โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ

ชื่อนิสิต นางสาวณัฏฐิกานต์ โอสถานนท์ **เลขประจำตัว** 5832315123

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

หัวข้อโครงงาน	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ
โดย	นางสาวณัฏฐิกานต์ โอสถานนท์ รหัสนิสิต 583 23151 23
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา
ปีการศึกษา	2561

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2312499 โครงงานวิทยาศาสตร์

..... หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีวานันท์ เดชอุปการ ศิริสมบูรณ์)

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ

การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ

นิสิตในโครงการ

นางสาวณัฏฐิกานต์ โอสถานนท์

รหัสประจำตัวนิสิต 5832315123

อาจารย์ที่ปรึกษาในโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ประจำปีการศึกษา 2561

ภาคจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ

นิสิตในโครงการ นางสาวณัฏฐิกานต์ โอสถานนท์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา

ภาคจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

โครงงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืช 9 ชนิด และศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชต่อยาปฏิชีวนะทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ กานามัยซิน ซิโพรฟลอกซาซิน สเตรปโทมัยซิน และแอมพิซิลลิน ในการต้านแบคทีเรียแกรมลบ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* MSCU 0349 และ *Salmonella* Typhimurium MSCU 0492 สารสกัดจากพืชทดสอบทุกชนิดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซีโตนและเมทานอลพบว่ามีสีที่แตกต่างกัน และผลการศึกษาถึงฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมลบของสารสกัดจากพืชก็พบว่ามีเพียงขัวยิ้งที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมทานอล และโป๊ยก๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ในการต้าน *E. coli* นอกจากนั้นยังพบว่าโป๊ยก๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดซึ่งมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนในการต้าน *S.* Typhimurium พบว่ามีเพียงขัวยิ้งและสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมทานอล และโป๊ยก๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนมีความสามารถต้านแบคทีเรียชนิดนี้ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าขัวยิ้งที่สกัดด้วยเมทานอลและโป๊ยก๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการทดสอบในการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดทั้ง 5 ชนิดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ได้พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 12.5 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงนำสารสกัดจากพืชมาศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะโดยคำนวณเป็นค่า FIC Index พบว่ามีเพียงสารสกัดจากโป๊ยก๊กที่สกัดโดยอะซีโตนให้ผลส่งเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินในการต้าน *E. coli* และมีค่า FIC Index เท่ากับ 0.50 ทั้งนี้จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าการรวมกันของสารทั้ง 2 ชนิดมีแนวโน้มที่ดีในการต้านแบคทีเรียแกรมลบจึงทำให้อาจเป็นทางเลือกใหม่ ๆ ในการนำสารทั้งสองมาใช้ประโยชน์ได้ต่อไปในอนาคต

Project title The synergistic effect of plant extracts and antibiotic against Gram negative bacteria

Investigator Natthikarn Osathanon

Advisor Assistant Professor Dr. Supat Chareonpornwattana

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

---

Abstract

This research aimed to study antibacterial activities of nine plant extracts and their synergistic effect with four antibiotics i.e. kanamycin, ciprofloxacin, streptomycin and ampicillin against two Gram negative bacteria, *Escherichia coli* MSCU 0349 and *Salmonella* Typhimurium MSCU 0492. The acetonic and methanolic extracts from nine different plants gave rise to different color and the result from determination of anti-Gram-negative activity of plant extracts indicated that acetonic and methanolic extracts from Cang zhu (*Allium villosum*) and acetonic extract from star anise (*Illicium verum*) were active against *E. coli*. Moreover, the acetonic extract from star anise exhibited the highest antimicrobial activity and the minimum inhibitory concentration (MIC) was 12.5 mg/ml. Regarding antimicrobial activity of *S.* Typhimurium, it was found that both of acetonic and methanolic extracts from Cang zhu and gambir (*Uncaria gambir*) and the acetonic extract from star anise were effective. In addition, both methanolic extract of Cang zhu and acetonic extract of star anise had the best antimicrobial activity and MIC were 12.5 mg/ml. The result of minimum bactericidal concentration (MBC) of five extracts varied ranging between 12.5 to 50 mg/ml. Afterward, the extracts from nine plants were tested for synergistic effect and the result showed that only the acetonic extract of star anise and streptomycin showed synergism against *E. coli* with FIC index of 0.50. The results from above experiment indicated that the combination of both substances was promising against Gram-negative bacteria which may be a new alternative for treating bacterial infection.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยโครงการเสริมประสบการณ์นี้จะสำเร็จลุล่วงด้วยดีไม่ได้ หากไม่ได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากอาจารย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาได้มอบความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ พร้อมกับอบรมสั่งสอนและเป็นกำลังใจที่ดีตลอดในการทำวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนได้ปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้รายงานฉบับนี้สมบูรณ์และสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ได้ตั้งไว้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่คอยให้ความรู้ คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดระยะเวลาการศึกษาและการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมสร้างประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้อนุเคราะห์เงินสนับสนุนงานวิจัย

ขอขอบพระคุณห้องวิจัย 1804/14 ที่ให้ยืมอุปกรณ์ต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์แก่การทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ นายธนภัทร จรูญเกียรติคุณ เพื่อนนิสิตร่วมโครงการที่คอยช่วยเหลือให้คำปรึกษาและให้กำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

ขอขอบคุณทั้งรุ่นพี่ เพื่อน รุ่นน้องทุกคนในภาควิชาจุลชีววิทยาและคณะอื่น ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีอย่างเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และสมาชิกในครอบครัวทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือกำลังใจและให้การสนับสนุนตลอดจนสำเร็จการศึกษา

นางสาวณัฏฐิกานต์ โอสถานนท์

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง	19
บทที่ 4 ผลการทดลอง	24
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	42
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก	52

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ตัวอย่างการศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะ	11
4.1	ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมทานอล	24
4.2	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *E. coli*	27
4.3	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *S.* Typhimurium	28
4.4	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์	30
4.5	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์	31
4.6	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์	33
4.7	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *E. coli*	36
4.8	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	37
ค.1	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขัวยิ้งร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *E. coli*	55
ค.2	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากขัวยิ้งร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	56
ค.3	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากโป๊ยกั๊กร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *E. coli*	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค.4	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากโป๊ยกั๊กร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	57
ค.5	การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	58

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	การค้นพบยาปฏิชีวนะ	2
1.2	การพยากรณ์อัตราการตายจากโรคติดเชื้อที่ดื้อยาเมื่อเทียบกับโรคอื่นในปี ค.ศ. 2050	3
1.3	สูตรโครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหย	7
4.1	ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมทานอล	25
4.2	ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* และ *S.* Typhimurium บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์	26
4.3	การยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *E. coli* ด้วยวิธี Disc diffusion	28
4.4	การยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *S.* Typhimurium ด้วยวิธี Disc diffusion	29
4.5	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli*	30
4.6	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium	30
4.7	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli*	32
4.8	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium	32
4.9	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *E. coli* บนอาหารแข็ง	34
4.10	ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *S.* Typhimurium บนอาหารแข็ง	34

สารบัญภาพ (ต่อ)

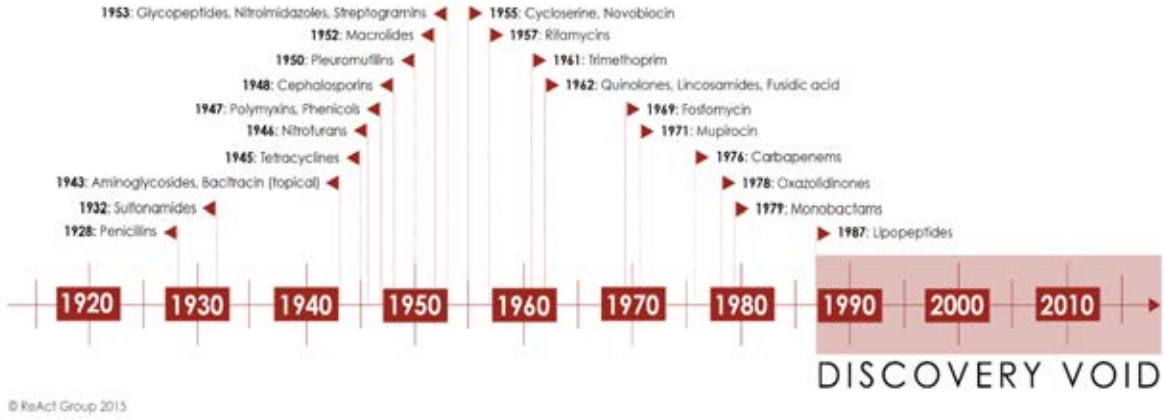
ภาพที่		หน้า
4.11	การเสริมฤทธิ์ระหว่างซัวยิ้งที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *E. coli*	38
4.12	การเสริมฤทธิ์ระหว่างซัวยิ้งที่สกัดโดยเมทานอลและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *E. coli*	38
4.13	การเสริมฤทธิ์ระหว่างโป๊ยก๊กที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *E. coli*	39
4.14	การเสริมฤทธิ์ระหว่างซัวยิ้งที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	39
4.15	การเสริมฤทธิ์ระหว่างซัวยิ้งที่สกัดโดยเมทานอลและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	40
4.16	การเสริมฤทธิ์ระหว่างโป๊ยก๊กที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	40
4.17	การเสริมฤทธิ์ระหว่างสีเสียดเทศที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	41
4.18	การเสริมฤทธิ์ระหว่างสีเสียดเทศที่สกัดโดยเมทานอลและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium	41

บทที่ 1

บทนำ

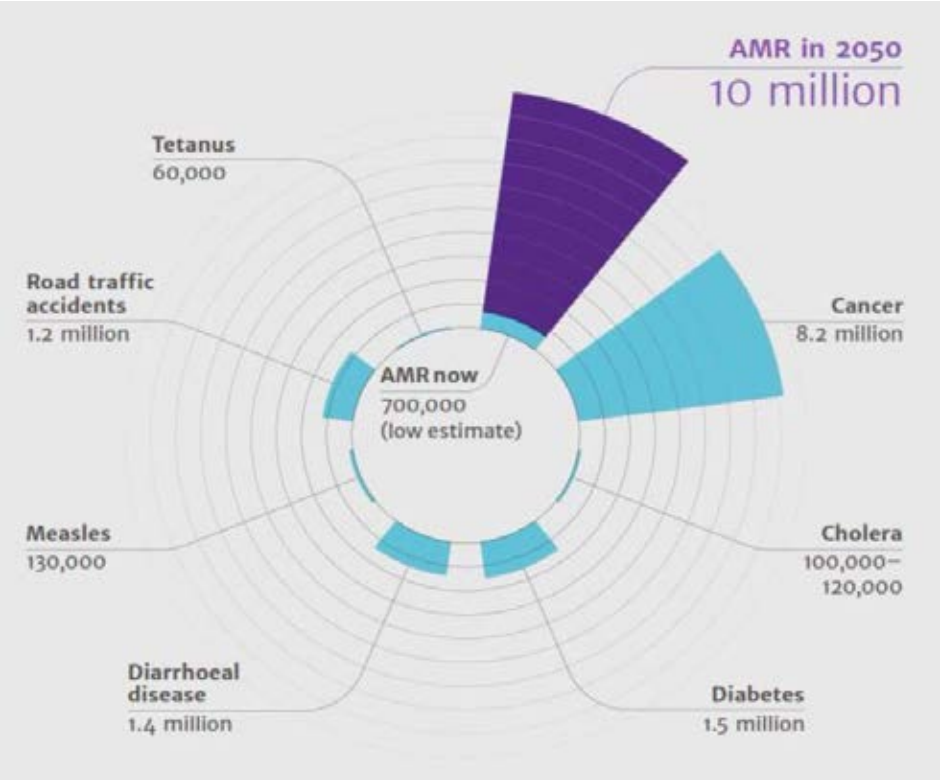
ยาปฏิชีวนะ เป็นยาที่มีฤทธิ์ในการฆ่า ทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยมีประวัติการคิดค้นมาอย่างยาวนานนับตั้งแต่ ศตวรรษที่ 19 ที่มีผู้คนเสียชีวิตเป็นจำนวนมากจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Zaffiri และคณะ, 2012) ซึ่งถือว่าเป็นการค้นพบครั้งยิ่งใหญ่ของมวลมนุษยชาติ เนื่องจากสามารถช่วยชีวิตคนนับล้านจากการติดเชื้อแบคทีเรียได้ทำให้ยานี้ถูกขนานนามว่า “ยาปาฏิหาริย์” (miracle drug) (Carlet และคณะ, 2011) และในเวลาต่อมาได้มีการคิดค้นยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายดังแสดงในภาพที่ 1.1 เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียซึ่งสามารถจัดจำแนกยาปฏิชีวนะตามกลไกลการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันได้หลายกลุ่ม เช่น กลุ่มยาเพนิซิลลิน (penicillin) กลุ่มยาเตตราไซคลีน (tetracycline) และกลุ่มยาอะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycosides) เป็นต้น (Aminov, 2017) ทั้งนี้ในช่วง 60 ปีที่ผ่านมามีการคิดค้นยาปฏิชีวนะที่เพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังมีการใช้ยาเหล่านี้รักษาโรคติดเชื้อกันอย่างกว้างขวางแต่ปัจจุบันประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะกลับลดลงเป็นอย่างมากเนื่องจากแบคทีเรียมีการปรับตัวให้ดื้อต่อยาปฏิชีวนะและพบว่ามีการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาอย่างรวดเร็วเนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้สามารถส่งผ่านยีนที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ (Lerminiaux และ Cameron, 2019) ส่งผลให้ยาปฏิชีวนะที่อดีตเคยใช้ได้ผลดีกลับใช้ไม่ได้ผลแล้วในปัจจุบันและแนวโน้มของการดื้อต่อยาปฏิชีวนะก็ยิ่งเพิ่มขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมาซึ่งสวนทางกับการคิดค้นยาปฏิชีวนะที่กลับลดลง อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ. 2015 ได้มีการรายงานว่าสามารถคิดค้นยาปฏิชีวนะตัวใหม่ (Ling และคณะ, 2015) ที่สามารถต้านเพียงแบคทีเรียแกรมบวกแต่ไม่สามารถต้านแบคทีเรียแกรมลบที่ดื้อต่อยาหลายขนานและเป็นปัญหาในปัจจุบันได้ทำให้ภาคอุตสาหกรรมยาเล็งเห็นว่าเป็นการลงทุนที่ไม่คุ้มค่าเนื่องจากแบคทีเรียมีการพัฒนาตัวเองให้ดื้อต่อยาอย่างรวดเร็วจึงทำให้ขายยาปฏิชีวนะเหล่านี้ได้เพียงระยะเวลาอันสั้น ฉะนั้นองค์การอนามัยโลกจึงประกาศว่าโลกกำลังเข้าสู่ “ยุคหลังยาปฏิชีวนะ” (World Health Organization, 2015) เนื่องจากมีการดื้อยาของเชื้อเพิ่มมากขึ้นแต่ประสิทธิภาพของยากลับลดลงและไม่สามารถคิดค้นยาชนิดใหม่มาทดแทนได้ ซึ่งถือว่าเป็นปัญหาร้ายแรงและต้องได้รับการควบคุมการระบาดของเชื้อดื้อยาเหล่านี้ อีกทั้งยังต้องศึกษา

และพัฒนาองค์ความรู้ให้เข้าใจถึงกระบวนการทางพันธุกรรมของเชื้อในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะรวมถึงจะต้องช่วยกันรณรงค์ให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างถูกต้องและเหมาะสม



ภาพที่ 1.1 การค้นพบยาปฏิชีวนะ (Silver, 2011)

ผลกระทบของการดื้อยาปฏิชีวนะจะเห็นว่านับวันเชื้อดื้อยาถือว่าเป็นปัญหาต่อระบบสุขภาพมากยิ่งขึ้น โดยคาดการณ์ว่าทั่วโลกมีผู้เสียชีวิตจากโรคติดเชื้อที่ดื้อยา จำนวน 7 แสน ถึง หลายล้านคนต่อปี (World Health Organization, 2014) และจะสูงมากขึ้นเป็น 10 ล้านคน ในปี ค.ศ. 2050 ซึ่งสูงกว่าการตายจากโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน หรือ โรคติดเชื้อหลายชนิด ดังแสดงในภาพที่ 1.2 และนอกจากนี้สามารถประเมินเป็นความสูญเสียทางเศรษฐกิจถึงปีละประมาณ 66 ล้านล้านปอนด์หรือ 100 ล้านล้านเหรียญ อาจกล่าวได้ว่าการติดเชื้อดื้อยานี้จะฆ่าผู้คนให้เสียชีวิตได้มากมายยิ่งกว่าระเบิดนิวเคลียร์ถึงประมาณ 50 เท่า และอาจทำให้เศรษฐกิจโลกชะลอตัวลงอย่างมาก



ภาพที่ 1.2 การพยากรณ์อัตราการตายจากโรคติดเชื้อที่ดื้อยาเมื่อเทียบกับโรคอื่น ในปี ค.ศ. 2050 (Ventola, 2015)

