* spp. identification was performed and antibacterial activity test of *Glycyrrhiza glabra* root extract was determined by Minimum inhibitory concentration test (MIC), Minimum bactericidal concentration test (MBC) and Well diffusion agar. The results showed that *Glycyrrhiza glabra* root extract could be effective antibacterial activity against *Streptococcus* spp. that cause canine pyoderma in study area and the MIC and MBC are 15-20 percentage of extract's concentration level

Key Words : *Glycyrrhiza glabra*, Antibacterial activity, *Streptococcus* spp., Pyoderma

บทนำ

โรคติดเชื้อแบคทีเรียมีความสำคัญทางสัตวแพทย์อย่างมาก เนื่องจากโรคติดเชื้อแบคทีเรียเป็นโรคผิวหนังที่พบได้บ่อยในสุนัขทุกเพศและทุกช่วงอายุ (Nesbit and Ackerman, 1998) โดยมีลักษณะอาการที่สำคัญ ได้แก่ เกิดตุ่มหนองหรือตุ่มแดงอักเสบบนผิวหนัง อาจพบการตกสะเก็ด ผิวหนังลอก ขนร่วงเป็นหย่อมๆ โดยส่วนมากมักจะพบที่บริเวณขาหนีบ และใต้วงแขน เป็นต้น ซึ่งสาเหตุการเกิดโรคติดเชื้อแบคทีเรียนั้นเกิดจากผิวหนังเกิดรอยแตก และทำให้ชั้นของผิวหนังถูกทำลายส่งผลให้ได้รับปัจจัยที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ ความชื้น แบคทีเรียประจำถิ่นบนผิวหนัง ระบบไหลเวียนของโลหิต หรือภาวะการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันอ่อนส่งผลให้สัตว์ติดเชื้อแบคทีเรียเข้าทางผิวหนังได้ง่าย นอกจากนี้การจำแนกประเภทของโรคติดเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนัง สามารถจำแนกตามความลึกของการอักเสบในชั้นผิวหนัง โดยแบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก ได้แก่ การติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังชั้นนอก การติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังชั้นกลาง และการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังชั้นลึก ซึ่งในแต่ละประเภทมีแนวทางการรักษาที่แตกต่างกันไป โดยทั่วไปโรคติดเชื้อแบคทีเรียจะถูกรักษาด้วยยาปฏิชีวนะอย่างน้อย 3-4 สัปดาห์ ในบางกรณีที่เป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรียแบบเรื้อรังหรือกลับมาเป็นโรคซ้ำจำเป็นที่จะต้องเพาะเชื้อจากผิวหนัง และทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะเพื่อหายาปฏิชีวนะที่เหมาะสมมาใช้รักษา ซึ่งในสุนัขที่เป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรียเรื้อรังจำเป็นต้องรักษาด้วยยาปฏิชีวนะยาวนานกว่า 8-12 สัปดาห์ จึงอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยา ได้แก่ การดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาและการฆ่าเชื้อลดลงอย่างรวดเร็ว รวมถึงการใช้อย่างไม่เหมาะสม ซึ่งล้วนแล้วแต่ส่งผลที่อาจเกิดผลข้างเคียง และการดื้อต่อยาปฏิชีวนะตามลำดับ (Livermore, 2005) นอกจากนี้การใช้อยาปฏิชีวนะในเวลาที่ยาวนานอาจส่งผลให้เกิดการตกค้างในร่างกาย สุนัข และอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ ได้แก่ การระคายเคืองในระบบทางเดินอาหาร อาเจียน และท้องเสีย เป็นต้น และโดยเฉพาะสัตว์อายุมากการได้รับยาปฏิชีวนะเป็นระยะเวลายาวนานและปริมาณสูง อาจส่งผลต่อการทำงาน

