

# การศึกษาผลของสารสกัดกระเทียมในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากปลา

## Study of Antibacterial Property of Garlic Extract Against *Aeromonas hydrophila* Isolated from Fish

อรุณี บุตรดาสี<sup>1</sup> อารินี ชัชวาลชลธีระ<sup>1</sup> พิทยา ภาภิรมย์<sup>1</sup> วชิราภรณ์ กัมปนาวารวรรณ<sup>1</sup>

Arune Buttasri<sup>1</sup> Arinee Chatchawanchonteera<sup>1</sup> Pittaya Papirom<sup>1</sup> Wachiraporn Kampanawarawan<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากกระเทียมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จำนวน 15 isolates ที่แยกได้จากปลานิลในลำน้ำพองจากโดยการป้ายเชื้อทั้งหมด 68 ตัวอย่าง โดยวิธี broth microdilution method และเปรียบเทียบกับการใช้ enrofloxacin และ gentamicin จากการศึกษาพบว่า สารสกัดกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* โดยความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากกระเทียม enrofloxacin และ gentamicin ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) มีค่าต่ำสุดที่ 5555.55, 169.27 และ  $\geq 39.06$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ในหลอดทดลอง และความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้สูงกว่า enrofloxacin และ gentamicin

### Abstract

Antibacterial property of garlic extract against *Aeromonas hydrophila* of fish was studied. Fifteen isolates of *A. hydrophila* obtained from sixty eight cotton swab *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*, Linn.) specimens from Nham Pong river were investigated and compared with enrofloxacin and gentamicin using broth microdilution method. The result showed that all isolates were inhibited by garlic extract *in vitro* and the minimum inhibitory concentrations (MIC) of garlic extract, enrofloxacin and gentamicin were 5555.55, 169.27 and  $\geq 39.06$   $\mu\text{g/ml}$ , respectively. From this study we can conclude that garlic extract had antibacterial property against *A. hydrophila* *in vitro* and had MIC value higher than enrofloxacin and gentamicin

คำสำคัญ: สารสกัดกระเทียม แบคทีเรีย ปลา เชื้อ *Aeromonas hydrophila*

Keywords: garlic extract, bacteria, fish, *Aeromonas hydrophila*

<sup>1</sup> ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

## บทนำ

ปลาเป็นอาหารที่คนไทยนิยมบริโภคกันโดยทั่วไปประโยชน์ของเนื้อปลาซึ่งนอกจากจะย่อยง่าย มีสารอาหารที่มีประโยชน์หลายชนิดแล้วยังหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดโดยทั่วไป ปริมาณความต้องการจึงเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาจึงมีบทบาทเพิ่มขึ้นในสังคมไทย แต่ปัญหาหนึ่งของการเลี้ยงปลาคือ ปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสูญเสียในเชิงธุรกิจ ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาที่สำคัญ ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp., *Edwardsiella* spp., *Yersinia* spp., *Renibacterium* spp. และ *Flexibacter* spp. เป็นต้น (Carter and Cole., 1990) *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียก่อโรคในปลาที่สำคัญในประเทศไทย มีการแยกเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* และแบคทีเรียอื่นจากแหล่งน้ำในธรรมชาติและบ่อเลี้ยงปลา (สิทธิ และคณะ, 2526)