สำหรับประเทศไทยปัญหาการดื้อยาจัดว่าเป็นปัญหาที่รุนแรงเช่นเดียวกับทั่วโลกโดยมีการศึกษาของ ภาณุมาศ ภูมาศ และคณะที่ตีพิมพ์ในวารสารวิจัยระบบสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2555 ผู้ป่วยประมาณ 88,000 รายที่มีการติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาลทั่วประเทศ ส่งผลให้ผู้ป่วยต้องนอนในโรงพยาบาลเพิ่มขึ้น 3.2 ล้านวัน และเพิ่มค่าใช้จ่ายทางตรง เป็นเงิน 2,400-5,800 ล้านบาท พร้อมกับค่าใช้จ่ายทางอ้อมจากการตายก่อนวัยอันควร เป็นเงินอย่างน้อย 1,100 ล้านบาท และเป็นสาเหตุการตายได้สูงถึง 38,481 คนต่อปี นอกจากนี้ยังพบว่าการติดเชื้อส่วนใหญ่และทำให้เป็นปัญหาการดื้อยาที่สำคัญคือ การติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ โดยมีการดื้อยาของแบคทีเรียแกรมลบทั้งในโรงพยาบาลชุมชน รวมถึงเป็นปัญหาในการเลี้ยงสัตว์และมีการปนเปื้อนในอาหารอีกด้วย (ภาณุมาศ และคณะ, 2555)

นอกจากปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะแล้วยังพบว่าเมื่อใช้ยาปฏิชีวนะติดต่อกันเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดอาการข้างเคียงต่าง ๆ จากการใช้ยาได้ (Singh และคณะ, 2014) ตั้งแต่อาการเล็กน้อย เช่น ท้องเสีย มีผื่นคัน หรืออาจก่อให้เกิดลมพิษ เป็นต้น จนถึงอาการรุนแรงที่อาจทำให้เข้าสู่ภาวะช็อก หรือที่เรียกว่า การช็อกเหตุแอนาฟิแล็กซิส (anaphylactic shock) ยกตัวอย่างเช่น การแพ้ยาเพนิซิลลินที่มีการรายงานว่าทำให้เกิดภาวะช็อกจนนำไปสู่การเสียชีวิตได้ (Farber และคณะ, 1954) แต่ทั้งนี้ผลข้างเคียงเหล่านี้ที่เกิดขึ้นนั้นจะมีมากหรือน้อยขึ้นกับ ชนิด ขนาด และวิธีรับประทานยาปฏิชีวนะ จากปัญหาที่ได้กล่าวมาข้างต้นทำให้เห็นว่าปัญหาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียและผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะนั้นถือว่าเป็นเรื่องสำคัญและเป็นปัญหาที่ต้องได้รับการแก้ไขอย่างเร่งด่วน ฉะนั้นจึงมีการศึกษาถึง การนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น สมุนไพร ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียและมีความปลอดภัยมากกว่า มาใช้แทนยาเหล่านี้ เพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะต่อไป

พืชสมุนไพร (medicinal plant) ความหมายตามพระราชบัญญัติยา หมายถึง ยาที่ได้มาจากพืชที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพโครงสร้างภายใน สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ และสามารถใช้บำรุงร่างกายได้ ซึ่งพืชสมุนไพรที่ถูกใช้เป็นยาสามารถนำมาจากหลายส่วนของพืช เช่น ใบ ดอก ผล เปลือกผล เมล็ด เปลือกเมล็ด รากหรือหัว ต้น แก่น กระพี้ เนื้อไม้ เปลือกไม้ เป็นต้น มนุษย์ในสมัยโบราณได้เสาะแสวงหาสมุนไพรเพื่อนำมาใช้เป็นอาหาร เชื้อเพลิง และใช้เป็นยาป้องกันบำบัดรักษาโรคและมีการถ่ายทอดสืบต่อ ๆ กันมาทำให้เกิดเป็นยาแผนโบราณ (traditional medicine) (Sofowora, 1996) ซึ่งพืชสมุนไพรถูกค้นพบว่ามีฤทธิ์ที่ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและมีสรรพคุณในการช่วยรักษาอาการพื้นฐานต่าง ๆ ได้ เช่น บรรเทาอาการท้องผูก บรรเทาอาการท้องเสีย บรรเทาอาการคลื่นไส้ อาเจียน หรือ ใช้รักษาอาการทางระบบผิวหนัง เป็นต้น ทั้งนี้จึงมีการศึกษาถึงสรรพคุณทางยาของพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายและเป็นที่นิยมในหลายประเทศทั่วโลก เช่น ว่านหางจระเข้ (aloevera) ที่มีรายงานว่าเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญในการใช้เป็นยาที่มีมาอย่างช้านานและสามารถใช้ในการรักษาแผลสด แผลเรื้อรัง แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวกอีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ รวมถึงสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ (Baby Joseph, 2010) และนอกจากนั้นแล้วยังมีการรายงานว่า อบเชย (cinnamon) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายและสามารถใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืชนำมาทำเป็นยาได้ทั้ง ใบ เปลือก และราก นอกจากนั้นแล้วอบเชยยังมีคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรีย

และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระรวมถึงสามารถต้านการอักเสบได้ (Gruenwald และคณะ, 2010) เป็นต้น นอกจากที่กล่าวมาข้างต้นยังพบว่ามีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีสรรพคุณทางยาที่ดีและเป็นที่ยอมรับทั่วโลกรวมถึงยังมีการใช้กันมาเป็นเวลาช้านานทำให้สามารถนำมาเป็นทางเลือกในการรักษาในปัจจุบันได้ และในประเทศไทยพืชสมุนไพรถือว่ามีผู้ให้ความสนใจมากขึ้นโดยมีประกาศจากกระทรวงสาธารณสุขให้มีนโยบายส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานตามพระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญา แพทย์แผนไทย ให้มีการคุ้มครองภูมิปัญญาด้านการใช้สมุนไพรที่ระบุไว้ในพระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาแพทย์ แผนไทย ปี พ.ศ. 2542 จึงทำให้มีการใช้และศึกษาวิจัยสมุนไพรอย่างแพร่หลายมากขึ้น เพื่อนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์และเป็นทางเลือกในการรักษาโรคให้กับมนุษย์ในปัจจุบันมากขึ้น (สุพัฒน์ และคณะ, 2556)

พืชสมุนไพรแต่ละส่วน เช่น ราก ลำต้น ดอก ใบ ผล เมล็ด จะประกอบด้วยสารสำคัญหรือตัวยาที่มีฤทธิ์แตกต่างกันไป (DiCosmo และ Misawa, 1995) ซึ่งสารเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดสรรพคุณของสมุนไพรและชนิดรวมถึงปริมาณของสารเหล่านี้จะขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่ปลูกและช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวสมุนไพร (Verpoorte, 2009) ซึ่งตัวยาที่สำคัญในพืชสมุนไพรแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

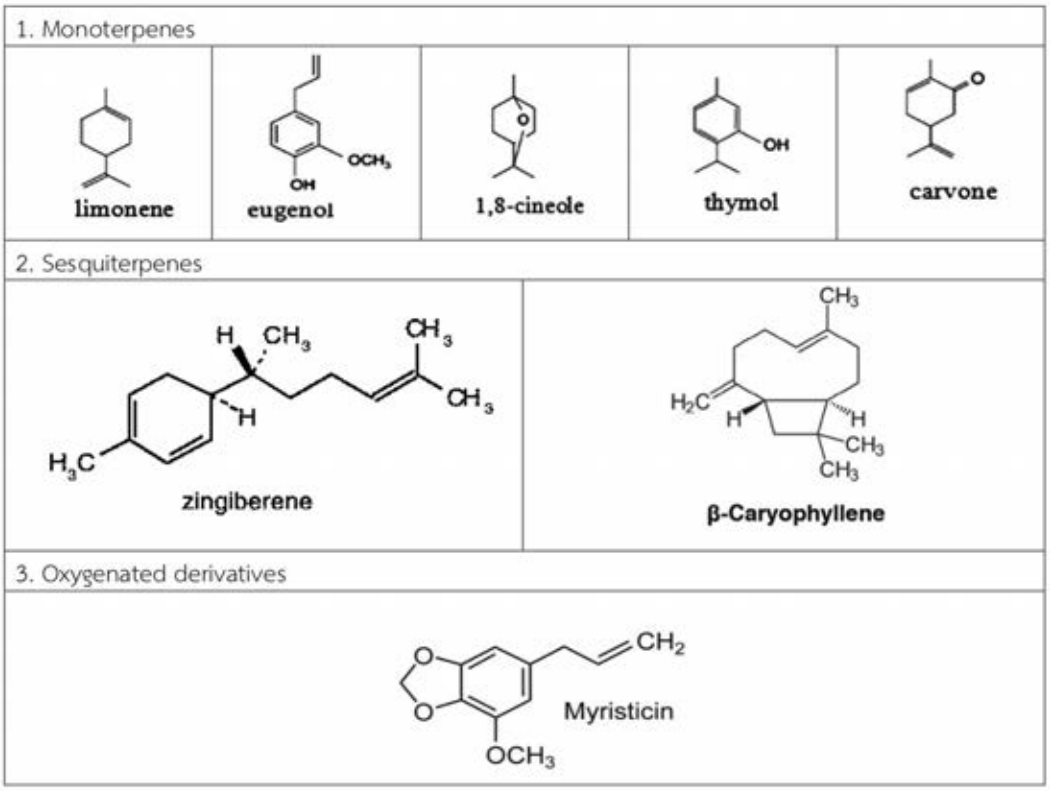
1. เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolite) เป็นสารสร้างขึ้นด้วยกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) พื้นฐานที่มีอยู่ในเซลล์พืชทั่วไปและเป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigment) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) เป็นต้น
2. เมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นสารที่ใช้เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ เป็นสารตั้งต้นและไม่จำเป็นต่อการคงชีพของสิ่งมีชีวิต แต่อาจมีบทบาทสำคัญต่อการอยู่ร่วมกัน หรือการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ซึ่งมีลักษณะค่อนข้างพิเศษและพบต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารประกอบประเภทนี้ เช่น แอลคาลอยด์ (alkaloid) แอนทราควิโนน (anthraquinone) และน้ำมันหอมมันหอมระเหย (essential oil) เป็นต้น

โดยส่วนใหญ่แล้วเมแทบอไลต์ทุติยภูมิมักจะมีจะสรรพคุณทางยา (Dornenburg และ Knorr, 1995) แต่จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารพวกเมแทบอไลต์ปฐมภูมิบางตัวก็ออกฤทธิ์ในการรักษาได้เช่นกัน (Balandrin และ Klocke, 1988) และยังมีข้อสังเกตอีกว่าสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางยาในพืชสมุนไพร

ชนิดหนึ่ง อาจมิใช่เพียงตัวเดียว อาจมีหลายตัวก็ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจที่ถ่องแท้ จึงจะสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางยามาใช้ได้

สารสกัดจากพืชสมุนไพร หมายถึงสารที่สกัดหรือแปรรูปจากพืชสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายหรือวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดเอาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาออกมา ตัวอย่างสารสำคัญที่สามารถพบได้ในพืชสมุนไพร เช่น แอลคาลอยด์ แทนนิน (tannin) และ น้ำมันหอมระเหย เป็นต้น โดยแอลคาลอยด์จัดว่าเป็นสารที่พบในพืชชั้นสูงพบบ้างในพืชชั้นต่ำและเป็นสารอินทรีย์ที่มีรสขมไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์และมักพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด เป็นต้น ซึ่งสารกลุ่มแอลคาลอยด์จัดว่ามีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัดโดยมีการศึกษาว่า ในยางฝิ่นมีมอร์ฟีนที่เป็นสารกลุ่มแอลคาลอยด์และถูกใช้เป็นยาแก้ปวดที่ดี (Szántay และคณะ, 1994) และนอกจากนั้นยังพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ในพืชตระกูลเบอร์รี เช่นใน *Berberis microphylla* ที่มีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ในหลายส่วนทั้งบริเวณราก ลำต้น และใบ โดยพืชชนิดนี้จัดว่าเป็นสมุนไพรที่ชนพื้นเมืองในแถบปาทาโกเนียใช้เป็นยารักษาอาการอักเสบ เป็นไข้ รวมไปถึงโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ (Manosalva และคณะ, 2016) ส่วนสารกลุ่มแทนนินถือว่าเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน สามารถพบในพืชทั่วไป และมีฤทธิ์ฝาดสมานจึงช่วยในเรื่องแก้ท้องเสีย แก้บิด แทนนินในพืชบางชนิดมีงานวิจัยว่าช่วยต้านมะเร็ง (Morton, 2008) นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าแทนนินในเปลือกมังคุดยังมีฤทธิ์ที่สำคัญในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวได้ (Pothitirat และคณะ, 2010) และสารที่สำคัญที่พบมากและมีความสำคัญที่จะยกตัวอย่างเป็นลำดับสุดท้ายได้แก่ น้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นน้ำมันที่พืชสร้างขึ้นและเก็บไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล ลำต้น ตลอดจนเมล็ดซึ่งจะพบแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดของพืชและพบว่าพืชที่มีกลิ่นหอม (aromatic plants) จะมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของสารหอมระเหยหลายสิบจนถึงหลายร้อยชนิดผสมกันแต่สารหอมระเหยเหล่านี้มักระเหยง่ายในอุณหภูมิปกติ อาจพบว่าเป็นของเหลวใสไม่มีสีหรือมีสีอ่อน ๆ และสารหอมระเหยต่าง ๆ เหล่านี้มักจะอยู่ในกลุ่มของไฮโดรคาร์บอน เทอร์พีน (hydrocarbon terpenes) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) พอลิเทอร์พีน (polyterpenes) และอนุพันธุ์ที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (oxygenated derivatives) (Mathew, 2017) สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารเหล่านี้ บางส่วนแสดงใน รูปที่ 1.3 น้ำมันหอมระเหยจัดว่ามีบทบาทในเครื่องอุปโภคบริโภคในรูปแบบต่าง ๆ ที่พบในเครื่องสำอาง น้ำหอม หรือเป็นองค์ประกอบในการทำยา ฉะนั้นน้ำมัน

หอมระเหยจึงเป็นสารประกอบเคมีจากสมุนไพรที่เกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันมากกว่าสารประกอบประเภทอื่น



ภาพที่ 1.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหย (พนิดา, 2561)

น้ำมันหอมระเหยจัดว่ามีบทบาทในตำรับยาแผนโบราณมาเป็นเวลาช้านาน ฉะนั้นจึงมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยไว้ดังนี้

1. ฤทธิ์ต่อระบบประสาท

น้ำมันหอมระเหยมีผลต่อทั้งระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลาย โดยส่งผลกระตุ้นระบบประสาททำให้รู้สึกตื่นตัว มีกำลัง สดชื่น อีกทั้งยังมีการศึกษาถึงฤทธิ์ในการรักษาอาการเครียดและโรคเกี่ยวกับสมองรวมถึงระบบประสาท เช่น โรคสมองเสื่อมและโรคพาร์กินสัน เป็นต้น (Dobetsberger และ Buchbauer, 2011) น้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทเช่น น้ำมันมะลิ น้ำมันโรสแมรี่ และ น้ำมันมะนาว เป็นต้น

2. ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร

น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในระบบทางเดินอาหารมักได้มาจากพืชวงศ์กะเพรา (*Lamiaceae*) เช่น กะเพรา โหระพา สะระแหน่ เป็นต้น เนื่องจากพืชวงศ์กะเพราที่กล่าวมาข้างต้นเป็นพืชที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวจึงทำให้นิยมนำมารับประทานและใช้ปรุงอาหารหลายชนิดเพื่อให้อาหารมีกลิ่นหอม และช่วยดับกลิ่นคาว รวมถึงการกินสดคู่กับอาหารชนิดอื่น นอกจากนั้นยังมีน้ำมันหอมระเหยจำนวนมากทำให้ใช้ใบไปสกัดน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้อีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางยาสามารถช่วยในการขับลม (Ross และ Brain, 1977) และต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Dharmani และคณะ, 2004) ได้อีกด้วย

3. ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินหายใจ

ช่วยละลายเสมหะ ขับเสมหะ แก้ไอ บรรเทาอาการคัดจมูก กระตุ้นทางเดินหายใจ ซึ่งองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติละลายเสมหะ ได้แก่ สารพวกคีโตน เช่น คาร์โวน และ เมนโทน ได้แก่ น้ำมันสน น้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันสะระแหน่ เป็นต้น และในปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินหายใจมากขึ้นเพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อลดปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาได้ (Horváth และ Ács, 2015)

4. ฤทธิ์ต่อระบบไหลเวียนเลือด หัวใจ และ หลอดเลือด

ช่วยกระตุ้นการไหลเวียนเลือดส่งผลให้หัวใจและสมองทำงานได้ดี น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ได้แก่ น้ำมันกุหลาบ น้ำมันกานพลู น้ำมันโรสแมรี่ เป็นต้น ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ช่วยลดการปวดไมเกรนและทำให้หลอดเลือดขยายอีกทั้งบางชนิดยังสามารถลดความดันเลือดในผู้ที่มีภาวะเครียดได้คือ น้ำมันลาเวนเดอร์ น้ำมันคาร์โมไมล์ น้ำมันสาระแหน่ น้ำมันสน และน้ำมันยูคาลิปตัส เป็นต้น

5. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

น้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบสำคัญที่เป็นสารประกอบฟีนอล สารประกอบแอลดีไฮด์ สารประกอบแอลกอฮอล์ สารประกอบเอสเทอร์และสารประกอบคีโตน ซึ่งสารจำพวกเทอร์พีนจะยับยั้งการทำงานของผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดยการส่งผ่านอิเล็กตรอน การเคลื่อนย้ายโปรตีนตลอดจนปฏิกิริยาต่าง ๆ ของเอนไซม์ส่งผลให้เซลล์ตายได้ (Turina และคณะ, 2006) และพบว่า