ของอวัยวะสำคัญของร่างกาย เช่น ตับและไต จนทำให้เสี่ยงต่อภาวะไตวายและตับวายได้ (Papich, 2016) จากปัญหาการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ได้กล่าวมาข้างต้น ส่งผลให้ปัจจุบันมีแนวโน้มในการคิดค้นหาแนวทางการรักษาใหม่ๆ ขึ้นหลากหลายวิธี โดยวิธีที่ถือเป็นแนวทางใหม่และมีงานทดลองที่ให้ผลการรักษาใกล้เคียงกับการใช้ยาปฏิชีวนะ นั่นก็คือ การใช้สารสกัดจากธรรมชาติมาทดแทนยาปฏิชีวนะ ด้วยคุณสมบัติของยา การตกค้างในร่างกาย และผลข้างเคียงที่น้อยกว่า จึงทำให้ปัจจุบันมีผู้วิจัยและศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติและสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น เช่น ขมิ้น ขิง ข่า และชะเอมเทศ เป็นต้น ซึ่งพืชสมุนไพรดังกล่าวถือเป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทย และมีรายงานการวิจัยถึงการนำมาใช้ในทางการแพทย์ที่หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในชะเอม ซึ่งมีรายงานถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และให้คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ได้แก่ ฤทธิ์ในการแก้ไอ การรักษาโรคตับอักเสบ รวมถึงการรักษาโรคที่มีความซับซ้อนและรักษายาก เช่น โรคซาร์ส และโรคเมอร์ส เป็นต้น (Sharma and Agrawal, 2013)

ชะเอมเทศถือเป็นพืชสมุนไพรที่มีรายงานถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเอาไว้หลายด้าน เช่น ด้านเชื้อแบคทีเรียลดการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ โดยปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับการนำสารสกัดจากชะเอมเทศมาใช้ประโยชน์อยู่มากมาย เช่น ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เป็นต้น โดยสรรพคุณทางยาของชะเอมขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีที่มีผลต่อระบบสรีรวิทยาของร่างกายในมนุษย์และสัตว์ ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของชะเอมนั้น ได้แก่ กลุ่มสารไตรเทอร์พินอยด์ (Triterpenoids) ซาโปนิน (Saponin) สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) สารแอลคาลอยด์ (Alkaloid) และสารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) พบรายงานฤทธิ์ของสารสกัดรากชะเอมเทศที่ส่งผลต่อเชื้อแบคทีเรีย โดยไปยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sharma and Agrawal, 2013) และสารประกอบในชะเอมเทศจะมีโครงสร้างและการทำงานคล้ายกับฮอร์โมนสเตียรอยด์ (Steroid) จากต่อมหมวกไต ทำให้ชะเอมมีฤทธิ์ลดการอักเสบ และแก้แพ้ได้ (Damle, 2014)

สำหรับคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรีย สารสกัดชะเอมเทศได้มีการรายงานถึงประโยชน์และการนำไปใช้ที่หลากหลาย เช่น การใช้ต้านแบคทีเรียในกลุ่มสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) และไวรัส โดยองค์ประกอบสารที่สำคัญของชะเอมเทศ ได้แก่ สารไกลเซอรีโรซิน กรดไกลเซอรีโรซินิก กลาบริน เอ และ บี ไตรเทอร์พิน สเตอรอล ซาโปนิน และไอโซฟลาโวน ซึ่งสารเหล่านี้มีรายงานว่าออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (Wang et al., 2015)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดรากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) ต่อโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในสุนัขที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* spp. ในหลอดทดลอง (*In Vitro*) โดยเก็บตัวอย่างจากรอยโรคในสุนัขอำเภออุ้มผาง จังหวัดสุพรรณบุรี

กรอบแนวคิดในการทำวิจัย

เก็บตัวอย่างจากสุนัขในพื้นที่ อำเภอร่องทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ด้วยวิธีการนำสำลีพันไม้เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากวิธีการของโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง (ตุ่ม; Papule, Pustule) จากสุนัข 18 ตัว ทั้งหมด 18 ตัวอย่าง นำตัวอย่างเข้าสู่กระบวนการเพาะเชื้อและวิเคราะห์เชื้อสเตรปโตคอคคัสตามวิธีมาตรฐานของ Bacteriological Analytical Manual จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อสเตรปโตคอคคัสของสารสกัดจากรากชะเอมเทศในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีทดสอบ Well Diffusion agar, Minimum inhibitory concentration test (MIC) และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ประเมินและวิเคราะห์ผลการทดสอบแล้วสรุปและวิจารณ์ผล