กระเทียม (*Allium sativum*) รู้จักกันมานานในฐานะเป็นเครื่องเทศประกอบอาหารและเป็นส่วนประกอบของยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อหลายชนิด เป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Harris et al., 2001; Milner, 1996) ได้ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์กว่าพันปีแล้ว ในปัจจุบันพบว่ากระเทียมสามารถออกฤทธิ์ได้กว้างขวางในการต้านแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา และโปรโตซัว นอกจากนี้ยังมีผลดีต่อระบบหัวใจ และภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Harris et al., 2001) จากการศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญที่มีผลต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pyloric* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคกระเพาะอักเสบเรื้อรัง มะเร็งกระเพาะอาหารและลำไส้ พบสารที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อชนิดนี้คือ น้ำมันช่วยย่อย (Macerate oil) ซึ่งประกอบไปด้วย iso-E-10-devinylajoene, Z-10 devinylajoene และ thiosulphate 3-5 ชนิด (Sova, 2002) และมีการสำรวจแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ทำให้เกิดโรคสัตว์น้ำ พบว่า ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลา รองลงมาคือ *Aeromonas punctata* (สิทธิ และคณะ, 2526) แยกตามชนิดของปลาที่ติดเชื้อ พบว่าถ้าเป็นปลาดุกส่วนใหญ่จะเป็น *A. hydrophila* และ *Pseudomonas* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคตกเลือด แต่ถ้าเป็นแมลงติดเชื้อมอง พบว่าเกิดจากเชื้อ *Pasteurella* spp. เป็นส่วนใหญ่ (สิทธิ และจิราพร, 2528) สำหรับการรักษาส่วนใหญ่ใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น คลอเตตราซัยคลิน (chlortetracyclin) ต่อเชื้อ *A. hydrophila* (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2527) การใช้ยาซัลฟาต่อโรคที่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* ในปลาดุกดำ (ชาติศรี และคณะ, 2528) ตลอดจนการใช้ยานาลิดีซิกแอซิด (nalidixic acid) ไตรเมโทพริม-ซัลฟาไดเมโทพริม (trimethoprim-sulfadimethoxin) และอีรีโทรไมซิน-โคลิสติน (erythromycin-colistin) ต่อโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *A. hydrophila* ในปลาคาร์ฟ (บุญชัย และคณะ, 2532) นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้ยา อะมิคาซิน (amikacin) เจนตามัยซิน (gentamicin) โทบรามัยซิน (tobramycin) รักษาโรคติดเชื้อแอโรโรโมนาสที่แยกได้จากคน และปลาคาร์ฟ 120 สายพันธุ์อย่างได้ผลดีมาก (จุไรรัตน์ และคณะ, 2527) เนื่องจากการใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ อาจมีผลการตกค้างของยาต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ยังมีปัญหาการดื้อยาตามมา (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2527; จุไรรัตน์ และคณะ, 2527; ชาติศรี และคณะ, 2528; บุญชัย และคณะ, 2532 ; Vivekanandhan and Savithamani, 2002) ปัญหาผลข้างเคียงของยา และ

ราคาของยาปฏิชีวนะซึ่งค่อนข้างสูง ทำให้เพิ่มต้นทุนในการผลิตของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลา ดังนั้น ถ้าสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคในปลา จะมีผลให้ลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะลงและเป็นประโยชน์แก่เกษตรกร ผู้เลี้ยงปลาในการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ ดังนั้น วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกระเทียมที่มีผลต่อเชื้อ *A. hydrophila* เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ enrofloxacin และ gentamicin

## วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ

เก็บตัวอย่าง 68 ตัวอย่าง จากปลานิลจากฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาในกระชังในลำน้ำพอง เขตอำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น มาแยกหาเชื้อ *A. hydrophila* 15 isolates ตามวิธีการของ Carter and Cole (1990) จากนั้นทำการเก็บเชื้อไว้ใน Brain heart infusion broth (BHI) ที่ผสมกลีเซอริน 15 เปอร์เซ็นต์ เก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดลอง

การสกัดสารสกัดกระเทียมทำโดยนำกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองทั้งหัวมาปอกเปลือกบดด้วยโกร่งและผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 3 มิลลิลิตรด้วยเครื่องบด Ultra-Turrax ที่ความเร็ว 20,000 รอบ/นาที จากนั้นนำของเหลวที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาด 0.45 ไมโครเมตร โดยผ่านเครื่องดูดสูญอากาศแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส กรองส่วนน้ำกระเทียมที่ได้ให้ปลอดเชื้อโดยกรองผ่านหัวกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร ส่วนใสปลอดเชื้อที่ได้มีความเข้มข้นของกระเทียม 1 กรัมต่อ 3 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

นำเชื้อ *A. hydrophila* ที่แยกได้มาทดสอบกับยาปฏิชีวนะ gentamicin enrofloxacin (Sigma<sup>®</sup>) และสารสกัดกระเทียม โดยใช้วิธี broth microdilution method เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration) ตามวิธีการของมาลิน (2532)

## ผลการทดลอง

จากการทดลองหาฤทธิ์ของสารสกัดจากกระเทียมต่อเชื้อ *A. hydrophila* จำนวน 15 isolates ที่แยกได้จากปลา พบว่า สารสกัดจากกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 5555.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ยา enrofloxacin มีค่า MIC 169.27 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนยา gentamicin มีค่า MIC  $\geq$  39.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 1)

**Table 1** Minimum Inhibitory Concentration of garlic extract, enrofloxacin and gentamicin against *A. hydrophila*.

Agents	Minimum Inhibitory Concentration (MIC) '(g/ml)
Garlic extract	5555.55
Enrofloxacin	169.27
Gentamicin	≥ 39.06