ในหลายประเทศทั่วโลกได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติในการต้านแคทีเรียของสารออกฤทธิ์ที่พบในพืชสมุนไพรท้องถิ่นอย่างแพร่หลาย ยกตัวอย่างเช่น ในน้ำมันพลูพบว่ามีสาร ไอโซยูจีนอล ชาวิคอล และ ยูจีนอล ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ (Subashkumar และคณะ, 2013) และนอกจากนั้นยังมีรายงานว่าในน้ำมันจากอบเชยที่มีสาร ไอโซเพนเทน ยูจีนอล และ ไอโคเซน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียและยีสต์ (Hili และคณะ, 1997) เป็นต้น

การแพทย์แผนปัจจุบันมุ่งเน้นการใช้ยา หรือสารเคมีเพื่อบำบัดอาการโดยการกดอาการไว้ ซึ่งโรคบางชนิดเป็นโรคเรื้อรังจึงต้องใช้ยาไปตลอดชีวิตและพบว่ารักษาไม่หาย จนในที่สุดผู้ป่วยนั้นก็ได้รับผลกระทบจากยาจนเกิดความทุกข์ทรมานหรืออาจก่อให้เกิดการดื้อยาของเชื้อทำให้ไม่มียาตัวไหนรักษาหายขาดได้ ในขณะที่การแพทย์แผนโบราณจะมุ่งเน้นการปรับสมดุลร่างกาย โดยถือว่าความเจ็บป่วยเกิดจากการเสียสมดุลพลังงานในร่างกาย จึงมีการคิดค้นวิธีการหลากหลายมาช่วยคืนความสมดุลให้กับร่างกาย เช่น การฝังเข็ม จัดกระดูก ล้างพิษ สมุนไพร เซลล์บำบัด ฯลฯ ซึ่งมีโอกาสหายจากโรคมากกว่า ส่วนจะช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับพยาธิสภาพของโรคนั้น ๆ ดังนั้น ในปัจจุบันวงการแพทย์ทั่วโลกยอมรับแนวคิดของแพทย์แผนโบราณมากขึ้น มีการวิจัยอย่างกว้างขวางเพื่อสนับสนุนแนวคิดและนำมาต่อยอด อีกทั้งใช้เทคโนโลยีเข้ามาเป็น ตัวช่วยอำนวยความสะดวก อย่างไรก็ตาม ส่วนดีของการแพทย์แผนปัจจุบันก็ยังมีอยู่ จึงมีการนำแนวคิดทั้งสองส่วนมารวมกัน เรียกว่า การรักษาแบบผสมผสาน (combination therapy) เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาอีกทั้งยังเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคให้ดียิ่งขึ้นอีกด้วย

การรักษาแบบผสมผสานโดยการนำยาปฏิชีวนะและสารสกัดจากสมุนไพรมาเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) กันเริ่มเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบันซึ่งวิธีนี้มีข้อดีหลายประการทั้งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและทำให้ลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะลงส่งผลให้สามารถลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาได้อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความเสถียรการดูดซึมตัวยาอีกด้วย (Chanda และ Rakholiya, 2011) นอกจากนั้นแล้วยังมีรายงานถึงการศึกษาการส่งเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะในการต้านจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังตัวอย่างต่อไปนี้ (ตารางที่ 1.1)

Souto de Oliveira และคณะ (2011) ได้ศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่างยาปฏิชีวนะ นอร์ฟลอกซาซิน เตตราไซคลีน และ อีรีโทรมัยซิน กับสารสกัดเอทานอลจากเปลือก *Mangifera indica* L. ในการต้าน *Staphylococcus aureus* ซึ่งผลพบว่าเมื่อใช้ยาปฏิชีวนะเพียงอย่าเดียวจะมี

ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) อยู่ที่ ≥ 2048 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อนำมาทดสอบร่วมกับสารสกัดจากพืชพบว่ายาปฏิชีวนะมีค่า MIC ลดลงสี่เท่า ดังนั้นการศึกษานี้จึงชี้ให้เห็นว่าเปลือกมะม่วงชนิดนี้สามารถใช้เป็นแหล่งเสริมฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่มีศักยภาพสูงได้

Adwan และคณะ (2009) ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดเอทานอลจากพืช *Rhus coriaria* L., *Psidium guajava* L., *Lawsonia inermis* L. และ *Sacropoterium spinosum* L. และยาปฏิชีวนะ ออกซิเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ เอนโรฟลอกซาซิน เจนตามัยซินซัลเฟต และซัลฟาไดเม็ททอกซีน ในการต้าน *S. aureus* ซึ่งผลการศึกพบว่าในการยับยั้งกลไกลการสังเคราะห์โปรตีนให้ผลเสริมฤทธิ์ที่สูงเมื่อเทียบกับการยังยั้งกลไกลอื่น ๆ

Adwan และคณะ (2010) ได้ศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดเอทานอลจากพืช *Rhus coriaria L.*, *Sacropoterium spinosum L.* และ *Rosa damascene Mill.* กับยาปฏิชีวนะ ออกซิเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ เพนิซิลลินจี เซฟาเลกซิน ซัลฟาไดเม็ททอกซีนโซเดียมและ เอนโรฟลอกซาซิน ในการต้าน *Pseudomonas aeruginosa* พบว่าการเสริมฤทธิ์กันของยาปฏิชีวนะและ *Rhus coriaria L.* ทำให้ค่า MIC ลดลงและมีประสิทธิภาพในการลดการแพร่กระจายของเชื้อ

Ahmed และคณะ (2010) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* ของยาปฏิชีวนะ เตตราไซคลีน และ เพนิซิลลิน และศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อเมื่อนำยาปฏิชีวนะมารวมกับสารสกัดเอทานอลของใบและลำต้นจากพืช *Salvadora persica* ซึ่งผลพบว่าเมื่อนำสารสกัดจากบริเวณลำต้นมารวมกับยา เตตราไซคลีน แล้วจะให้ผลเสริมฤทธิ์ที่สูงที่สุดแต่ต้องมีการศึกษาถึงความปลอดภัยของการรวมกันของสารสองชนิดต่อไปเพื่อที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในอนาคต

Odunbaku และคณะ (2008) ได้รายงานการเสริมฤทธิ์ระหว่างยาปฏิชีวนะและสารสกัดจากใบพืช *Ficus exasperata* Vahl ในการต้าน *Escherichia coli และ Staphylococcus albus* ซึ่งยาปฏิชีวนะที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้จะเลือกกลไกลที่หลากหลายในการต้านแบคทีเรีย เช่น การทำลายการสังเคราะห์โปรตีน กรดนิวคลีอิก และการสร้างผนังเซลล์ เป็นต้น โดยผลพบว่าสารสกัดจากพืชที่เสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ทำลายการสังเคราะห์โปรตีนให้ผลในการต้านแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมากที่สุด

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างการศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะ

พืชที่นำมาสกัด	ชนิดสารสกัด	ยาปฏิชีวนะ	จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Mangifera indica L. (Anacardiaceae)	เอทานอล	นอร์ฟลอกซาซิน, เตตราไซคลีน และ อีรีโทรมัยซิน	*Staphylococcus aureus*	(Oliveira และคณะ, 2011)
Rhus coriaria L. (Anacardiaceae), *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), *Lawsonia inermis* L. (Lythraceae), *Sacropoterium spinosum* L. (Rosaceae)	เอทานอล	ออกซิเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์, เอนโรฟลอกซาซิน, เจนตามัยซินซัลเฟต, ซัลฟาไดเม็ททอกซีน	*Staphylococcus aureus*	(Adwan และคณะ, 2009)
Rhus coriaria L. (Anacardiaceae), Sacropoterium spinosum L. (Rosaceae), Rosa damascene Mill. (Rosaceae)	เอทานอล	ออกซิเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์, เพนิซิลลินจี, เซฟาเลกซิน, ซัลฟาไดเม็ททอกซีนโซเดียมและเอนโรฟลอกซาซิน	*Pseudomonas aeruginosa*	(Adwan และคณะ, 2010)
Salvadora persica Wall. (Salvadoraceae)	เอทานอล	เตตราไซคลีน และ เพนิซิลลิน	*Staphylococcus aureus*	(Ahmed และคณะ, 2010)
Ficus exasperata Vahl (Moraceae)	เอทานอล	เจนตามัยซิน, เตตราไซคลีน, แอมพิซิลลิน, คลอแรมเฟนิคอล, อีรีโทรมัยซิน	*Escherichia coli* *Staphylococcus albus*	(Odunbaku และคณะ, 2008)

ในการศึกษาครั้งนี้สนใจเกี่ยวกับการเสริมฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะและสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบคือ *Escherichia coli* และ *Salmonella* Typhimurium ซึ่งจัดว่าเป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่สามารถก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และในการทดสอบการเสริมฤทธิ์นั้นจะเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบันมาทดสอบทั้งหมดสามกลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มเพนิซิลลิน (penicillin group) กลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolone group) และกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycoside group) ซึ่งยาทั้งสามกลุ่มจัดว่าเป็นยาที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal) และสามารถฆ่าได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและลบ (board spectrum) ส่วนสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบไปด้วยสมุนไพรไทยที่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ กระเทียม (*Allium sativum*) ขิง (*Zingiber officinale*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) พริกไทยดำ (*Piper nigrum*) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) และสีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) โดยสมุนไพรเหล่านี้จัดว่าเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณในการรักษาอาการต่าง ๆ เช่น บรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเสียหรือ ช่วยขับลมเป็นต้น และสมุนไพรจีน ได้แก่ โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*) ชังตุ๊ก (*Atractylodes lancea*) และซัวยิ้ง (*Amomum villosum*) ซึ่งโป๊ยกั๊กจัดว่าเป็นสมุนไพรจีนที่มีการใช้ในประเทศไทยอย่างแพร่หลายและเป็นที่รู้จักกันดีและมีสรรพคุณทางยามากมาย ส่วนชังตุ๊กและซัวยิ้งอาจเป็นสมุนไพรจีนที่ไม่ได้เป็นที่รู้จักมากนักแต่พบว่าชังตุ๊กนั้นมีฤทธิ์ต้านอาการปวด ต้านการอักเสบ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน รักษาแผลในกระเพาะอาหาร รวมถึงสามารถต้านแบคทีเรียได้ อีกทั้งยังมีการศึกษาและพบว่าชังตุ๊กนั้นประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดหนึ่งในนั้นคือ น้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นสารกลุ่มเซสควิเทอร์พีนและสารกลุ่มอื่น ๆ ที่มีประสิทธิภาพและมีฤทธิ์ทางยาที่ดี (Wang และคณะ, 2008) ส่วนซัวยิ้งนั้นถือว่าเป็นสมุนไพรจีนที่มีมูลค่าและสำคัญต่อเศรษฐกิจในประเทศจีนเนื่องจากมีฤทธิ์รักษาโรคทางเดินอาหาร (Zeng และคณะ, 1999) และมีการศึกษาพบว่า ซัวยิ้งประกอบไปด้วยสารสำคัญ เช่น น้ำมันหอมระเหยและสารกลุ่มโพลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านการอักเสบ และสามารถต้านแบคทีเรียได้อีกด้วย (Wu และคณะ, 2004)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าสมุนไพรที่นำมาศึกษานั้นมีประโยชน์และมีฤทธิ์ในการรักษาอาการต่าง ๆ ที่มีประสิทธิภาพจึงนำมาศึกษาการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อเป็นแนวคิดเบื้องต้นในการนำไปใช้ในการรักษาแบบผสมผสานอีกทั้งยังสามารถใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อเพื่อเป็นการ

แก้ไขปัญหายาปฏิชีวนะทั้งการดื้อยาปฏิชีวนะและผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะรวมถึงอาจเป็นวิธีทางเลือกใหม่ในการรักษาต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียจากสารสกัดจากพืชที่ใช้ทดสอบ

2. เพื่อศึกษาการส่งเสริมฤทธิ์กันระหว่างสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะในการต้านแบคทีเรียแกรมลบ

บทที่ 2

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบจากคลังจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. *Escherichia coli* MSCU 0349
2. *Salmonella* Typhimurium MSCU 0492

2.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง

1. กระเทียม (*Allium sativum*)
2. ขิง (*Zingiber officinale*)
3. ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*)
4. ชังตุ๊ก (*Atractylodes lancea*)
5. ซัวยิ้ง (*Amomum villosum*)
6. โป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*)
7. พริกไทยดำ (*Piper nigrum*)
8. มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*)
9. สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*)

2.3 ยาปฏิชีวนะ

1. กานามัยซิน (kanamycin) บริษัท Thai Meiji Pharmaceutical ประเทศไทย
2. ซิโพรฟลอกซาซิน (ciprofloxacin) บริษัท Cadila Healthcare ประเทศอินเดีย
3. สเตรปโทมัยซิน (streptomycin) บริษัท *General Drugs House* ประเทศไทย
4. แอมพิซิลลิน (ampicillin) บริษัท *General Drugs House* ประเทศไทย

2.4 อุปกรณ์

1. กรวยแก้ว (glass funnel) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร เซนติเมตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. กระดาษกรองเบอร์ 1 (filter paper) ขนาด 110 มิลลิเมตร บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
3. กระบอกฉีดยา (syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร บริษัท Nipro ประเทศไทย
4. กระบอกตวงขนาด 50, 100 และ 1000 มิลลิลิตร บริษัท *Nalgene* ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus บริษัท Olympus ประเทศญี่ปุ่น
6. ขวดดูแรนขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร บริษัท Scohtt ประเทศเยอรมัน
7. ขวดดูแรนขนาด 500 มิลลิลิตร บริษัท Kimax ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. ขวดตัวอย่างเครื่องระเหยสารแบบหมุนโดยระบบสุญญากาศ บริษัท EYELA ประเทศญี่ปุ่น
9. ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 50, 125, 500 และ 1000 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. ขวดสีชา
11. เครื่องเขย่า (shaker) รุ่น InnovaTM 2300 บริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
12. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) รุ่น InnovaTM 4300 บริษัท New Brunswick Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
13. เครื่องชั่งละเอียด รุ่น AG 285 บริษัท Metler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
14. เครื่องชั่งหยาบ รุ่น PG 2002-S บริษัท Metler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
15. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำ รุ่น ss-325 และ ES-315 บริษัท Tomy Digital Biology ประเทศญี่ปุ่น
16. เครื่องปั่น บริษัท Philips ประเทศเนเธอแลนด์
17. เครื่องปั่นเครื่องเหวี่ยงสารตกตะกอนขนาดเล็ก (spin down) บริษัท Tomy Digital Biology ประเทศญี่ปุ่น
18. เครื่องผสมสาร (vortex-genie2) รุ่น G560E บริษัท Scientific Industries Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

19. เครื่องระเหยสารแบบหมุนโดยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) บริษัท EYELA ประเทศญี่ปุ่น
20. เครื่องระเหยแห้งแบบปั่นเหวี่ยงโดยระบบสุญญากาศ (centrifuge evaporator) รุ่น eppendorf concentrator 5301 บริษัท Modotech ประเทศเยอรมัน
21. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Biomate-35 บริษัท Thermo Scientific ประเทศไทย
22. จานอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสติก (petri dish) ขนาด 90×15 มิลลิเมตร บริษัท Nest Biotechnology ประเทศจีน
23. ช้อนตักสาร
24. ตะเกียงแอลกอฮอล์
25. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส (incubator) รุ่น INE500 บริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน
26. ตู้เย็น (refrigerator) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส บริษัท Sharp ประเทศไทย
27. ตู้ลามินาโฟลว (laminar flow carbinet) CLEAN model. V4 บริษัท Lab service ประเทศไทย
28. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) บริษัท Contherm Scientific Limited ประเทศนิวซีแลนด์
29. ถุงพลาสติกหนาแบบทนร้อน
30. ถุงมือยาง บริษัท Sri Trung gloves ประเทศไทย
31. ที่วางหลอดทดลอง (test tube rack)
32. เทปกาวกระดาษ
33. เทปใส
34. บีกเกอร์ขนาด 50 และ 250 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
35. ปากคีบ (forceps)
36. ผ้าขาวบาง
37. แผ่นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
38. แผ่นพาราฟิล์ม บริษัท Bemis ประเทศสหรัฐอเมริกา
39. มัลติแชลแนลปิเปตต์ (multi-channel pipette) ขนาด 20 ถึง 200 ไมโครลิตร บริษัท Labnet International ประเทศสหรัฐอเมริกา

40. ไมโครปิเปตต์ (micropipette) ขนาด 20, 100 และ 1000 ไมโครลิตร บริษัท Gilson ประเทศฝรั่งเศส
41. ไมโครปิเปตต์ (micropipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร บริษัท BrandTech Scientific Inc. ประเทศอังกฤษ
42. ไมโครเพลต 96 หลุม (96 well plate) บริษัท Greiner bio-one ประเทศเยอรมัน
43. ไม้พันสำลี (cotton Stick)
44. หลอดทดลองขนาด 16x100 และ 16x150 มิลลิเมตร บริษัท Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา
45. หลอดทดลองขนาด 16x100 และ 16x150 มิลลิเมตร บริษัท Kimax ประเทศสหรัฐอเมริกา
46. หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (eppendorf) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร บริษัท Eppendorf ประเทศเยอรมัน
47. หัวกรองสำเร็จ (syringe filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
48. ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop)
49. ทิปขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร บริษัท TreffLab ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
50. ทิปขนาด 200 ไมโครลิตร บริษัท Thermo Scientific ประเทศฟินแลนด์
51. สำลี
52. อลูมิเนียมฟอยล์

2.5 สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (sulfuric) 95 % บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
2. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO) บริษัท Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
3. บีฟเอกซ์แทรกซ์ (beef Extract) HiMedia Laboratories ประเทศอินเดีย
4. แบเรียมคลอไรด์ (barium chloride) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
5. ผงวุ้น (agar) ตรานางเงือก ประเทศไทย
6. เพปโตน (peptone) บริษัท Difco Laboratories ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. เมทานอล (methanol) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
8. เรซาซูริน (resazurin) บริษัท Sigma Chemical ประเทศสหรัฐอเมริกา