วิธีการวิจัย

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่างดำเนินเก็บตัวอย่างจากสุนัขที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เขตอำเภอร่องทอง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยเป็นการเก็บตัวอย่างจากรอยโรคที่เกิด (ตุ่ม; Papule) ที่สงสัยว่าเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังจำนวน 15 ตัว (n=15) ทั้งหมด 15 ตัวอย่างด้วยวิธี sterile technique

2. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1) คัดแยกเชื้อแบคทีเรียเตรียมแบคทีเรียจากตัวอย่างที่เก็บมาทั้งหมดตามวิธีมาตรฐานของ Bacteriological Analytical Manual; BAM (ดัดแปลงจาก Bennett and Lancette, 2003) เพื่อหาเชื้อ *Streptococcus* spp

2) ทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อ ดังนี้ ย้อมสีแกรม (Gram stain) ทดสอบการเคลื่อนที่ของเชื้อแบคทีเรีย (Motility test) ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส (Catalase test) ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase test) ทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ยูรีเอส (Urease test) การทดสอบการหมักในน้ำตาลกลูโคส (Glucose (acid) test) ทดสอบเอสคูลิน (Esculin test) ทดสอบ Oxidative-Fermentative (O-F) test (Glucose)

3. ชนิดของสารต้านเชื้อแบคทีเรีย : สารสกัดรากชะเอมเทศ (Licorice root extract) ในรูปแบบของเหลว โดย บริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (Chemipan Corporation Co., Ltd.)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus* spp. ของสารสกัดจากรากชะเอมเทศในห้องปฏิบัติการ

1) การทดสอบ Well diffusion agar โดยทดสอบฤทธิ์ของชะเอมเทศในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ตามวิธีของ Bauer *et al.* (1966) โดยทดสอบที่ความเข้มข้นของสารทั้งหมด 4 ระดับดังนี้ 100 50 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้น เทียบกับหลุมควบคุม (Positive control และ Negative control) โดย Positive control; Gentamicin ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร และ Negative control; Distilled water; DW (ความเข้มข้น 0 µg/ml) แล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางของขนาดวงใส (Inhibition zone) ด้วย vernier caliper ทำการบันทึกขนาดวงใสเป็นมิลลิเมตร

2) วิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งและทำลายแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration test; MIC และ Minimum bactericidal concentration test; MBC ตามลำดับ) (ดัดแปลงจาก Alderman and Smith, 2001; Brantner, 1994; Halliwell, 1989; Murray *et al.*, 2003) ด้วยวิธี broth microdilution method ตามวิธีของ CLSI M7-A4 (2002) โดยเตรียมสารมีความเข้มข้น 12 ระดับ โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดรากชะเอมเทศดังนี้ 100 50 25 12.5 6.25 3.12 1.56 0.78 0.39 0.19 0.09 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ ดำเนินการดังนี้โดยนำสาร Cation adjusted MHB (CAMHB) ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ใส่ใน Microplate ทุกหลุม จากนั้นเติมสารสกัดชะเอมเทศในแต่ละความเข้มข้นในปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงใน Microplate ทำการทดลองจำนวน 2 ซ้ำ (Eloff, 1998) แล้วเตรียมเชื้อ *Streptococcus* spp. ที่เตรียมไว้ที่มีเชื้อแบคทีเรียที่มีความขุ่นที่ 0.5 McFarland (ประมาณ 10^8 cfu/ml) จะใช้เชื้อที่ประมาณ 10^5 cfu/ml จากนั้นทำการเติมเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงใน microplate 50 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยมีกลุ่มควบคุมตัวอย่างละ 2 แบบ ดังนี้ 1) positive control คือ ยาปฏิชีวนะ gentamicin ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร + อาหารเลี้ยงเชื้อ CAMHB + แบคทีเรีย 2) negative control คือ ตัวทำลาย + อาหารเลี้ยงเชื้อ CAMHB + แบคทีเรีย แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกผล โดยสังเกตดูความขุ่นด้วยสายตา และค่า MIC ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถมองความขุ่นได้ จากการทดสอบ MIC ทำการหาค่า MBC โดยนำสารละลายในหลุมของ microplate ที่ไม่มีการเจริญของเชื้อที่ใส่มาปริมาณ 10 ไมโครลิตร เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อมูลเลอร์ฮิลตันชนิดแข็ง (Muller Hinton agar (MHA)) และบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และบันทึกค่า MBC ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ไม่น้อยกว่า 99.99% ของจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น