## สรุป และวิจารณ์

สารสกัดจากกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้เท่ากับ 5555.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดที่ได้ทำการทดสอบควบคู่ไปกับสารสกัดจากกระเทียม จากการศึกษาของ เจษฎา และคณะ (2546) พบว่าสารสกัดจากกระเทียมสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* ที่แยกได้จากไก่และสุกรที่ความเข้มข้น 2,600 และ 5,200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนั้นยังสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ความเข้มข้น 5,200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งฤทธิ์ของสารสกัดกระเทียมที่มีผลต่อแบคทีเรียเป็นผลของสาร อัลลิซิน (allicin) ที่มีอยู่ในหัวกระเทียม โดยผลของอัลลิซินภายในเซลล์ยังไม่แน่ชัด ทราบเพียงว่าจะไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่ม sulfydryl (Harris et al., 2001) เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองในการศึกษาฤทธิ์ของกระเทียมในครั้งนี้ ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เพื่อจะได้ทราบถึงค่าที่ต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* ในหลอดทดลอง และจะได้นำผลที่ได้ไปใช้ในการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร เพื่อใช้ในการกินหรือการทา รวมทั้งการแช่เพื่อการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* ในปลาต่อไป และมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสมุนไพรและนำไปใช้ในการผลิตสัตว์ เพื่อควบคุมป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียในปลา อย่างไรก็ตามจะต้องพิจารณาถึงความเหมาะสมในรูปแบบรวมทั้งผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรที่จะใช้กับสัตว์น้ำต่อไปเพื่อเป็นการทดแทนหรือลดการใช้ยาปฏิชีวนะให้น้อยลง

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ที่ให้ทุนสนับสนุน ขอขอบคุณภาควิชาพยาธิชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์หุ้ปลูก และสถานที่ ขอขอบคุณ ผศ.สมโภชน์ วีระกุล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างจากปลาในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ พูนสุข เกรียงศักดิ์ สายธนู และโสหมัตต์ วงศ์สว่าง. 2527. ความเข้มข้นต่ำสุดของ ยาคลอลเตตราซัยคลินต่อเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีลา. เวชสารสัตวแพทย์ 14(4): 285-295.
- จุไรรัตน์ นิลกุล ศรีสุรางค์ ดันติมาวานิช และศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง. 2527. การทดสอบยาปฏิชีวนะ ต่อเชื้อ *Aeromonas* spp. ที่แยกได้จากปลาติดเชื้อ บ่อเลี้ยงปลาและคน. สัตวแพทย์สาร. 35(1): 39-45.
- เจษฎา จิวากานนท์ พิทยา ภากิรมย์ อภัสรา วรราช เนตรชนก จิวากานนท์ อรุณี บุตรตาสี และ สาร พรตระกูลพิพัฒน์. 2546. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมในการต้าน เชื้อจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคในไก่และสุกร. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 13(2): 24-33.
- ชาติรี วีระพงษ์สิทธิกุล สมชาย เบญจมาเจริญกุล ปรีชา เกียรติชูศักดิ์ และจิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. 2528. ผลของยาปฏิชีวนะและซัลฟาต่อโรคที่เกิดจากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีลา ในปลา ดุกด้าน (*Clarias batrachus*). วารสารโรคสัตว์น้ำ. 8(1): 13-23.
- บุญชัย ศิริศักดิ์วรรณ โอภาส กุสุมายุทธ และสิทธิศักดิ์ เหมือนสิน. 2532. ผลงานยานาไลติซิดแอซิด ไตรเมโทพริม-ซัลฟาโตเมทโทกซินและอีโรโทรมัยซิน-โคลิสติน ต่อโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีลาในปลาการ์ฟ. วารสารโรคสัตว์น้ำ. 10(1): 3-7.
- มาลิน จุลศิริ. 2532. ยาด้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์ใช้. มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ. 173 หน้า.
- สิทธิ บุญยรัตผลิม จีราพร เกษรจันทร์ และสุพจน์ เรือนวิโรจน์. 2526. โรคแผลอมหนอง ในปลาช่อน. วารสารการประมง. 36(6): 554-557.
- สิทธิ บุญยรัตผลิม และจีราพร เกษรจันทร์. 2528. โรคที่พบในปลาดุกและวิธีการรักษา. วารสาร การประมง. 38(5): 343-351.
- Carter, G.R. and Cole, J.R. 1990. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 5<sup>th</sup> ed. Academic Press, Inc. USA. pp. 511-515.
- Harris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S. and Llyad, D. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Appl microbiol. Biotechnol. 57(3): 282-286.
- Milner, J.A. 1996. Garlic: Its anticarcinogenic and antitumorogenic properties. Nutrition Reviews. 54(11): 82-86.
- Sova, P. 2002. Pharmaceutical importance of *Allium sativum* L.2. :antibacterial effects. Ceska Slov Farm. 51(1): 11-16.
- Vivekanandhan, G. and Savithamani, K. 2002. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. Int Food Microbiol. 67(1-2): 165-168.