9. สารละลายไอโอดีน (gram iodine solution)
10. สีแกรมคริสตัลไวโอเลต (gram crytal violet)
11. สีซาฟานิน โอ (gram safranin O)
12. อะซีโตน (acetone) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar บริษัท Difco Laboratories ประเทศสหรัฐอเมริกา
14. เอทานอล 95% (95% ethanol)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิดได้แก่ กระเทียมเม็ดใหญ่จะใช้ส่วนหัว ขิงและขมิ้นชันแก่ใช้ส่วนเหง้า พริกไทยดำ ซัวยิ้งและโป๊ยกั๊กตากแห้งใช้ส่วนผล ชังตุ๊กตากแห้งใช้ส่วนเหง้า สีเสียดเทศตากแห้งใช้ส่วนลำต้น และมะขามป้อมใช้ส่วนผลอ่อน มาล้างทำความสะอาดและหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้น นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นและชั่งพืชแต่ละชนิด 50 กรัม แล้วจึงเติมตัวทำละลายที่แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ อะซีโตนและเมทานอล 200 มิลลิลิตร จากนั้น นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องที่มีความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำสารที่สกัดได้มากรองผ่านผ้าขาวบางจากนั้นจึงกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วจึงนำสารสกัดจากพืชที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งตัวทำละลายแต่ละชนิดจะใช้ความดันที่แตกต่างกันโดยตัวทำละลายเป็นอะซีโตนจะใช้ความดัน 400 มิลลิบาร์ และหากตัวทำละลายเป็นเมทานอลจะใช้ความดัน 300 มิลลิบาร์ จนกระทั่งตัวทำละลายระเหยหมดแล้ว จึงเติมตัวทำละลายเดิมที่ใช้ในตอนแรกลงไปเล็กน้อยเพื่อชะเอาสารสกัดออกและนำสารสกัดที่ได้ใส่ในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ที่ผ่านการชั่งน้ำหนัก จากนั้น นำไประเหยตัวทำละลายออกอีกครั้งโดยใช้เครื่องระเหยแห้งแบบปั่นเหวี่ยงโดยระบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ให้ตัวทำละลายระเหยจนหมดแล้วจึงนำสารสกัดจากพืชมาละลายด้วย DMSO แล้วทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยหัวกรองสำเร็จ ขนาด 0.45 ไมโครเมตร และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำใช้ทดสอบอื่น ๆ ต่อไป

3.2 การเตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียสำหรับการทดสอบ

ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อนำโคโลนีของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์คือ *Escherichia coli* MSCU 0349 และ *Salmonella* Typhimurium MSCU 0492 ที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (nutrient agar) (ภาคผนวก ก) มา 1 โคโลนี ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วจึงปิเปตต์เซลล์

แบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปบ่มแบบเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนอาหารมีความขุ่นมาตรฐานเท่ากับ 0.5 Mcfarland standard ซึ่งทำให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/mL แล้วจึงใช้เป็นเชื้อทดสอบต่อไป (Wayne, 2011)

3.3 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชโดยวิธี Disc diffusion

ทำโดยวิธี Disc diffusion (Hudzicki, 2009) เริ่มจากการเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/mL หรือเท่ากับความขุ่น 0.5 Mcfarland standard จากนั้น ใช้ก้านสำลีปราศจากเชื้อมาจุ่มแล้วป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ทิ้งไว้จนผิวหน้าอาหารแห้ง แล้วจึงวางแผ่นกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (whatman) และปิเปตต์สารสกัดจากพืชแต่ละชนิด 20 ไมโครลิตรลงไปบนแผ่นกระดาษกรอง จากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร ซึ่งในการทดสอบจะใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซิน เป็นชุดควบคุมผลบวก (positive control) และ10% DMSO เป็นชุดควบคุมผลลบ (negative control)

3.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) ของยาปฏิชีวนะ โดยวิธี Broth microdilution

ทำการทดลองโดยการตรียมยาปฏิชีวนะปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน และแอมพิซิลลิน ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนยาปฏิชีวนะ ซิโพรฟลอกซาซิน ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตร และเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว จากนั้นเติมสารแขวนลอยแบคทีเรียที่เจือจางให้มีความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ลงในทุกหลุมของไมโครเพลตปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมเรซาซูริน 0.015% เพื่อบ่งชี้การเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ (Sarker และคณะ, 2007) โดยเติมลงไปปริมาตร 30 ไมโครลิตร ทุกหลุม และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอ่านผลหลังจากผ่านไป 4 ชั่วโมง จากนั้น บันทึกผลการทดลองโดยดูจากการเปลี่ยนสีของเรซาซูรินโดยหากมีการเจริญของจุลินทรีย์สีของเรซาซูรินจะเปลี่ยนจากสีม่วงกลายเป็นสีชมพู และในการทดสอบจะใช้ยาปฏิชีวนะ

ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลบวก และใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นชุดควบคุมผลลบ

3.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดจากพืช โดยวิธี Broth microdilution

ทำการทดลองโดยการเตรียมสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตร และเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว จากนั้น เติมสารแขวนลอยแบคทีเรียที่เจือจางให้มีความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ลงในทุกหลุมของไมโครเพลตปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้น นำมาเติมเรซาซูริน 0.015% เพื่อบ่งชี้การเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเติมลงไปปริมาตร 30 ไมโครลิตรทุกหลุม และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอ่านผลหลังจากผ่านไป 4 ชั่วโมง จากนั้น บันทึกผลการทดลองโดยดูจากการเปลี่ยนสีของเรซาซูริน และจะใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลบวก และ10% DMSO เป็นชุดควบคุมผลลบ

3.6 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (Minimum bactericidal concentration) ของสารสกัดจากพืช

เมื่อได้ผลการทดสอบหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) แล้วจึงนำมาทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (MBC) ต่อโดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเลือกจุ่มลงในหลุมที่มีความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC และความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MIC มาขีดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตโคโลนีที่ขึ้นและบันทึกผลค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

3.7 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อทดสอบ (Synergistic effect) ด้วยวิธี checkerboard

ในการทดสอบจะต้องเจืองจางสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะ โดยขั้นแรกจะเจือจางสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/4 เท่าของ MIC และปิเปตต์สารสกัดจากพืชที่เจือจางแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต จากนั้น จะเจือจางยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน แอมพิซิลลิน และ ซิโพรฟลอกซาซินให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/16 เท่าของ MIC และปิเปตต์ยาปฏิชีวนะที่เจือจางแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต แล้วจึงเติมเชื้อทดสอบความเข้มข้น 10^6 CFU/mL ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ฉะนั้นปริมาตรรวมทั้งหมดของแต่ละหลุมจะเท่ากับ 100 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลาเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเติม เรซาซูริน 0.015% เพื่อบ่งชี้การเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเติมลงไปปริมาตร 15 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอ่านผลหลังจากผ่านไป 4 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกผลการทดลองโดยดูจากการเปลี่ยนสีของเรซาซูรินซึ่งจะอ่านผลความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะและสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทั้งสองสายพันธุ์และประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะโดยนำมาคำนวณเป็นค่าดัชนีที่บ่งชี้ถึงการทำงานร่วมกันของสารสองชนิดหรือค่า fraction inhibitory concentration index (FICI) (Orhan และคณะ, 2005) ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังสูตร

$$\text{FIC index} = \text{FIC (A)} + \text{FIC (B)}$$

โดย FIC (A) คือ $\dfrac{\textbf{MIC} \text{ ของสารสกัดจากพืช}}{\textbf{MIC}\text{ของสารสกัดจากพืชรวมกับยาปฏิชีวนะ}}$

FIC (B) คือ $\dfrac{\textbf{MIC} \text{ ของยาปฏิชีวนะ}}{\textbf{MIC}\text{ของยาปฏิชีวนะรวมกับสารสกัดจากพืช}}$

สามารถแปลผลได้ดังนี้

FICI ≤ 0.5	หมายถึง เสริมฤทธิ์ (Synergistic)
0.5 < FICI ≤ 0.75	หมายถึง เสริมฤทธิ์บางส่วน (Partially synergistic)
0.75 < FICI ≤ 2	หมายถึง ไม่พบการเสริมฤทธิ์ (Non synergistic)
FICI > 2	หมายถึง ต้านฤทธิ์ (Antagonistic)

บทที่ 4

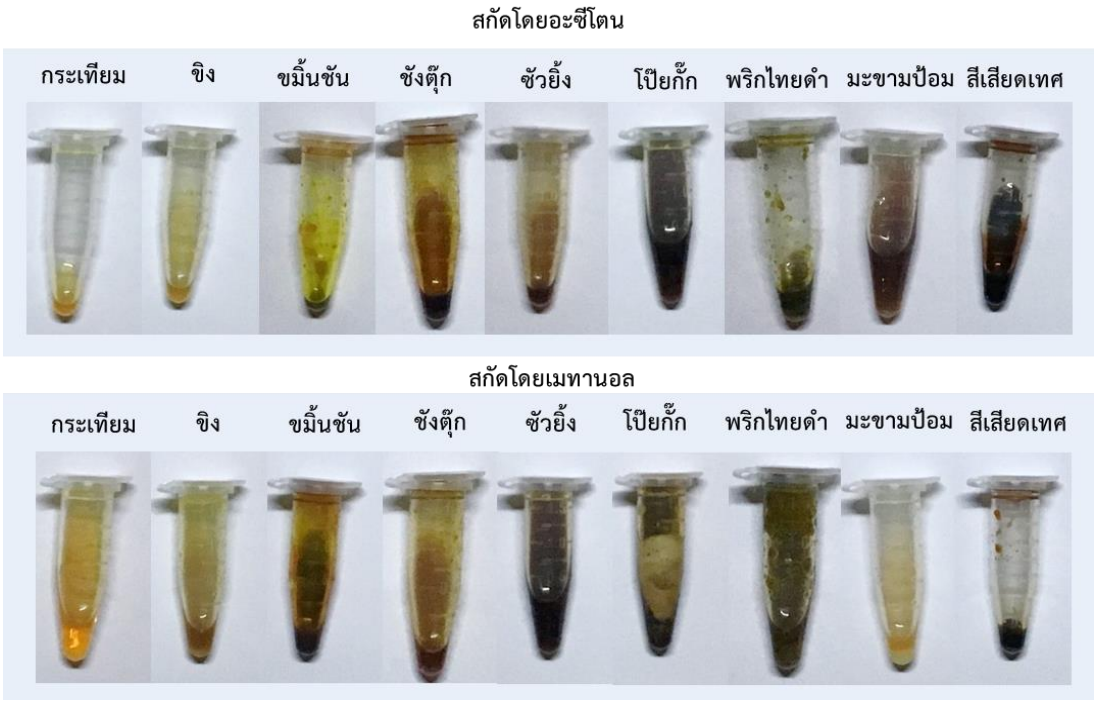
ผลการทดลอง

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากพืช

นำพืชที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ กระเทียม ขิง ขมิ้นชัน ชังตุ๊ก ชัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก พริกไทยดำ มะขามป้อม และ สีเสียดเทศ มาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ อะซีโตนและเมทานอล ซึ่งจะนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมากรองและนำตัวอย่างสารสกัดที่ได้ไประเหยเพื่อนำตัวทำละลายออก จากนั้นจะนำ DMSO มาใช้เป็นตัวละลายสารสกัดพร้อมทั้งกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยการกรองปลอดเชื้ออีกครั้ง ซึ่งสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะของสีที่ต่างกัน ดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมทานอล

พืช	ลักษณะของสารสกัด	
	สกัดโดยอะซีโตน	สกัดโดยเมทานอล
กระเทียม	สีเหลืองอ่อนลักษณะใส	สีเหลืองออกส้มและใส
ขิง	สีเหลืองออกน้ำตาลอ่อน	สีน้ำตาลอ่อน
ขมิ้นชัน	สีน้ำตาลเข้มออกแดง	สีน้ำตาลเข้มออกแดง
ชังตุ๊ก	สีน้ำตาลออกแดง	สีน้ำตาลเข้ม
ชัวยิ้ง	สีน้ำตาลเข้ม	สีน้ำตาลเข้มออกดำ
โป๊ยกั๊ก	สีน้ำตาลเข้มออกดำ	สีน้ำตาลเข้มออกดำ
พริกไทยดำ	สีเขียมเข้ม	สีเขียวเข้มปนดำ
มะขามป้อม	สีน้ำตาล	สีเหลืองใส
สีเสียดเทศ	สีน้ำตาลเข้มออกดำ	สีน้ำตาลเข้มออกดำ

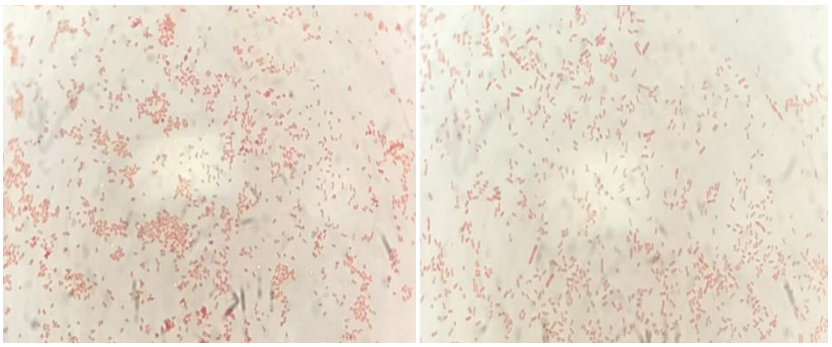


ภาพที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่สกัดด้วยอะซีโตนและเมทานอล

4.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เลี้ยงแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้ทดสอบสองสายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* MSCU 0349 และ *Salmonella* Typhimurium MSCU 0492 ที่ได้จากคลังจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าโคโลนีของ *E. coli* มีลักษณะกลม สีขาวใส ขอบเรียบ และโคโลนีของ *S.* Typhimurium มีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีขาวใส และมันวาว จากนั้นนำโคโลนีไปย้อมสีแบบ Gram stain และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าพบว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีรูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ดังภาพ 4.2

(ก) (ข)



(ค) (ง)

ภาพที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* (ก) และ *S.* Typhimurium (ข) บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ *E. coli* (ค) และ *S.* Typhimurium (ง)

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชโดยวิธี Disc diffusion

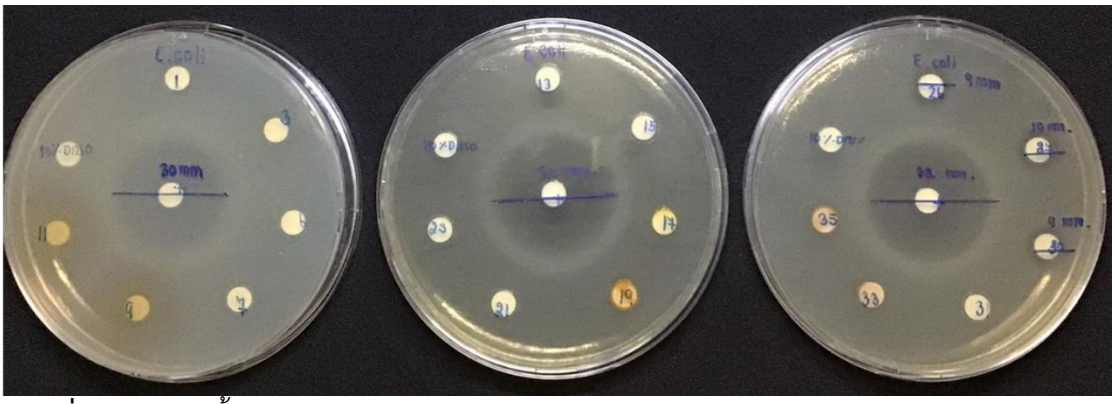
ทำการทดสอบโดยวิธี Disc diffusion โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/mL จากนั้นใช้ก้านสำลีปราศจากเชื้อมาจุ่มแล้วป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วจึงวางแผ่นกระดาษกรองและปิเปตต์สารสกัดจากพืชแต่ละชนิดปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงไปบนแผ่นกระดาษกรองและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งในการทดสอบจะใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินเป็นชุดควบคุมผลบวก และใช้ 10% DMSO เป็นชุดควบคุมผลลบ จากนั้นติดตามผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น จากตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.3 พบว่าสารสกัดจากพืชที่สกัดด้วยอะซีโตนในการยับยั้ง *E. coli* นั้นให้ผลค่าเฉลี่ยแสดงเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งจากซัวยิ้งและโป๊ยกั๊กซึ่งมีค่าเท่ากับ 8.67±0.58 และ 9.33±1.53

มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากพืชที่สกัดด้วยเมทานอลแสดงผลเพียง ชัวยิ้งที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 10.33±0.58 มิลลิเมตร และในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4 พบว่าสารสกัดจากชัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนในการยับยั้ง *S.* Typhimurium ให้ผลแสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่เป็น 8.67±0.58, 9.67±2.08 และ 11.33±0.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยเมทานอลพบว่ามีเพียงชัวยิ้งและสีเสียดเทศ ที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.67±0.58 และ 10.00±1.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนซิโพรฟลอกซาซินที่เป็นชุดควบคุมผลบวกจากตารางที่ 4.2 และ 4.3 พบว่ามีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 31.67±1.53 และ 31.67±3.51 มิลลิเมตร ตามลำดับ และใน 10% DMSO ที่เป็นชุดควบคุมผลลบพบว่าไม่มีบริเวณยับยั้งเกิดขึ้น