5. วิเคราะห์ทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ของแต่ละความเข้มข้น และปริมาณเชื้อสเตรปโตคอคคัสที่เหลืออยู่ ภายหลังการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ One-way ANOVA ด้วยโปรแกรม Statistics Package for the Social Sciences; SPSS v.24

ผลการวิจัย

จากตัวอย่างในเขตพื้นที่ศึกษาพบเชื้อสเตรปโตคอคคัสทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ได้แก่ A, B, C, D, E และ F นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อสเตรปโตคอคคัสของสารสกัดจากรากชะเอมเทศในห้องปฏิบัติการ โดยวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งและทำลายแบคทีเรีย ด้วยวิธี Minimum inhibitory concentration test; MIC และ Minimum bactericidal concentration test; MBC (อ่านผล 99.99%) อ่านผลจากการทำไมโครไดลูชัน (microdilution) ในไมโครเพลท ผลการทดสอบ ดังนี้ A ได้ความเข้มข้นที่ 20 % B ได้ความเข้มข้นที่ 20 % C ได้ความเข้มข้นที่ 15 % D ได้ความเข้มข้นที่ 15 % E ได้ความเข้มข้นที่ 15 % และ F ได้ความเข้มข้นที่ 15 % ดังตารางที่ 1 และ 2 (ตามลำดับ)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Minimum inhibitory concentration test; MIC

| Specimen | MIC 1 (%) | MIC 2 (%) | Mean |
|----------|-----------|-----------|------|
| A | 20 | 20 | 20 |
| B | 20 | 20 | 20 |
| C | 15 | 15 | 15 |
| D | 15 | 15 | 15 |
| E | 15 | 15 | 15 |
| F | 15 | 15 | 15 |

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย Minimum bactericidal concentration test; MBC

| Specimen | MBC 1 (%) (99.99%) | MBC 2 (%) (99.99%) | Mean |
|----------|--------------------|--------------------|------|
| A | 20 | 20 | 20 |
| B | 20 | 20 | 20 |
| C | 15 | 15 | 15 |
| D | 15 | 15 | 15 |
| E | 15 | 15 | 15 |
| F | 15 | 15 | 15 |

การทดสอบฤทธิ์ของชะเอมเทศในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง โดยทดสอบที่ความเข้มข้นของสารทั้งหมด 4 ระดับดังนี้ 100, 50, 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้น อ่านผลจากการวัดขนาดของวงใส ผลการทดสอบดังนี้ A มีวงใสขนาด 16, 12.5, 11 และ 9.5 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) B มีวงใสขนาด 15.5, 12.5, 11 และ 10.5 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) C มีวงใสขนาด 13, 11, 10 และ 9.5 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) D มีวงใสขนาด 15, 11.5, 11.5 และ 6.5 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) E มีวงใสขนาด 14, 10, 6.5 และ 5.5 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) และ F มีวงใสขนาด 17.5, 14.5, 13.5 และ 11.5 มิลลิเมตร (ตามลำดับ) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบ Well diffusion agar