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *E. coli*

สารสกัดจากพืช	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (mean ± S.D.) (มิลลิเมตร)	
	สกัดโดยอะซีโตน	สกัดโดยเมทานอล
กระเทียม	NI	NI
ขิง	NI	NI
ขมิ้นชัน	NI	NI
ชังตุ๊ก	NI	NI
ชัวยิ้ง	8.67±0.58	10.33±0.58
โป๊ยกั๊ก	9.33±1.53	NI
พริกไทยดำ	NI	NI
มะขามป้อม	NI	NI
สีเสียดเทศ	NI	NI
ซิโพรฟลอกซาซิน	31.67±1.53	
10% DMSO	NI	

หมายเหตุ: NI = ไม่มีบริเวณยับยั้ง

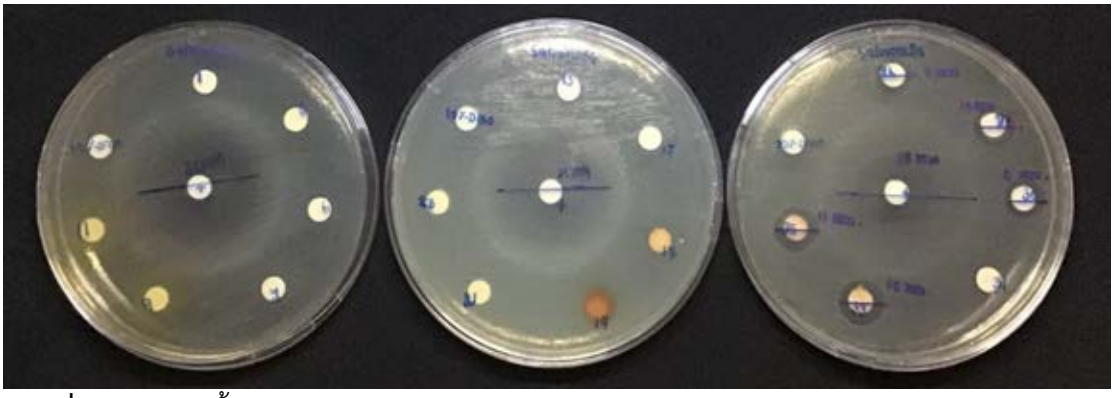


ภาพที่ 4.3 การยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *E. coli* ด้วยวิธี Disc diffusion

ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *S.* Typhimurium

สารสกัดจากพืช	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (mean ± S.D.) (มิลลิเมตร)	
	สกัดโดยอะซีโตน	สกัดโดยเมทานอล
กระเทียม	NI	NI
ขิง	NI	NI
ขมิ้นชัน	NI	NI
ชังตุ๊ก	NI	NI
ซัวยิ้ง	8.67±0.58	9.67±0.58
โป๊ยกั๊ก	9.67±2.08	NI
พริกไทยดำ	NI	NI
มะขามป้อม	NI	NI
สีเสียดเทศ	11.33±0.58	10.00±1.00
ซิโพรฟลอกซาซิน	31.67±3.51	
10% DMSO	NI	

หมายเหตุ: NI = ไม่มีบริเวณยับยั้ง



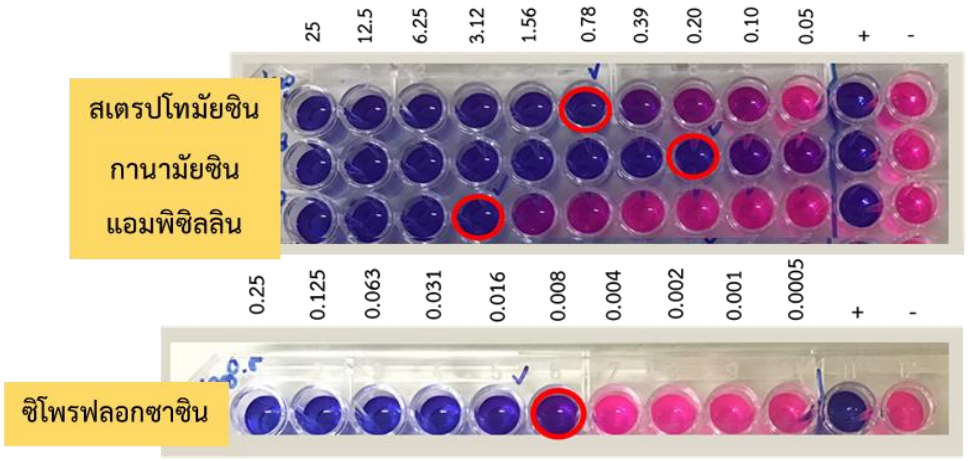
ภาพที่ 4.4 การยับยั้งของสารสกัดจากพืชต่อ *S.* Typhimurium ด้วยวิธี Disc diffusion

4.4 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) ของยาปฏิชีวนะ โดยวิธี Broth microdilution

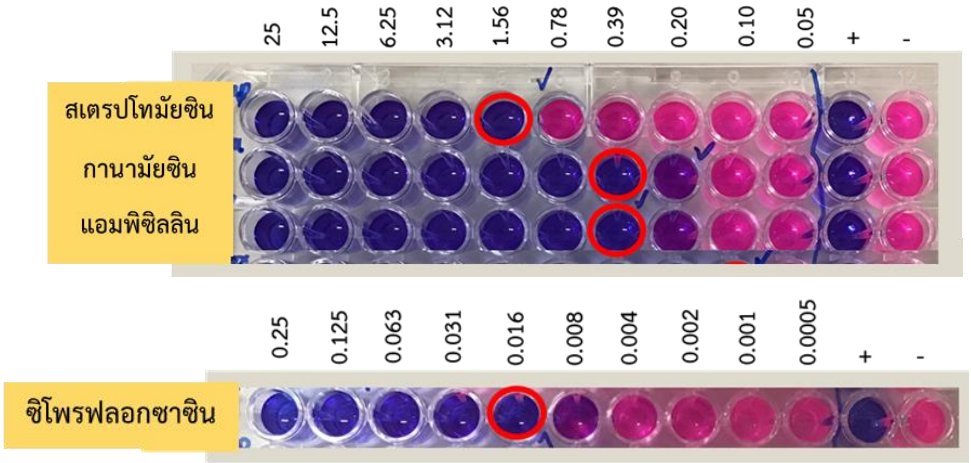
นำยาปฏิชีวนะปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน และแอมพิซิลลิน ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะ ซิโพรฟลอกซาซิน ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตรและเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า (2-fold serial dilution) และเติมสารแขวนลอยแบคทีเรีย แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมเรซาซูริน 0.015% และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอ่านผลหลังจากผ่านไป 4 ชั่วโมง โดยจะมียาปฏิชีวนะความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลบวก และใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นชุดควบคุมผลลบ จากผลดังตารางที่ 4.4 แสดงพบว่าค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะ สเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน แอมพิซิลลิน และซิโพรฟลอกซาซิน ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* มีค่าเป็น 0.78, 0.20, 3.12 และ 0.008 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5) ส่วนค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium มีค่าเป็น 1.56, 0.39, 0.39 และ 0.016 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์

แบคทีเรีย	MIC ของยาปฏิชีวนะ (µg/mL)			
	สเตรปโทมัยซิน	กานามัยซิน	แอมพิซิลลิน	ซิโพรฟลอกซาซิน
E. coli	0.78	0.20	3.12	0.008
S. Typhimurium	1.56	0.39	0.39	0.016



ภาพที่ 4.5 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli*



ภาพที่ 4.6 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium

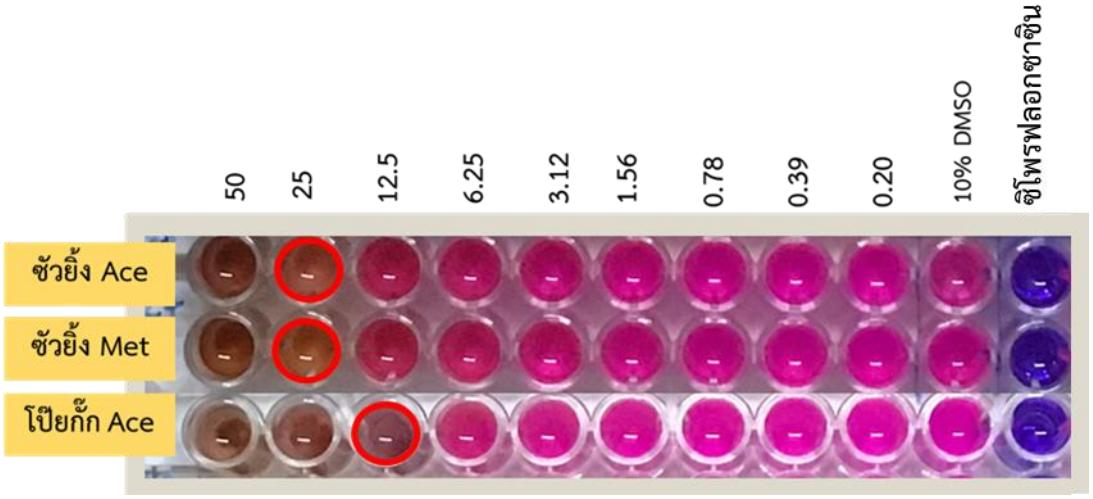
4.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (Minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดจากพืช โดยวิธี Broth microdilution

นำสารสกัดจากพืชที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมแรกของไมโครเพลต 200 ไมโครลิตรและเจือจางแบบอนุกรม 2 เท่า จากนั้นเติมสารแขวนลอยแบคทีเรียลงในทุกหลุมของไมโครเพลตแล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมเรซาซูริน 0.015% และบ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซิน 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลบวก และใช้ 10% DMSO เป็นชุดควบคุมผลลบ ซึ่งจากตารางที่ 4.5 พบว่าสารสกัดจากชัวยิ้งที่สกัดโดยอะซีโตนและเมทานอล และสารสกัดจากโป๊ยกั๊กที่สกัดโดยอะซีโตน ให้ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* อยู่ที่ 25, 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) ส่วนสารสกัดอะซีโตนและเมทานอลของสีเสียดเทศไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากไม่พบเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเมื่อทดสอบกับ *E. coli* และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดอะซีโตนจากชัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก และสีเสียดเทศ ในการยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium พบว่ามีค่าเป็น 25, 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดเมทานอลจากชัวยิ้งและสีเสียดเทศพบว่ามีค่า 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4.8)

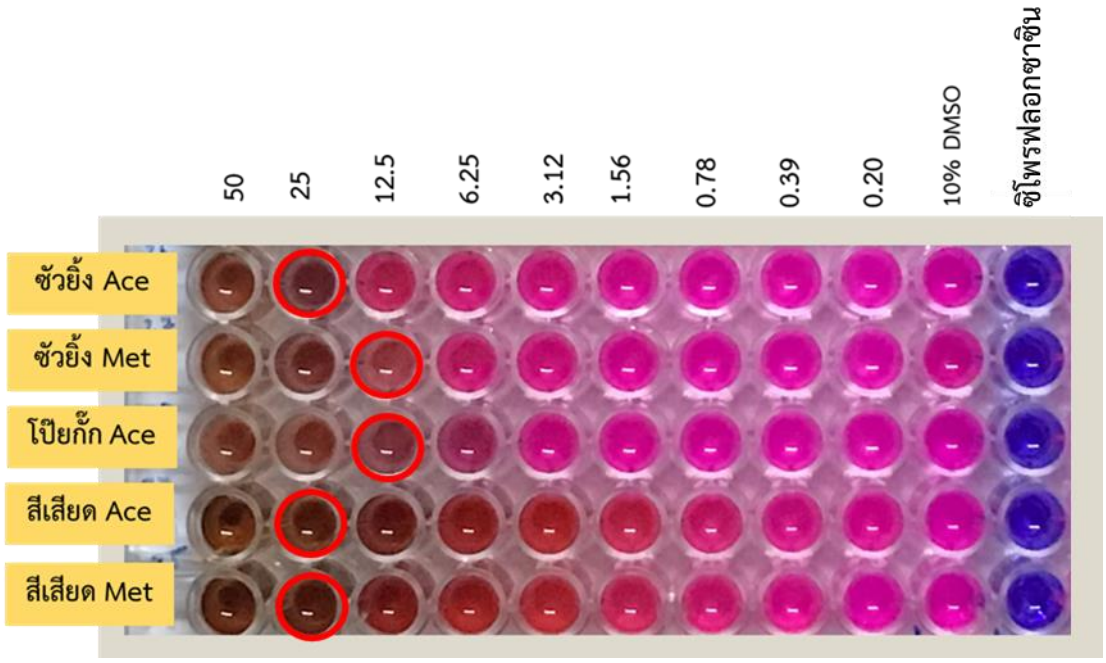
ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์

แบคทีเรีย	MIC ของสารสกัดจากพืช (mg/ml)				
	ชัวยิ้ง (Ace)	ชัวยิ้ง (Met)	โป๊ยกั๊ก (Ace)	สีเสียดเทศ (Ace)	สีเสียดเทศ (Met)
E. coli	25	25	12.5	ND	ND
S. Typhimurium	25	12.5	12.5	25	25

หมายเหตุ: Ace= อะซีโตน, Met=เมทานอล, ND = ไม่ได้ทดสอบ (not determined)



ภาพที่ 4.7 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli*



ภาพที่ 4.8 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium

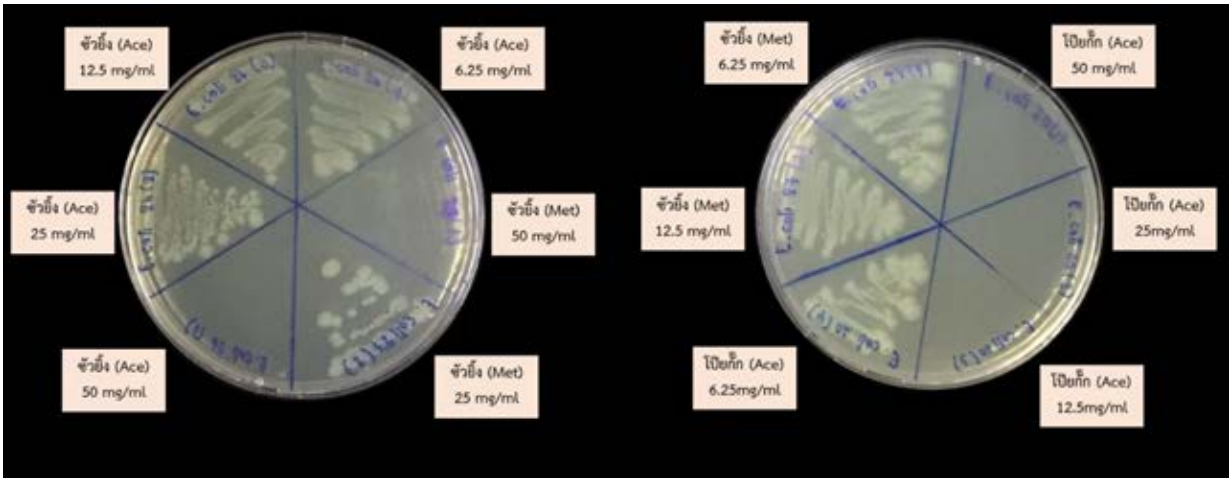
4.6 การศึกษาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (Minimum bactericidal concentration) ของสารสกัดจากพืช

นำความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (MBC) ต่อโดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเลือกจุ่มลงในหลุมที่มีความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC และความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MIC มาขีดลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง แล้วจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลที่ได้ดังตารางที่ 4.6 พบว่าสารสกัดอะซีโตนจากซัวยิ้ง และ โป๊ยกั๊ก มีค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดสามารถฆ่า *E. coli* อยู่ที่ 50 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเมทานอลของซัวยิ้ง มีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4.9) และสารสกัดอะซีโตนจากซัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก และสีเสียดเทศ มีค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดสามารถฆ่า *S.* Typhimurium มีค่าอยู่ที่ 50, 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเมทานอลของซัวยิ้งและสีเสียดเทศ มีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากัน (ภาพที่ 4.10)

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์

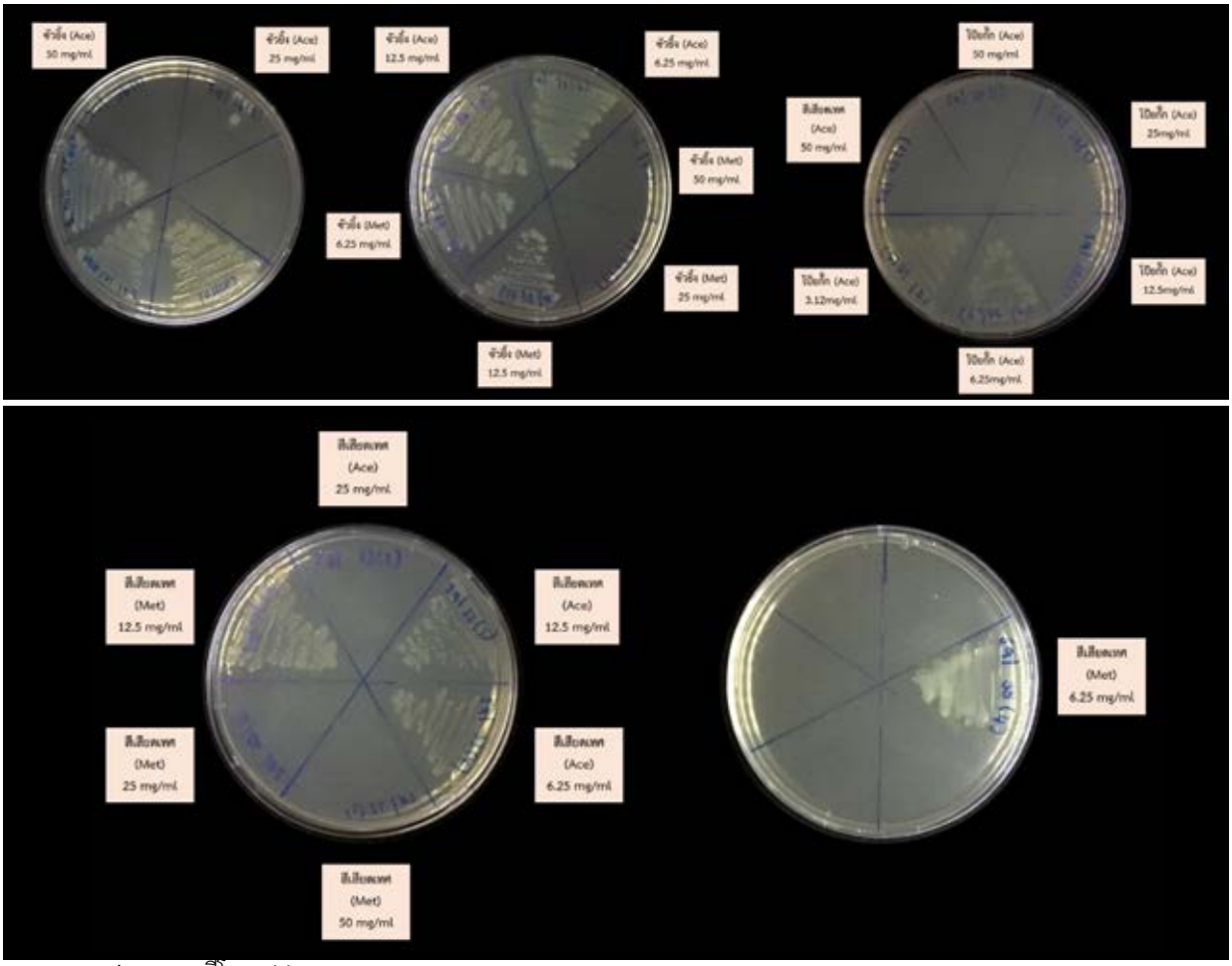
แบคทีเรีย	MBC ของสารสกัดจากพืช (mg/ml)				
	ซัวยิ้ง (Ace)	ซัวยิ้ง (Met)	โป๊ยกั๊ก (Ace)	สีเสียดเทศ (Ace)	สีเสียดเทศ (Met)
E. coli	50	50	12.5	ND	ND
S. Typhimurium	50	25	12.5	25	25

หมายเหตุ: Ace= อะซีโตน, Met=เมทานอล, ND = ไม่ได้ทดสอบ (not determined)



หมายเหตุ: Ace= อะซีโตน, Met=เมทานอล

ภาพที่ 4.9 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *E. coli* บนอาหารแข็ง



หมายเหตุ: Ace= อะซีโตน, Met=เมทานอล

ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่า *S.* Typhimurium บนอาหารแข็ง

4.7 การศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อทดสอบ (Synergistic effect) ด้วยวิธี checkerboard

ในการทดสอบจะต้องเจืองจางสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะ โดยขั้นแรกจะเจือจางสารสกัดจากพืชให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/4 เท่าของ MIC และปิเปตต์สารสกัดจากพืชที่เจือจางแต่ละความเข้มข้นลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต จากนั้นจะเจือจางยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน แอมพิซิลลิน และซิโพรฟลอกซาซินให้มีความเข้มข้น 2 เท่าของ MIC ถึง 1/16 เท่าของ MIC และปิเปตต์ยาปฏิชีวนะที่เจือจางแต่ละความเข้มข้นลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลต แล้วจึงเติมเชื้อทดสอบและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลาเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเติมเรซาซูริน 0.015% นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอ่านผลหลังจากผ่านไป 4 ชั่วโมง และนำไปหาค่า fraction inhibitory concentration index (FICI) ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 4.7, 4.8 และภาพที่ 4.11 ถึง 4.18 โดยพบว่าโป๊ยกั๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนให้ผลเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินในการยับยั้ง *E. coli* และมีค่า FICI เท่ากับ 0.05 ส่วนสกัดจากพืชชนิดอื่นในการยับยั้ง *E. coli* พบว่าไม่พบการเสริมฤทธิ์และมีฤทธิ์ต้านกันเป็นส่วนใหญ่ และจากตารางที่ 4.8 พบว่า ไม่มีการเสริมฤทธิ์กันระหว่างสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium แต่พบว่า มีการเสริมฤทธิ์กันบางส่วนและนอกจากนี้ยังไม่พบการเสริมฤทธิ์และมีฤทธิ์ต้านกันในบางกรณี

ตารางที่ 4.7 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *E. coli*

การทดสอบ	FICI	ผล
ซัวยิ้ง Ace+ Strep	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Ace+ Kana	2.06	ต้านฤทธิ์
ซัวยิ้ง Ace+ Amp	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Ace+ Cipro	2.13	ต้านฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Strep	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Kana	2.06	ต้านฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Amp	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Cipro	2.13	ต้านฤทธิ์
โป๊ยกั๊ก Ace+ Strep	0.50	เสริมฤทธิ์
โป๊ยกั๊ก Ace+ Kana	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
โป๊ยกั๊ก Ace+ Amp	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
โป๊ยกั๊ก Ace+ Cipro	2.06	ต้านฤทธิ์

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

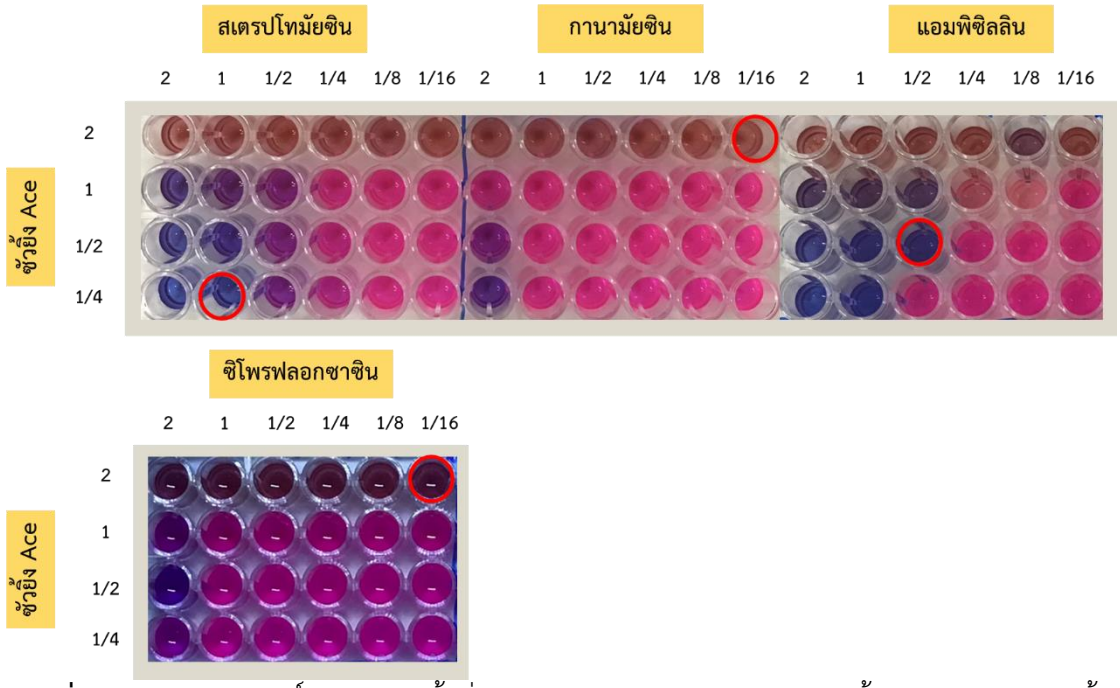
Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

ตารางที่ 4.8 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium

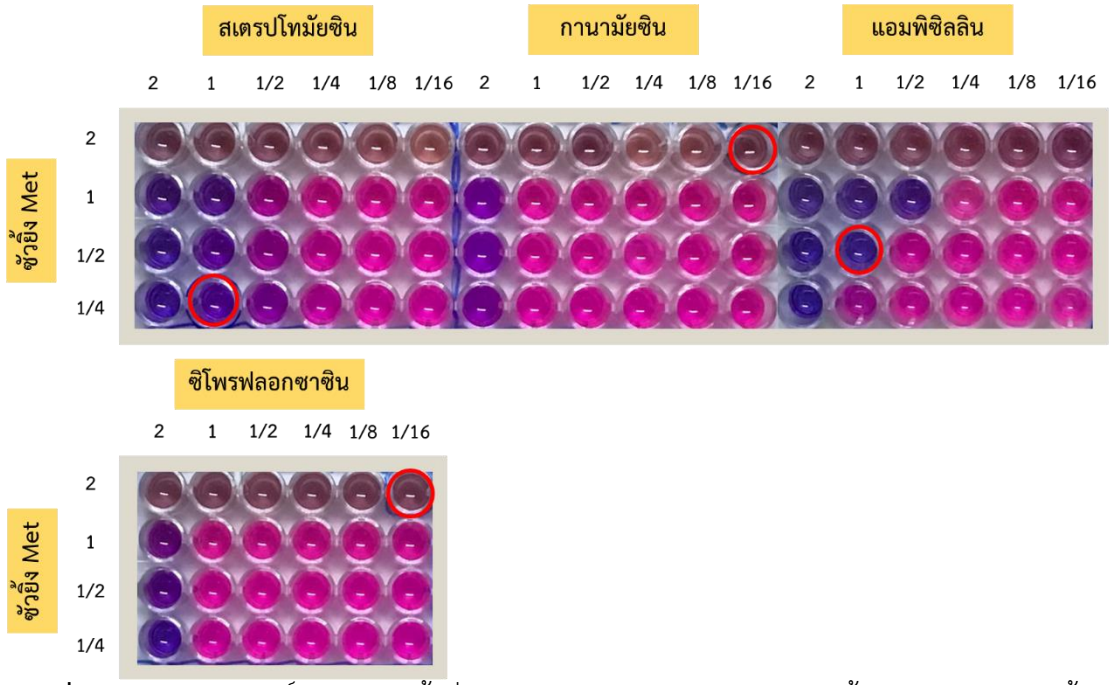
การทดสอบ	FICI	ผล
ซัวยิ้ง Ace+ Strep	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Ace+ Kana	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Ace+ Amp	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Ace+ Cipro	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Strep	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Kana	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Amp	2.06	ต้านฤทธิ์
ซัวยิ้ง Met+ Cipro	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
โป๊ยกั๊ก Ace+ Strep	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
โป๊ยกั๊ก Ace+ Kana	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
โป๊ยกั๊ก Ace+ Amp	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
โป๊ยกั๊ก Ace+ Cipro	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ Ace+ Strep	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ Ace+ Kana	2.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ Ace+ Amp	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ Ace+ Cipro	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ Met+ Strep	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ Met+ Kana	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
สีเสียดเทศ Met+ Amp	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
สีเสียดเทศ Met+ Cipro	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

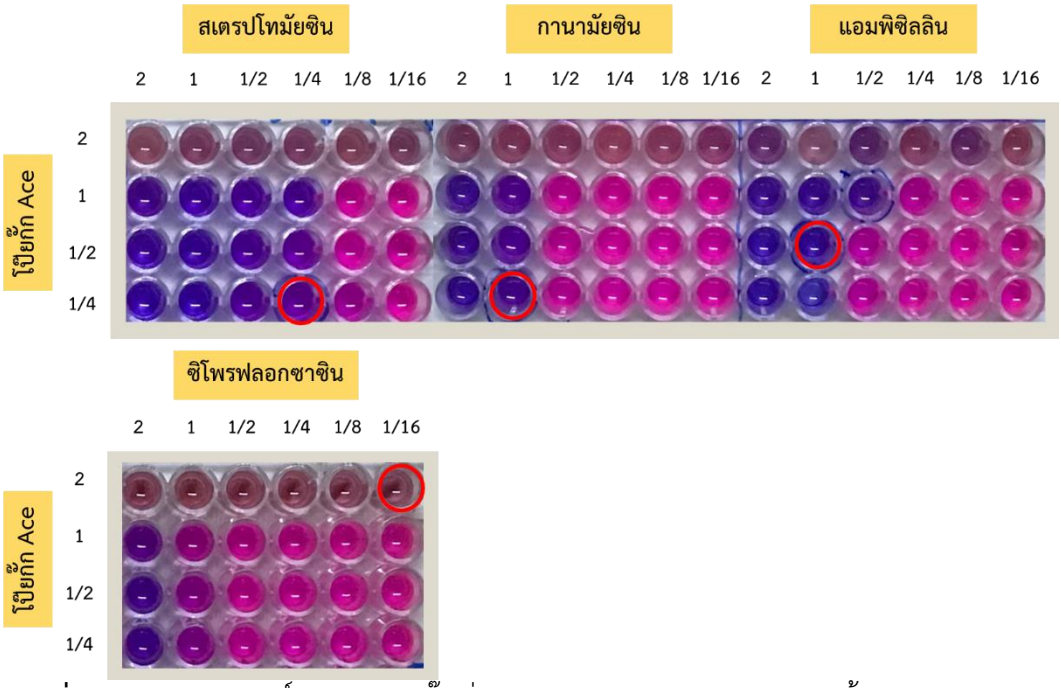
Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน



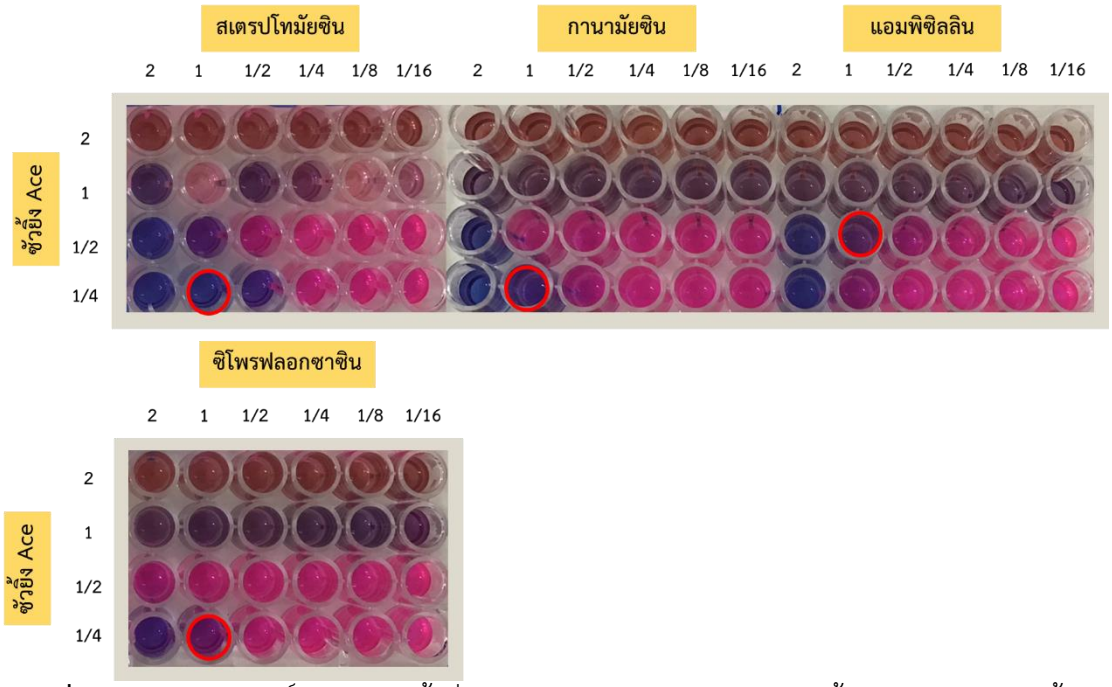
ภาพที่ 4.11 การเสริมฤทธิ์ระหว่างซัวยิ้งที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *E. coli*



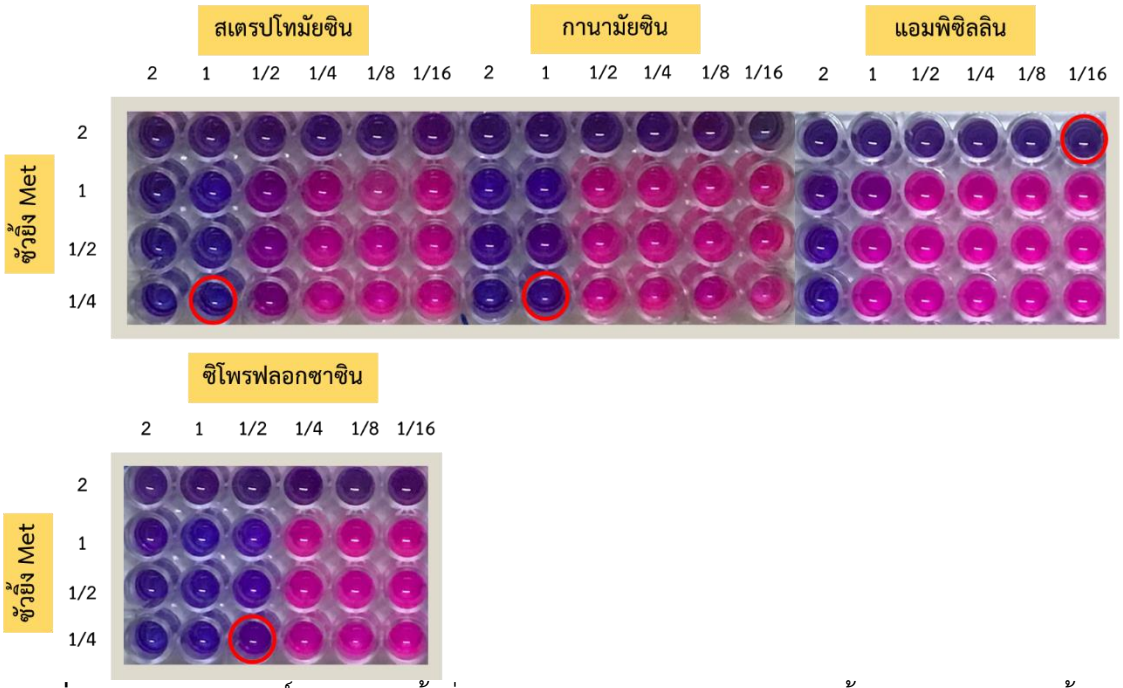
ภาพที่ 4.12 การเสริมฤทธิ์ระหว่างซัวยิ้งที่สกัดโดยเมทานอลและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *E. coli*