| Specimen | Control-CHL (mm.) | 100% (mm.) | 50% (mm.) | 25% (mm.) | 12.5% (mm.) |
|-----------|----------------------|---------------|--------------|--------------|----------------|
| A | 18.00 | 16.00 | 12.50 | 11.00 | 9.50 |
| B | 17.00 | 15.50 | 12.50 | 11.00 | 10.50 |
| C | 18.00 | 13.00 | 11.00 | 10.00 | 9.50 |
| D | 18.00 | 15.50 | 11.50 | 11.50 | 6.50 |
| E | 18.00 | 14.00 | 10.00 | 6.50 | 5.50 |
| F | 17.00 | 17.50 | 14.50 | 13.50 | 11.50 |
| Mean±SD | 17.67±0.516 | 15.25±1.57 | 12.00±1.55 | 10.58±2.31 | 8.83±2.34 |
| (Min-Max) | (17-18) | (13-17) | (10-14.5) | (6.5-13.5) | (5.5-11.5) |

CHL; Chloramphenicol, %; Concentration of *Glycyrrhiza glabra* crude extract

ทำการวิเคราะห์ผลโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังตารางที่ 4 และวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (Statistics Package for the Social Sciences; SPSS v.24) โดยเทียบกับยาที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม ดังภาพที่ 2

ตารางที่ 4 อัตราร้อยละการยับยั้งเชื้อของสารสกัดรากชะเอมเทศต่อยาที่เป็นกลุ่มควบคุม

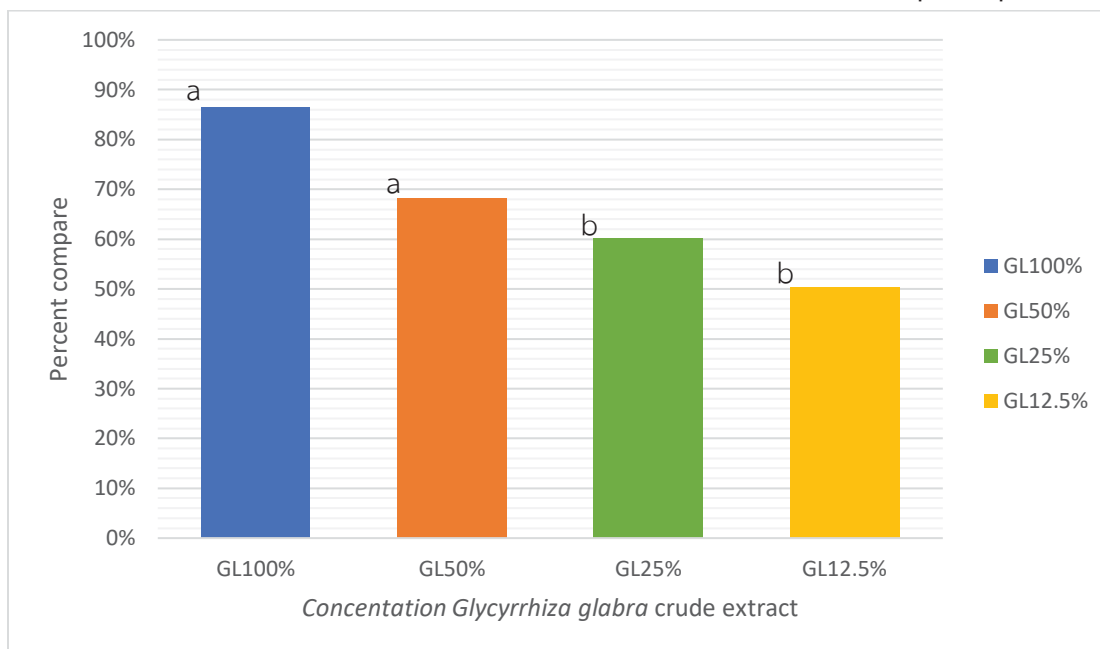
| Specimen | 100% (%) | 50% (%) | 25% (%) | 12.5% (%) |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| A | 88.88 | 69.44 | 61.11 | 52.77 |
| B | 91.17 | 73.52 | 64.70 | 61.76 |
| C | 72.22 | 61.11 | 55.55 | 52.77 |
| D | 86.11 | 63.88 | 63.88 | 36.11 |
| E | 77.77 | 55.55 | 36.11 | 30.55 |
| F | 102.94 | 85.29 | 79.41 | 67.64 |
| Mean±SD | 86.51±10.75 ^a | 68.13±10.49 ^a | 60.12±14.18 ^b | 50.26±14.39 ^b |
| (Min-Max) | (72.22-102.94) | (55.55-85.29) | (36.11-79.41) | (30.55-67.64) |