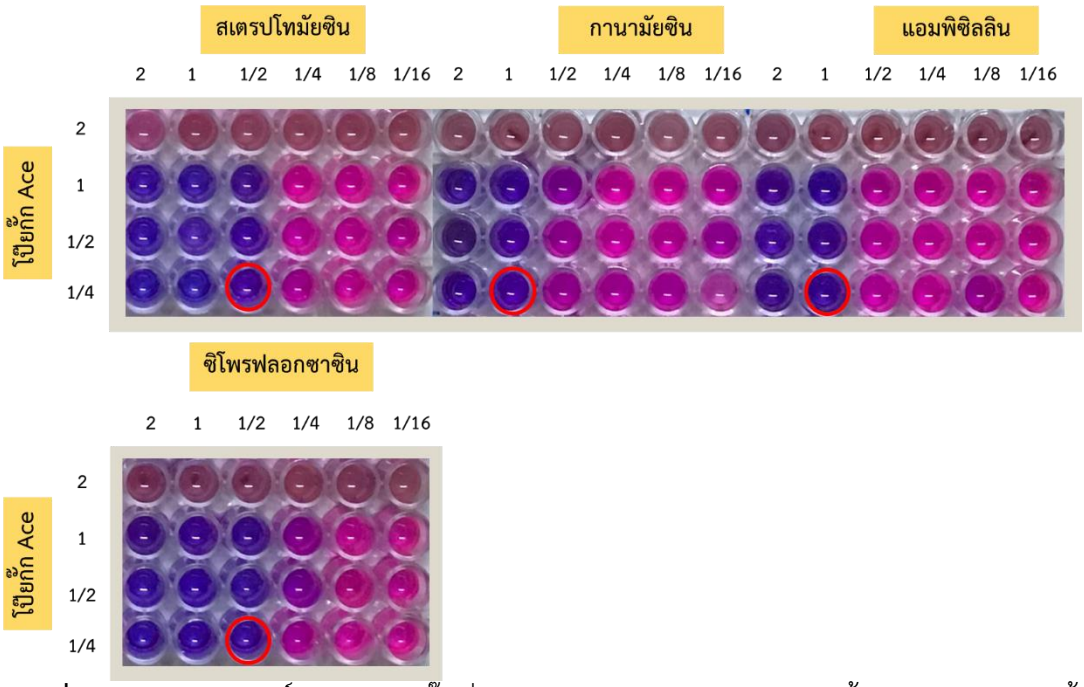
ภาพที่ 4.13 การเสริมฤทธิ์ระหว่างโป๊ยกั๊กที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *E. coli*



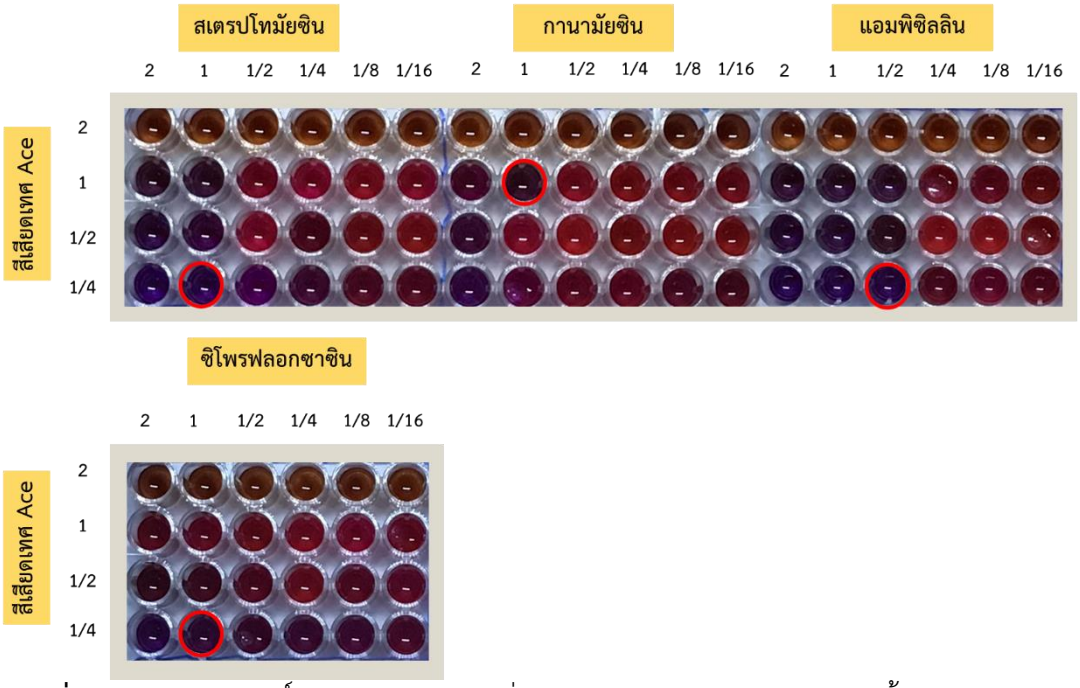
ภาพที่ 4.14 การเสริมฤทธิ์ระหว่างชัวยิ้งที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium



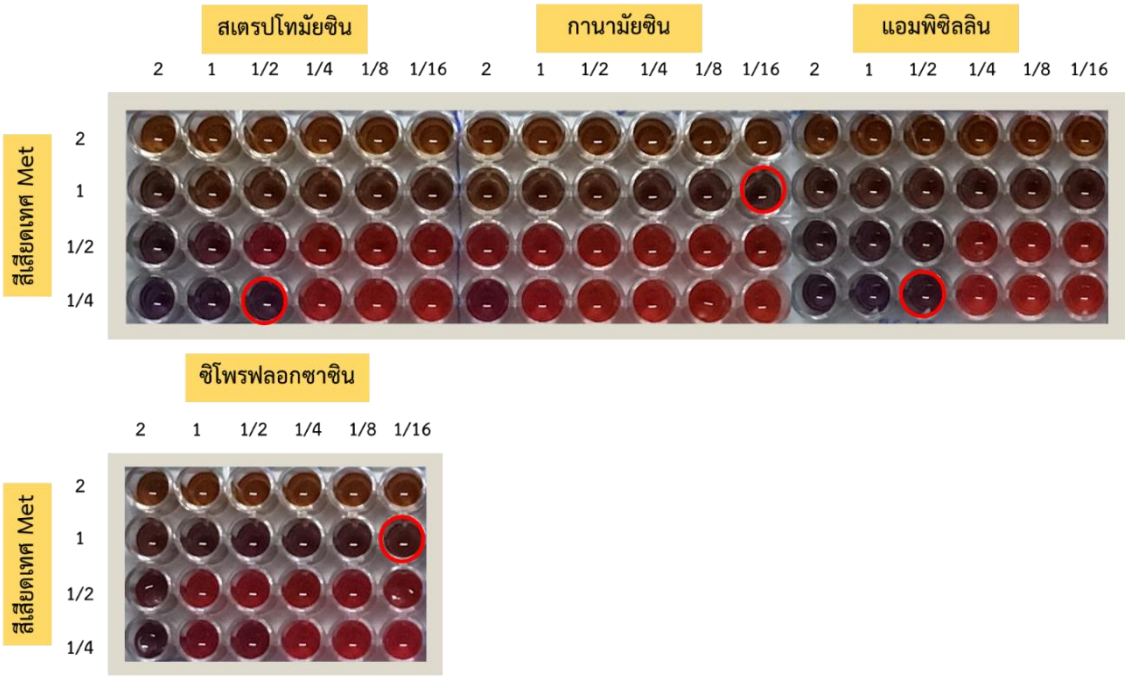
ภาพที่ 4.15 การเสริมฤทธิ์ระหว่างชัวยิ้งที่สกัดโดยเมทานอลและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium



ภาพที่ 4.16 การเสริมฤทธิ์ระหว่างโป๊ยกั๊กที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium



ภาพที่ 4.17 การเสริมฤทธิ์ระหว่างสีเสียดเทศที่สกัดโดยอะซีโตนและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium



ภาพที่ 4.18 การเสริมฤทธิ์ระหว่างสีเสียดเทศที่สกัดโดยเมทานอลและยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดในการยับยั้ง *S.* Typhimurium

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

Escherichia coli และ *Salmonella* Typhimurium เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง และอยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ และมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมหรืออาหาร ตลอดจนเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคระบบทางเดินอาหาร (Gaston, 1988) ทั้งนี้แบคทีเรียแกรมลบเหล่านี้ในปัจจุบันพบอุบัติการณ์การดื้อยาที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปีส่งผลให้เกิดปัญหาตามมาหลายภาคส่วน ทั้งในโรงพยาบาล ในสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงด้านอาหารและปศุสัตว์ ซึ่งจะเห็นว่าการดื้อยาปฏิชีวนะที่เพิ่มมากขึ้นนั้นสวนทางกับการคิดค้นยาปฏิชีวนะส่งผลให้ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะลดลง เนื่องจากแบคทีเรียมีการปรับตัวและพัฒนาอย่างรวดเร็วทำให้ยาปฏิชีวนะไม่สามารถฆ่าได้ ฉะนั้นปัญหาการดื้อยานี้จึงเป็นปัญหาสำคัญที่ควรได้รับการแก้ไขอย่างเร่งด่วน

ในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารสกัดจากพืชและยาปฏิชีวนะเพื่อเป็นทางเลือกในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยในการทดลองจะใช้พืชสมุนไพรพื้นบ้าน ประกอบด้วย กระเทียม ขิง ขมิ้นชัน โป๊ยกั๊ก พริกไทยดำ มะขามป้อม สีเสียดเทศ ชังตุ๊ก และซัวยิ้ง ร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบัน 4 ชนิด คือ สเตรปโทมัยซิน กานามัยซิน แอมพิซิลลิน และ ซิโพรฟลอกซาซิน ในการต้านแบคทีเรียแกรมลบ 2 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* MSCU 0349 และ *Salmonella* Typhimurium MSCU 0492 โดยจากการทดลองสกัดสารสำคัญในพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิด โดยใช้ตัวทำละลายอะซีโตนและเมทานอลในการสกัด พบว่าสารสกัดที่ได้มีสีและความหนืดของสารที่แตกต่างเมื่อใช้ตัวทำลายคนละชนิด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่กล่าวว่า การเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยวพืช รวมถึงวิธีที่ใช้ในการสกัดและคุณสมบัติความมีขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายทำให้สารสกัดที่ได้มีลักษณะที่ต่างกัน (O'neill และคณะ, 1985)

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียลบโดยวิธี Disc diffusion พบว่ามีเพียงสารสกัดจากซัวยิ้ง โป๊ยกั๊ก และสีเสียดเทศที่ให้ผลในการต้านแบคทีเรียแกรมลบ โดยจากการทดลองพบว่าซัวยิ้งและโป๊ยกั๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนในการต้าน *E. coli* มีค่าเฉลี่ยแสดงเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง

เท่ากับ 8.67±0.58 และ 9.33±1.53 มิลลิเมตรตามลำดับ และในการสกัดด้วยเมทานอลพบว่ามีเพียงซัวยิ้งที่ให้ผลค่าเฉลี่ยแสดงเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.33±0.58 มิลลิเมตร และในการต้าน *S.* Typhimurium พบว่าซัวยิ้ง โป๊ยก๊ก และสีเสียดเทศที่สกัดด้วยอะซีโตนให้ผลค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.67±0.58 ถึง 11.33±0.58 มิลลิเมตร ส่วนการสกัดด้วยเมทานอลพบว่ามีเพียงซัวยิ้งและสีเสียดเทศ ที่มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.67±0.58 และ 10.00±1.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน ส่งผลให้มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่ต่างกัน สอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในการสกัดส่วนลำต้นของพืช *Solanum seaforthianum* ซึ่งกล่าวว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันจะทำให้องค์ประกอบของสารสกัดที่จากพืชที่ได้ไม่เหมือนกันเนื่องจากความสามารถในการละลายของสารแต่ละชนิดแตกต่างกัน จึงส่งผลให้มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้ไม่เท่ากัน (Linthoingambi และ Singh, 2013) และนอกจากนี้จะเห็นว่าสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่ไม่สามารถต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ เนื่องจากโครงสร้างของผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนเนื่องจากมี ลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) โดยการที่สารต่าง ๆ จะผ่านเข้าสู่เซลล์จะต้องผ่านทางช่องโปรตีน หรือ โปรตีนขนส่งพอรินส์ (porins) ที่เปรียบเสมือนประตูคัดเลือกสารที่จำเพาะต่อเซลล์ให้เข้าไปได้ ดังนั้น การที่สารอื่น ๆ จะเข้าไปทำลายแบคทีเรียแกรมลบจึงเกิดได้ยาก (Keskin และ Toroglu, 2011) ซึ่งแนวคิดนี้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพร 46 ชนิด การต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่สาเหตุหลักของเชื้อก่อโรคที่มีการปนเปื้อนในอาหาร โดยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ คือ *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Salmonella* Anatum โดยใช้เมทานอลในการสกัดสมุนไพรทั้ง 46 ชนิด ซึ่งผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรมีฤทธิ์ที่ดีในการต้านแบคทีเรียทดสอบ แต่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ (Shan และคณะ, 2007) และจากผลการทดลองยังพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศให้ผลในการต้านแบคทีเรียทดสอบเพียง *S.* Typhimurium ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากโครงสร้างทางสรีรวิทยาของ *E. coli* พบว่ามีแคปซูลห่อหุ้มบาง ๆ รอบตัวทำให้เชื้อทนสภาพแวดล้อมได้ดี จึงทำให้สารสกัดจากสีเสียดเทศมีฤทธิ์ในการต้าน *S.* Typhimurium แต่ไม่สามารถต้าน *E. coli* ได้ ส่วนของสารสกัดจากพืชนิดอื่นที่ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจะไม่นำไปทดสอบต่อในการทดลองถัดไป

ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อทดสอบพบว่า สารสกัดอะซีโตนจากโป๊ยก๊กให้ค่าค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S.* Typhimurium มากที่สุด มีค่าเป็น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่พบว่า สารสกัดจากโป๊ยก๊กมีประสิทธิภาพที่ดีในการต้านแบคทีเรีย และยังรวมไปถึงราและยีสต์ (De และคณะ, 2002) และนอกจากนั้นแล้วยังมีรายงานการศึกษาถึงองค์ประกอบของสารสกัดจากโป๊ยก๊ก พบว่าประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่ทำให้มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ได้ เช่น สารกลุ่มเซสควิเทอร์พีน และกลุ่มฟลาโวนอยด์ รวมถึง สารกลุ่มพอลิฟีนอลอีกด้วย (Wang และคณะ, 2011) ส่วนของการทดลองหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบทั้งสองสายพันธุ์พบว่า สารสกัดจากโป๊ยก๊กที่สกัดด้วยอะวิโตนให้ผลดีที่สุดโดยมีค่าอยู่ที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นกัน

ในการศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อทดสอบด้วยวิธี checkerboard พบว่าให้ผลที่หลากหลาย อีกทั้งยังมีการเสริมฤทธิ์กัน หรือเสริมฤทธิ์กันบางส่วนและไม่พบการเสริมฤทธิ์ ตลอดจนมีฤทธิ์ต้านกัน โดยพบว่ามีเพียงโป๊ยก๊กที่สกัดด้วยอะซีโตนที่ให้ผลส่งเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะสเตรปโทมัยซินในการยับยั้ง *E. coli* และมีค่า FICI เท่ากับ 0.50 พบว่าค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว ดังแสดงในตารางที่ ค.3 ของภาคผนวก โดยทำให้เห็นว่าการทดสอบเสริมฤทธิ์ในครั้งนี้ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะลงได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีรายงานถึงการส่งเสริมฤทธิ์จากสารสกัดโป๊ยก๊กร่วมกับยาปฏิชีวนะในการต้านแบคทีเรียดื้อยาซึ่งพบว่ามีการเสริมฤทธิ์ที่ดีและสามารถต้านเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้มากถึง 67 สายพันธุ์ (Yang และคณะ, 2010) ส่วนสารสกัดจากพืชชนิดอื่น ๆ ในการต้าน *E. coli* พบว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดและยาปฏิชีวนะมีการต้านฤทธิ์กัน ทั้งนี้อาจเกิดจากสารบางกลุ่มที่มีอยู่ในสารสกัดจากพืชไปส่งผลต่อการทำงานของยาปฏิชีวนะทำให้มีประสิทธิภาพลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (พัชนันท์ ทองศรีพันธ์ และคณะ, 2561) ที่ศึกษาการส่งเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากมะไฟจีนร่วมกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราไซคลีนในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสดื้อยาโดยให้ผลที่หลากหลายเช่นกัน มีทั้งการเสริมฤทธิ์และมีฤทธิ์ต้านกันซึ่งกรณีที่มีฤทธิ์ต้านกันอาจมีสาเหตุมาจากสารที่มีอยู่ในพืชลดประสิทธิภาพการทำงานของยาปฏิชีวนะอีกทั้งเป็นแนวคิดเบื้องต้นว่า การนำสารทั้งสองชนิดมารับประทานร่วมกันอาจไม่เป็นผลดีต่อร่างกาย ดังนั้นการใช้การสเริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะในการรักษาการติดเชื้ออาจเป็นทางเลือกหนึ่งของการรักษาแต่ควรคำนึงถึงผลของการต้านฤทธิ์กันของสาร

ทั้งสองชนิด และในส่วนของการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะในการต้าน *S.* Typhimurium พบว่าไม่มีการเสริมฤทธิ์ แต่มีพบว่ามีผลเสริมฤทธิ์กันบางส่วน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นประโยชน์ในการนำสารสกัดจากพืชมาเสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะเพื่อเป็นวิธีทางเลือกในการรักษาและลดความรุนแรงของการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสได้ อีกทั้งยังเป็นการลดผลเสียที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ ไม่ว่าจะเป็น การลดโอกาสการในการดื้อยาของเชื้อ ลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาปฏิชีวนะลง รวมถึงลดอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะได้ ทั้งนี้งานวิจัยนี้ยังเป็นเพียงแนวคิดเบื้องต้นซึ่งจะต้องศึกษาถึงคุณสมบัติของสารสกัดและองค์ประกอบที่สำคัญภายสารสกัดจากพืชรวมถึงยังต้องมีการศึกษาถึงกลไกลในการออกฤทธิ์และอื่น ๆ เพื่อนำมาต่อยอดในการนำไปใช้จริงต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

ภาณุมาศ ภูมาศ, ตวงรัตน์ โพธะ, วิษณุ ธรรมลิขิตกุล, อาธร ลิ้วไพบูลย์, ภูษิต ประคองสาย, สุพล ลิ้มวัฒนานนท์. (2555) ผลกระทบด้านสุขภาพและเศรษฐศาสตร์จากการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย : กรณีศึกษาเบื้องต้น. วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข, 6(3), 352-360.

พนิดา รัตนปิติกรณ์. (2561) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชและการประยุกต์ใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร. *Journal of Food Technology, Siam University,* 13 (2), 1-10.

พัชนันท์ ทองศรีพันธ์ และ วิสาตรี คงเจริญสุนทร. (2561) ประสิทธิภาพของส่วนสกัดจากมะไฟจีนร่วมกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสดื้อยา. *Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University*, 5 (1).

สุพัฒน์ ศรีสวัสดิ์, พนม สุขจันทร์, จารุวรรณ ประดับแสง, สมนึก ลิ้มเจริญ. (2556) พืช สมุนไพรประจำถิ่นและภูมิปัญญาการประยุกต์ใช้สำหรับการแพทย์พื้นบ้านในจังหวัดชายแดนภาคใต้. วารสาร มหาวิทยาลัย นราธิวาสราชนครินทร์, 5 (4).

ภาษาอังกฤษ

Adwan, G., Abu-shanab, B. & Adwan, K. (2009) *In vitro* activity of certain drugs in combination with plant extracts against *Staphylococcus aureus* infections. *African Journal of Biotechnology,* 8 (17).

Adwan, G., Abu-Shanab, B. & Adwan, K. (2010) Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug–resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,* 3 (4), 266-269.

Ahmed, Z., Khan, S. S., Khan, M., Tanveer, A. & Lone, Z. A. (2010) Synergistic effect of Salvadora persica extracts, tetracycline and penicillin against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Basic & Applied Sciences,* 2 (1-2), 25-29.

Aminov, R. (2017) History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. *Biochem Pharmacol,* 133**,** 4-19.

Baby Joseph, S. J. R. (2010) PHARMACOGNOSTIC AND PHYTOCHEMICAL PROPERTIES OF ALOE VERA LINN –AN OVERVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research,* 4 (2)**,** 106-110.

Balandrin, M. & Klocke, J. (1988) Medicinal, aromatic, and industrial materials from plants. *Medicinal and Aromatic Plants I.* Springer.

Carlet, J., Collignon, P., Goldmann, D., Goossens, H., Gyssens, I. C., Harbarth, S., Jarlier, V., Levy, S. B., N'Doye, B., Pittet, D., Richtmann, R., Seto, W. H., van der Meer, J. W. M. & Voss, A. (2011) Society's failure to protect a precious resource: antibiotics. *The Lancet,* 378 (9788)**,** 369-371.

Chanda, S. & Rakholiya, K. (2011) Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. *Microbiol Book Series***,** 520-529.

De, M., De, A. K., Sen, P. & Banerjee, A. B. (2002) Antimicrobial properties of star anise (Illicium verum Hook f). *Phytotherapy Research,* 16 (1)**,** 94-95.

Dharmani, P., Kuchibhotla, V. K., Maurya, R., Srivastava, S., Sharma, S. & Palit, G. (2004) Evaluation of anti-ulcerogenic and ulcer-healing properties of *Ocimum sanctum* Linn. *Journal of ethnopharmacology,* 93 (2-3)**,** 197-206.

DiCosmo, F. & Misawa, M. (1995) Plant cell and tissue culture: alternatives for metabolite production. *Biotechnol Adv,* 13 (3)**,** 425-453.

Dobetsberger, C. & Buchbauer, G. (2011) Actions of essential oils on the central nervous system: An updated review. *Flavour and Fragrance Journal,* 26 (5)**,** 300-316.

Dornenburg, H. & Knorr, D. (1995) Strategies for the Improvement of Secondary Metabolite Production in Plant-Cell Cultures. *Enzyme and Microbial Technology,* 17 (8)**,** 674-684.

Farber, J. E., Ross, J. & Stephens, G. (1954) Antibiotic anaphylaxis. *Calif Med,* 81 (1), 9-11.

Gaston, M. (1988) Enterobacter: an emerging nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infection,* 11 (3), 197-208.

Gruenwald, J., Freder, J. & Armbruester, N. (2010) Cinnamon and health. *Crit Rev Food Sci Nutr,* 50 (9), 822-834.

Hili, P., Evans, C. & Veness, R. (1997) Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in applied microbiology,* 24 (4), 269-275.

Horváth, G. & Ács, K. (2015) Essential oils in the treatment of respiratory tract diseases highlighting their role in bacterial infections and their anti-inflammatory action: a review. *Flavour and Fragrance Journal,* 30 (5), 331-341.

Keskin, D. & Toroglu, S. (2011) Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different spices. *Journal of Environmental Biology,* 32 (2), 251-256.

Lerminiaux, N. A. & Cameron, A. D. S. (2019) Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can J Microbiol,* 65 (1), 34-44.

Ling, L. L., Schneider, T., Peoples, A. J., Spoering, A. L., Engels, I., Conlon, B. P., Mueller, A., Schaberle, T. F., Hughes, D. E., Epstein, S., Jones, M., Lazarides, L., Steadman, V. A., Cohen, D. R., Felix, C. R., Fetterman, K. A., Millett, W. P., Nitti, A. G., Zullo, A. M., Chen, C. & Lewis, K. (2015) A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature,* 517 (7535), 455-459.

Linthoingambi, W. & Singh, M. S. (2013) Antimicrobial activities of different solvent extracts of Tithonia diversifolia (Hemsely) A. Gray. *Asian J Plant Sci Res,* 3 (5), 50-54.

Manosalva, L., Mutis, A., Urzua, A., Fajardo, V. & Quiroz, A. (2016) Antibacterial Activity of Alkaloid Fractions from Berberis microphylla G. Forst and Study of Synergism with Ampicillin and Cephalothin. *Molecules,* 21 (1), 76.

Mathew, A. (2017) Natural food flavors and colorants. *Natural food flavors and colorants.,* (Ed. 2).

Morton, J. F. (2008) Further Associations of Plant Tannins and Human Cancer. *Quarterly Journal of Crude Drug Research,* 12 (1), 1829-1841.

O'neill, M., Bray, D., Boardman, P., Phillipson, J. & Warhurst, D. (1985) Plants as sources of antimalarial drugs part. 1. *In vitro* test method for the evaluation of crude extracts from plants. *Planta Medica,* 51 (05), 394-398.

Odunbaku, O., Ilusanya, O. & Akasoro, K. (2008) Antibacterial activity of ethanolic leaf extract of *Ficus exasperata* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus albus*. *Sci Res Essay,* 3 (11), 562-564.

Oliveira, S. M. S. d., Falcão-Silva, V. S., Siqueira-Junior, J. P., Costa, M. J. d. C. & Diniz, M. d. F. F. d. (2011) Modulation of drug resistance in *Staphylococcus aureus* by extract of mango (Mangifera indica L., Anacardiaceae) peel. *Revista Brasileira de Farmacognosia,* 21 (1), 190-193.

Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R. & Gritsanapan, W. (2010) Free radical scavenging and anti-acne activities of mangosteen fruit rind extracts prepared by different extraction methods. *Pharm Biol,* 48 (2), 182-186.

Ross, M. S. F. & Brain, K. R. (1977) *introduction to phytopharmacy*. Pitman Medical.

Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J. D. & Corke, H. (2007) The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology,* 117 (1), 112-119.

Silver, L. L. (2011) Challenges of antibacterial discovery. *Clinical microbiology reviews,* 24 (1), 71-109.

Singh, R., Sripada, L. & Singh, R. (2014) Side effects of antibiotics during bacterial infection: mitochondria, the main target in host cell. *Mitochondrion,* 16, 50-54.

Sofowora, A. (1996) *Medicinal plants and traditional medicine in Africa*. Karthala.

Subashkumar, R., Sureshkumar, M., Babu, S. & Thayumanavan, T. (2013) Antibacterial effect of crude aqueous extract of *Piper betle* L. against pathogenic bacteria *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences,* 4**,** 42-46.

Szántay, C., Dörnyei, G. & Blaskó, G. (1994) Chapter 2 The Morphine Alkaloids.

Turina, A. d. V., Nolan, M., Zygadlo, J. & Perillo, M. (2006) Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophysical chemistry,* 122 (2)**,** 101-113.

Ventola, C. L. (2015) The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T,* 40 (4)**,** 277-283.

Verpoorte, H. K. K. a. R. (2009) Sample Preparation for Plant Metabolomics. *Phytochemical Analysis,* 21**,** 4-13.

Wang, G.-W., Hu, W.-T., Huang, B.-K. & Qin, L.-P. (2011) Illicium verum: a review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology,* 136 (1)**,** 10-20.

Wang, H.-X., Liu, C.-M., Liu, Q. & Gao, K. (2008) Three types of sesquiterpenes from rhizomes of *Atractylodes lancea*. *Phytochemistry,* 69 (10)**,** 2088-2094.

Wu, X., Li, X., Xiao, F., Zhang, Z., Xu, Z. & Wang, H. (2004) Studies on the analgesic and anti-inflammatory effect of bornyl acetate in volatile oil from *Amomum villosum*. *Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials,* 27 (6)**,** 438-439.

World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance, Geneva, Switzerland: WHO Document Production Services

World Health Organization. (2015). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System: Manual for Early Implementation, Geneva, Switzerland: WHO Document Production Services

Yang, J.-F., Yang, C.-H., Chang, H.-W., Yang, C.-S., Wang, S.-M., Hsieh, M.-C. & Chuang, L.-Y. (2010) Chemical composition and antibacterial activities of *Illicium verum*

against antibiotic-resistant pathogens. *Journal of medicinal food,* 13 (5)**,** 1254-1262.

Zaffiri, L., Gardner, J. & Toledo-Pereyra, L. H. (2012) History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins. *J Invest Surg,* 25 (2)**,** 67-77.

Zeng, Y., Hu, D., Din, P., Chen, J. & Xu, H. (1999) Studies on quality standard of Fructus Amomi. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica,* 24 (11)**,** 651-653, 701.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient Agar (NA) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

อาหารสำเร็จรูป Nutrient agar (บริษัท Difco, ประเทศสหรัฐอเมริกา)	23	กรัม
ผงวุ้น	3	กรัม

ละลายอาหารสำเร็จรูปและเติมผงวุ้นเพิ่มเข้าไปเพื่อให้อาหารมีความแข็งมากขึ้นในน้ำกลั่นปริมาตร1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปนึ่งด้วยเครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

บีฟเอกซ์แทรกซ์	3	กรัม
เพปโตน	5	กรัม

ละลายในน้ำปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปนึ่งด้วยเครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
วิธีการเตรียมสารเคมี

1. 0.5 Mcfarland standard

Barium chloride	1%
Sulfuric acid	1%

นำ1% Sulfuric acid 1% มา 9.95 มิลลิตร ผสมกับ barium chloride 1% ปริมาตร 0.05มิลลิตร และสามารถตรวจสอบโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ซึ่งควรมีค่าอยู่ที่ระหว่าง 0.08-0.1 จึงทำให้ได้ความหนาแน่นเซลล์อยู่ที่ 1×10^{8} CFU/ml

2. เรซาซูริน 0.015%

ชั่งสีเรซาซูริน 3 มิลลิกรัม และนำมาละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันจนสีละลาย แล้วจึงนำมากรองด้วยหัวกรองสำเร็จ (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตรและเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ค.1 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากซัวยิ้งร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *E. coli*

สารสกัดจากพืช (สารละลาย) + ยาปฏิชีวนะ		MIC (µg/mL)		FICI	ผล
		สารเดี่ยว	สารรวม		
ซัวยิ้ง	Ace	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Strep	0.78	0.78		
ซัวยิ้ง	Ace	25	50	2.06	ต้านฤทธิ์
	Kana	0.20	0.01		
ซัวยิ้ง	Ace	25	12.5	1.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	3.13	1.56		
ซัวยิ้ง	Ace	25	50	2.13	ต้านฤทธิ์
	Cipro	0.008	0.001		
ซัวยิ้ง	Met	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Strep	0.78	0.78		
ซัวยิ้ง	Met	25	50	2.06	ต้านฤทธิ์
	Kana	0.20	0.01		
ซัวยิ้ง	Met	25	12.5	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	3.13	3.13		
ซัวยิ้ง	Met	25	50	2.13	ต้านฤทธิ์
	Cipro	0.008	0.001		

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

ตารางที่ ค.2 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากซัวยิ้งร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium

สารสกัดจากพืช (สารละลาย) + ยาปฏิชีวนะ		MIC (µg/mL)		FICI	ผล
		สารเดี่ยว	สารรวม		
ซัวยิ้ง	Ace	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Strep	1.56	1.56		
ซัวยิ้ง	Ace	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Kana	0.39	0.39		
ซัวยิ้ง	Ace	25	12.5	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.39	0.39		
ซัวยิ้ง	Ace	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	0.016	0.02		
ซัวยิ้ง	Met	12.5	3.13	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Strep	1.56	1.56		
ซัวยิ้ง	Met	12.5	3.13	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Kana	0.39	0.39		
ซัวยิ้ง	Met	12.5	25	2.06	ต้านฤทธิ์
	Amp	0.39	0.02		
ซัวยิ้ง	Met	12.5	3.13	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Cipro	0.016	0.01		

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

ตารางที่ ค.3 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากโป๊ยกั๊กร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *E. coli*

สารสกัดจากพืช (สารละลาย) + ยาปฏิชีวนะ		MIC (µg/mL)		FICI	ผล
		สารเดี่ยว	สารรวม		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	3.13	0.50	เสริมฤทธิ์
	Strep	0.78	0.20		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	3.13	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Kana	0.20	0.20		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	6.25	1.50	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	3.13	3.13		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	25	2.06	ต้านฤทธิ์
	Cipro	0.008	0.001		

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

ตารางที่ ค.4 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากโป๊ยกั๊กร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium

สารสกัดจากพืช (สารละลาย) + ยาปฏิชีวนะ		MIC (µg/mL)		FICI	ผล
		สารเดี่ยว	สารรวม		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	3.12	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Strep	1.56	0.78		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	3.13	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Kana	0.39	0.39		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	3.13	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Amp	0.39	0.39		
โป๊ยกั๊ก	Ace	12.5	3.125	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Cipro	0.016	0.008		

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน

ตารางที่ ค.5 การเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้ง *S.* Typhimurium

สารสกัดจากพืช (สารละลาย) + ยาปฏิชีวนะ		MIC (µg/mL)		FICI	ผล
		สารเดี่ยว	สารรวม		
สีเสียดเทศ	Ace	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Strep	1.56	1.56		
สีเสียดเทศ	Ace	25	25	2.00	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Kana	0.39	0.39		
สีเสียดเทศ	Ace	25	6.25	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.39	0.20		
สีเสียดเทศ	Ace	25	6.25	1.25	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	0.016	0.016		
สีเสียดเทศ	Met	25	6.25	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Strep	1.56	0.78		
สีเสียดเทศ	Met	25	25	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Kana	0.39	0.02		
สีเสียดเทศ	Met	25	6.25	0.75	เสริมฤทธิ์บางส่วน
	Amp	0.39	0.20		
สีเสียดเทศ	Met	25	25	1.06	ไม่พบการเสริมฤทธิ์
	Cipro	0.016	0.001		

หมายเหตุ: FICI ≤ 0.5 คือ เสริมฤทธิ์, 0.5<FICI ≤ 0.75 คือ เสริมฤทธิ์บางส่วน, 0.75<FICI ≤ 2 คือ ไม่พบการเสริมฤทธิ์ และ FICI >2 คือ ต้านฤทธิ์

Strep = สเตรปโทมัยซิน, Kana = กานามัยซิน, Amp = แอมพิซิลลิน, Cipro = ซิโพรฟลอกซาซิน