%; Concentration of *Glycyrrhiza glabra* crude extract : Chloramphenicol 30 µg

a and b; Significance different ($p < 0.05$), Formula = $\frac{\text{Sample(mm.)} \times 100\%}{\text{Control(mm.)}}$

Control(mm.)

ภาพที่ 2 อัตราร้อยละการยับยั้งเชื้อของสารสกัดรากชะเอมเทศต่อยาที่เป็นกลุ่มควบคุม



a and b; Significance different ($p < 0.05$)

GL100%; *Glycyrrhiza glabra* crude extract conc 100%: Chloramphenicol 30 µg.

GL50%; *Glycyrrhiza glabra* crude extract conc 50%: Chloramphenicol 30 µg.

GL25%; *Glycyrrhiza glabra* crude extract conc 25%: Chloramphenicol 30 µg.

GL12.5%; *Glycyrrhiza glabra* crude extract conc 12.5%: Chloramphenicol 30 µg.

สรุปผลการวิจัย

จากวิเคราะห์ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อสเตรปโตคอคคัสของสารสกัดจากรากชะเอมเทศในห้องปฏิบัติการ โดยวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งและทำลายแบคทีเรีย ด้วยวิธีหาค่าปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะที่ต้องใช้ในการหยุดยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration test ; MIC) อ่านผลจากการทำไมโครไดลูชัน (microdilution) ในไมโครเพลท และยืนยันผลด้วยค่าปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะที่ต้องใช้ในการกำจัดแบคทีเรีย (Minimum bactericidal concentration test; MBC) บนอาหารเลี้ยงเชื้อโบว์นบ์ลัดอะการ์ (Bovine blood agar) ผลการทดสอบได้ว่าสามารถยับยั้งได้ที่มีความเข้มข้น 15-20%

อภิปรายผล

งานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างจากรอยโรคการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังสุนัขที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ อำเภอบึงสามพัน จังหวัดสุพรรณบุรี โดยเก็บตัวอย่างจากรอยโรคที่เกิดตุ่ม (Papule หรือ Pustule) ที่สงสัยว่าเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในกลุ่มเชื้อสเตรปโตคอคคัสซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อโรคให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในสุนัขได้บ่อย จากผลการวิจัยพบว่า สารสกัดจากรากชะเอมเทศสามารถยับยั้งเชื้อกลุ่มศึกษาได้ ดังสอดคล้องงานวิจัยในการทดสอบฤทธิ์สารสกัดจากรากชะเอมเทศต่อเชื้อก่อโรค ให้ผลว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ อีกทั้งสารสกัดมีสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มสเตรปโตคอคคัส เช่น เชื้อสเตรปโตคอคคัส ไพโอจีนัส (*Streptococcus pyogenes*) อีกทั้งการศึกษาจากเชื้ออื่นเช่น เชื้อสแตฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส เฟคาลิส (*Enterococcus faecalis*), เชื้อเอชเชอริเชียโคไล (*Escherichia coli*), เชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทน (*Streptococcus mutans*) และเชื้อแอคติโนมัยเซสซิสโคซัส (*Actinomyces viscosus*) (Nirmala and Selvaraj, 2011 และ Shapna et al., 2010) รวมถึงการทดสอบที่ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดรากชะเอมกับเชื้อบริเวณผิวหนัง โดยศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส ผลที่ได้คือสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อได้ (Karahana et al., 2016) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ และสารสกัดมีฤทธิ์ในการลดการอักเสบที่เกิดจากการแพ้ได้

สารสกัดรากชะเอมเทศในงานวิจัยครั้งนี้เป็นสารสกัดที่อาศัยเอทานอลในการสกัดจากการหาค่าปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะที่ต้องใช้ในการหยุดยั้งเชื้อแบคทีเรียและยืนยันผลด้วย ค่าปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะที่ต้องใช้ในการกำจัดแบคทีเรียที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตรปโตคอคคัสที่ความเข้มข้น 15-20 % ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้สารสกัดจากรากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตรปโตคอคคัสซึ่งมีงานวิจัยว่าสารสกัดจากรากชะเอมเทศมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มศึกษา ดังผลที่เคยรายงานในเขตพื้นที่อื่น อีกทั้งการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งของสารสกัดจากรากชะเอมเทศต่อเชื้อกลุ่มศึกษามีจำนวนไม่มาก ในรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสารออกฤทธิ์ภายในชะเอมเทศที่ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียคือ กรดไกลเซอร์ไรซินิก สารไกลเซอร์ไรซิน สารกลาไบรดิน สารลิวคิโรดีนิน สารไลโคซาล-คอน เอ และ อี ที่เป็นสารสำคัญชนิดภายในองค์ประกอบของพืชชนิดนี้ที่มีการทดสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัสได้บางสายพันธุ์ และมีรายงานในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกอีกหลายสายพันธุ์มากกว่าแกรมลบ (Gupta et al., 2008) ในรายงานวิจัยครั้งนี้สารสกัดรากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) จากผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดรากชะเอมเทศในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มของเชื้อสเตรปโตคอคคัสในพื้นที่ศึกษาได้ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งสามารถนำข้อมูลการวิเคราะห์ไปปรับใช้กับการทดสอบอื่นที่ต้องการความเข้มข้นที่สารสกัดรากชะเอมเทศสามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มศึกษาได้รวมถึงเป็นข้อมูลที่ใช้ในการอ้างอิงความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus spp.*)

ด้วยเหตุนี้สารสกัดจากรากชะเอมเทศจึงเป็นสารสกัดที่เป็นองค์ประกอบในทางเวชศาสตร์ยาและเวชศาสตร์เครื่องสำอางที่ได้รับความสนใจ ในทางการสัตวแพทย์สารสกัดจากรากชะเอมเทศจากการทดลองงานวิจัยนี้และการทดลองงานวิจัยก่อนหน้านี้ว่าด้วยฤทธิ์ของสารสกัดจากรากชะเอมเทศที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยรูปแบบในการนำไปใช้มีหลายรูปแบบ เช่น สเปรย์ ครีม โทนนอร์ และยา เป็นต้น ทั้งนี้ปริมาณและขนาดยาหรือรูปแบบขึ้นอยู่กับกรนำไปใช้และวัตถุประสงค์ของสารที่จะนำไปรักษา ในการทดสอบทดสอบกับสัตว์ทดลองให้ผลการทดสอบหาปริมาณของสารที่ก่อผลเสีย ซึ่งความเป็นพิษค่อนข้างที่จะใช้สารปริมาณที่มาก จึงทำให้สารสกัดปลอดภัยด้วยเหตุนี้ในทางการสัตวแพทย์สารสกัดชะเอมเทศส่วนใหญ่จึงถูกใช้เป็นส่วนประกอบของเวชภัณฑ์เพื่อหวังผลในการรักษาเป็นการทำงานร่วมกันของสารสกัดและสารอื่นๆ

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้ทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์ของสารสกัดรากชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังในสุนัข ซึ่งเป็นกลุ่มเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) ในเขตพื้นที่ศึกษาได้ผลว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่มศึกษาได้ ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่สารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มตัวอย่าง จากการศึกษาได้เก็บตัวอย่างจากผิวหนังสุนัขที่พบรอยโรคซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นรอยโรคของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังชั้นกลาง ถ้านำฤทธิ์การยับยั้งเชื้อไปใช้สำหรับการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังชั้นลึก ควรศึกษาฤทธิ์หรือเภสัชกลศาสตร์ในการออกฤทธิ์ของสารสกัดรากชะเอม รวมถึงสารพฤษเคมีที่ออกฤทธิ์ได้เหมาะสมกับเชื้อที่ต้องการยับยั้งหรือชนิดของโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังที่ต้องการ โดยงานวิจัยฉบับนี้จะเป็นข้อมูลสำหรับผู้วิจัยท่านอื่นไปศึกษาถึงสารหรือองค์ประกอบภายในชะเอมเทศใดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่มตัวอย่าง หรือเป็นฐานข้อมูลสำหรับการอ้างอิงผลประสิทธิภาพฤทธิ์ของสารสกัดรากชะเอมเทศต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Alderman, D.J. and Smith, P. (2001). Development of draft protocols of standard Reference methods for antimicrobial agent susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases. *Aquaculture*, 3: 211-243.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.
- Bennett R.W. and Lancette G.A. (2003). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. U.S. Food and Drug Administration. from <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch> laboratory Methods.
- Brantner, A., Pfeiffer, KP. and Brantner, H. (1994). Applicability of diffusion methods required by the pharmacopoeias for testing antibacterial activity of natural compounds. *Traditional Chinese material: a respect and prospect*, 49: 512-6.

- CLSI. (2002). Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Approved standard M7-A4*, 38: 90-91.
- Damle, M. (2014). *Glycyrrhiza glabra* (Licorice) a potent medicinal herb. *International Journal of Herbal Medicine*, 2: 132-136.
- Eloff, J.N. (1998). A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. *Planta Med*, 64(8): 711-713.
- Gupta, V.K., Fatima, A., Faridi, U., Negi, A.S., Shanker, K., Kumar, J.K., Rahuja, N., Luqman, S., Sisodia, S.B., Saikia, D., Dorakar, M.P. and Khanuja, P.S. (2008). Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. *Ethnopharmacological communication*, 116: 377-380.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1989). Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford Science Publications*, 5: 905-961.
- Karahan, F., Avsar C., Ilker I., Ozyigit and Berber, I. (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of medicinal plant *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* from different habitats. *Biotechnology and Biotechnological equipment*, 30: 797-804.
- Livermore, D.M. (2005). Minimizing antibiotic resistance. *Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory*, 5(7):450-459.
- Murray, P.R., Baron, E. J., Jorgensen, J.J., Tenover, M.A., and Tenover, R.H. (2003). Manual of Clinical Microbiology. *American Society of Microbiology*, 8:1-2310.
- Nesbit, G.H. and Ackerman, L.J. (1998). Canine and Feline Dermatology Diagnosis and Treatment. *Veterinary Learning System*, 68: 404 - 408.
- Nirmala, P. and Selvaraj, T. (2011). Anti-inflammatory and anti-bacterial activities of *Glycyrrhiza glabra*. *Journal of Agricultural Technology*, 7: 815-823.
- Papich, M.G. (2016). Saunders Handbook of Veterinary Drugs. *Small and Large Animal Fourth Edition*, 58(7): 728.
- Sharma, V. and Agrawal, R. C. (2013). *Glycyrrhiza glabra* A Plant for the Future. *Mintage journal of pharmaceutical and medical sciences*, 2: 15-20.
- Shapna S, Afroza H, Kaiser H, Kaniz FU and Sumon, R. (2010). Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*. *Agric. Biol J N Am*, 1:957-960.
- Wang, L., Yang, R., Yuan, B., Liu, Y. and Liu, C. (2015). The antiviral and antimicrobial activities of licorice a widely used Chinese herb. *Chinese Pharmaceutical Association Institute of Materia Medical. Chinese Academy of Medical Sciences*, 5(4): 310-315.